

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Mahmut YARAR

**AMANITA MANTAR CİNSİNİN TÜRKİYE VE
BULGARİSTAN'DA DAĞILIMI VE TAKSONOMİSİNE
KATKILAR**

BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

ADANA-2020

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

AMANITA MANTAR CİNSİNİN TÜRKİYE VE BULGARİSTAN'DA
DAĞILIMI VE TAKSONOMİSİNE KATKILAR

Mahmut YARAR

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

Danışman : Doç. Dr. Hatıra TAŞKIN

Yıl: 2020, Sayfa: 69

Jüri : Doç. Dr. Hatıra TAŞKIN

: Doç. Dr. Davut Soner AKGÜL

: Doç. Dr. Fuat BOZOK

Bu çalışmada, sekiz *Amanita* mantar türünün morfolojik ve moleküler çalışmalarla tanımlanmaları yapılmış ve spor boyutlarındaki değişkenliklerin morfolojik bir tanımlama kriteri olup olamayacağı değerlendirilmiştir. Spor incelemesi esnasında, solüsyon etkisi de test edilmiştir. Moleküler tanımlama, transkripsiyonu yapılamayan bölge (ITS)'nin DNA dizi analizleri yapılarak gerçekleştirilmiştir. Spor boyutlarının ölçümünde ise farklı solüsyonlar (su, melzer ve potasyum hidroksit) kullanılmış ve sporların uzunluğu (L), genişliği (W) ve uzunluk/genişlik oranı (Q) ölçümleri yapılmıştır. Elde edilen veriler, istatistiksel analizlere tabi tutulmuşlardır. Analizlere göre, spor uzunluğunda altcins x solüsyon interaksyonu arasındaki ilişki önemli bulunmuş, en uzun spor ölçüsü 11.60 µm ile *Amanita* altcinsinde Melzer solüsyonunda gözlemlenmiştir. En kısa spor 9.63 µm ile *Lepidella* altcinsinde Melzer solüsyonunda kaydedilmiştir. Spor genişliğinde, altcins x solüsyon interaksyonu arasındaki ilişki önemli bulunmuş, en geniş ölçüm 9.36 µm ile *Amanita* altcinsinde Melzer solüsyonunda, en düşük ise *Lepidella* altcinsinde Melzer solüsyonunda kaydedilmiştir. *Amanita* ve *Lepidella* altcinslerinin Q değeri açısından arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuş ve en yüksek değer *Lepidella* (1.31) altcinsinden elde edilmiştir. Türlerde, spor uzunluğu ölçümlerinde, en yüksek değer (12.21 µm) *A. huijsmanii*'de Melzer solüsyonunda, en düşük değer ise (8.65 µm) *A. citrina*'da yine Melzer solüsyonunda gözlemlenmiştir. Spor genişliğinde ölçülen en yüksek değer (11.35 µm) *A. submembranacea*'de Melzer solüsyonunda, en düşük değer *A. ovoidea*'da yine Melzer solüsyonunda olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: *Amanita*, *Lepidella*, ITS, Filogeni, Spor Boyutları

ABSTRACT

MSC THESIS

CONTRIBUTIONS TO DISTRIBUTION AND TAXONOMY OF GENUS AMANITA IN TURKEY AND BULGARIA

Mahmut YARAR

**ÇUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF HORTICULTURE**

Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Hatira TAŞKIN

Year: 2020, Pages: 69

Jury : Assoc. Prof. Dr. Hatira TAŞKIN

Assoc. Prof. Dr. Davut Soner AKGÜL

: Assoc. Prof. Dr. Fuat BOZOK

In this study, the description of 8 *Amanita* species by morphological and molecular studies was performed and it was evaluated whether the variations in spore sizes could be a morphological definition criterion. During the spore measurement, the solution effect was also tested. Molecular identification was carried out by performing DNA sequence analyzes of the Internal Transcribed Spacer (ITS). Different solutions (water, melzer and potassium hydroxide) were used to measure spore sizes and length (L), width (W) and length/width ratio (Q) of the spores were measured. The data obtained were subjected to statistical analysis. According to analyzes, relationship between subgenus x solution interaction was found to be significant in spore length and the longest spore measure was observed in the Melzer solution in *Amanita* subgenus with 11.60 µm. The shortest spore was recorded in Melzer solution with 9.63 µm in *Lepidella* subgenus. In spore width, the relationship between subgenus x solution interaction was found to be significant. The largest measurement was recorded in the Melzer solution in the *Amanita* subgenus and the lowest in the Melzer solution in *Lepidella* subgenus with 9.36 µm. Differences between *Amanita* and *Lepidella* subgenus in terms of Q value were found to be statistically significant and the highest value was obtained from *Lepidella* (1.31). In species, in spore length measurements, the highest value (12.21 µm) was observed in *A. huijsmanii* Melzer solution. The lowest value (8.65 µm) was observed in *A. citrina* again in Melzer solution. It was determined that the highest value measured in spore width (11.35 µm) was in Melzer solution in *A. submembranacea* and the lowest value was in Melzer solution in *A. ovoidea*.

Keywords: *Amanita*, *Lepidella*, ITS, Phylogeny, Spore Dimensions

GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

Sunulan bu çalışmada, farklı *Amanita* mantar türlerinin morfolojik ve moleküler tanımlamaları yapılmış ve sonrasında spor uzunluğu, genişliği ve Q değeri ölçümleri yapılarak, farklı solüsyonların tür ve altcins bazında spor ölçümlerine etkileri değerlendirilmiştir. *Amanita* cinsinde morfolojik tanımlama kriteri olarak spor ölçümlerinin değerlendirilip değerlendirilemeyeceği ve solüsyonların spor ölçümlerine etkisi test edilmiştir. Türler; *Amanita ovoidea*, *A. muscaria*, *A. submembranacea*, *A. echinocephala*, *A. phalloides*, *A. citrine*, *A. huijmani* ve *A. caesarea* olmuştur. Bu türler, *Amanita* ve *Lepidella* altcinslerinde yer almışlardır. *Lepidella* altcinsinde *A. echinocephala*, *A. ovoidea*, *A. phalloides* ve *A. citrina* türleri, *Amanita* altcinsinde ise *A. muscaria*, *A. caesarea*, *A. huijsmanii* ve *A. submembranacea* türleri bulunmaktadır. Moleküler çalışmalarda, ITS gen bölgesine dayalı DNA dizi analizleri kullanılmıştır. Solüsyon olarak, H₂O-1, H₂O-2, KOH ve Melzer solüsyonları kullanılmıştır. Çalışmada her bir türde, 50 basidiospor büyüklüğünün değerlendirilmesi yapılmıştır. Tüm mikroskobik çalışmalar AmScope MU900 dijital kamera ile döşenmiş, AmScope T360B bileşik ışık mikroskobu üzerinde yapılmıştır. Daha sonra Piximetre v. 5.9 yazılımı yardımıyla ölçümler yapılmıştır.

Amanita ve *Lepidella* altcinslerinde, Melzer farklı etkiler göstermiştir. *Lepidella*'da *Amanita*'ya göre daha düşük ölçümler alınmıştır. Bunun nedeni olarak, *Lepidella*'da çevresindeki membranın (zar) yapısının sınırının belirgenliğini azaltıp, spor sınırını keskinleştirmesi düşünülmüştür. Ayrıca sporun iç yapısının solüsyon nedeniyle boşalıp ölçüm değişikliğine neden olmasında düşünülmüştür. *Amanita* altcinsi için ise tam tersi olmuş, solüsyon spor içindeki yapıları göstererek daha geniş görünmesine sebep olmuştur. Böylece, iki altcins arasında farklılıklar ortaya çıkmıştır.

Tür düzeyinde, en yüksek spor uzunluğu (12.21 µm) *A. huijsmanii*'de Melzer solüsyonunda, en düşük değer (8.65) ise *A. citrina*'da yine Melzer

solüsyonunda kaydedilmiştir. Spor genişliği için en yüksek değer (11.35) *A. submembranacea*'de Melzer solüsyonunda, en düşük değer ise (6.89) *A. ovoidea*'de Melzer solüsyonunda gözlemlenmiştir. En yüksek Q değeri, *A. ovoidea*'dan elde edilmiştir. *A. echinocephala* (*Lepidella*) 1.34 ile elipsoid, *A. ovoidea* (*Roanokenses*) 1.47 ile elipsoid, *A. phalloides* (*Phalloidae*) 1.25 ile geniş elipsoid, *A. citrina* (*Validae*) 1.17 ile geniş elipsoid, *A. muscaria* (*Amanita*) 1.40 ile elipsoid, *A. caesarea* (*Caesareae*) 1.29 ile geniş elipsoid, *A. huijsmanii* (*Vaginatae*) 1.25 ile geniş elipsoid ve *A. submembranacea* (*Vaginatae*) 1.05 küre olarak değerlendirilmiştir.

Lepidella cinsi altında bulunan *A. echinocephala*, *A. ovoidea*, *A. phalloides* ve *A. citrina* türleri genel sonuçlara göre *Lepidella* ile farklılık göstermişlerdir. *Lepidella* cinsi 1.31 ile elipsoid şeklinde iken, tür bazında bunlar geniş elipsoid olarakta gözlemlenmişlerdir. *Amanita* cinsi altında bulunan *A. muscaria*, *A. caesarea*, *A. huijsmanii* ve *A. submembranacea* türleri genel sonuçlara göre *Amanita* ile farklılık göstermişlerdir. *Amanita* cinsi 1.25 ile geniş elipsoid şeklinde iken, tür bazında bunlar elipsoid ve küre olarakta gözlemlenmişlerdir.

TEŞEKKÜR

Öğretme içgüdüsünün vücut bulmuş haliydi. O bilgilerin ışığında yolumuzu kaybetmek olmazdı. Bu yolda bize bıraktığı izleri takip ederek, çalışmalarımızı en iyi şekilde devam ettireceğiz. Her zaman kalbimizde olan güzel insan rahmetli Hocam Sayın Prof. Dr. Saadet BÜYÜKALACA'ya sonsuz teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Sadece mantar konusunda değil, her konuda gelişimimi ve yönlendirmemi sağlayan, deneyim ve bilgisini hiç esirgmeden bizlere her şekilde desteğini gösteren değerli danışman Hocam Doç. Dr. Hatıra TAŞKIN'a teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Her anımızda yanımızda duran, telefonun hemen bir ucunda bizi sürekli yönlendirip geliştiren, hem de abilik yapan değerli Hocam Dr. Gökhan BAKTEMUR'a teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Yüksek Lisans tezimin laboratuvar çalışmalarında her türlü kolaylığı sağlayan değerli hocalarım Doç. Dr. Fuat BOZOK'a ve Dr. Boris ASSYOV'a teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Tezimin istatistiki anlamda her aşamasında katkısı olan değerli ekip arkadaşım doktora öğrencisi Ecem KARA'ya teşekkür ederim.

Bu çalışma TÜBİTAK tarafından desteklenen Türkiye-Bulgaristan ikili işbirliği "Güneydoğu Avrupa (Balkanlar) ve Türkiye Mikobiyotasında Dağılım Gösteren *Amanita* s. l. Cinsinin Çokgenli Filogenetik Değerlendirilmesi" başlıklı "118Z640" nolu projeden üretilmiştir. Bu nedenle, TÜBİTAK'a teşekkürlerimi sunarım. Yüksek Lisans çalışmalarım esnasında tüm bölüm olanaklarından yararlanmamı sağlayan Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölüm Başkanlığı'na teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım boyunca maddi manevi destekleriyle beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan aileme de sonsuz teşekkürler ederim.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
ÇİZELGELER DİZİNİ	X
ŞEKİLLER DİZİNİ	XII
KISALTMALAR.....	XIV
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	5
3. MATERYAL VE METOT	17
3.1. Materyal	17
3.1.1. <i>Amanita ovoidea</i>	17
3.1.2. <i>Amanita echinocephala</i>	18
3.1.3. <i>Amanita phalloides</i>	19
3.1.4. <i>Amanita citrina</i>	20
3.1.5. <i>Amanita huijsmanii</i>	21
3.1.6. <i>Amanita caesarea</i>	22
3.1.7. <i>Amanita muscaria</i>	23
3.1.8. <i>Amanita submembranacea</i>	24
3.2. Metot	25
3.2.1. Mantarların Toplanması ve Tanı Özelliklerinin Kaydedilmesi	25
3.2.2. Moleküler Analizler	26
3.2.3. Mikroskopik Çalışmalar	28
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	33
4.1. Moleküler Çalışmalar.....	33
4.2. Spor İncelemelerinin Altcins Düzeyinde Karşılaştırılması.....	37
4.2.1. Altcins Düzeyinde Spor Uzunluğu (L) Ölçümleri	37

4.2.2. Altıns Düzeyinde Spor Genişliği (W) Ölçümleri.....	38
4.2.3. Altıns Düzeyinde Q Değeri (Uzunluk/Genişlik) Ölçümleri.....	39
4.3. Spor İncelemelerinin Tür Düzeyinde Karşılaştırılması.....	41
4.3.1. Tür Düzeyinde Spor Uzunluğu (L) Ölçümleri.....	41
4.3.2. Tür Düzeyinde Spor Genişliği (W) Ölçümleri	42
4.3.3. Tür Düzeyinde Q Değeri (Uzunluk/Genişlik) Ölçümleri	44
4.4. <i>A. echinocephala</i> İçin Spor İncelemeleri	45
4.4.1. <i>A. echinocephala</i> İçin Spor Uzunluğu (L) Ölçümleri	45
4.4.2. <i>A. echinocephala</i> İçin Spor Genişliği (W) Ölçümleri.....	45
4.4.3. <i>A. echinocephala</i> İçin Q Değeri (Uzunluk/Genişlik) Ölçümleri	46
4.5. <i>A. ovoidea</i> İçin Spor İncelemeleri.....	47
4.5.1. <i>A. ovoidea</i> İçin Spor Uzunluğu (L) Ölçümleri	47
4.5.2. <i>A. ovoidea</i> İin Spor Genişliği (W) Ölçümleri	47
4.5.3. <i>A. ovoidea</i> İin Q Değeri (Uzunluk/Genişlik) Ölçümleri	47
4.6. <i>A. phalloides</i> İin Spor İncelemeleri.....	48
4.6.1. <i>A. phalloides</i> İin Spor Uzunluğu (L) Ölçümleri.....	48
4.6.2. <i>A. phalloides</i> İin Spor Genişliği (W) Ölçümleri	48
4.6.3. <i>A. phalloides</i> İin Q Değeri (Uzunluk/Genişlik) Ölçümleri	48
4.7. <i>A. citrina</i> İin Spor İncelemeleri.....	49
4.7.1. <i>A. citrina</i> İin Spor Uzunluğu (L) Ölçümleri	49
4.7.2. <i>A. citrina</i> İin Spor Genişliği (W) Ölçümleri	50
4.7.3. <i>A. citrina</i> İin Q Değeri (Uzunluk/Genişlik) Ölçümleri	50
4.8. <i>A. muscaria</i> İin Spor İncelemeleri.....	51
4.8.1. <i>A. muscaria</i> İin Spor Uzunluğu (L) Ölçümleri	51
4.8.2. <i>A. muscaria</i> İin Spor Genişliği (W) Ölçümleri	51
4.8.3. <i>A. muscaria</i> İin Q Değeri (Uzunluk/Genişlik) Ölçümleri.....	52
4.9. <i>A. caesarea</i> İin Spor İncelemeleri.....	53
4.9.1. <i>A. caesarea</i> İin Spor Uzunluğu (L) Ölçümleri.....	53
4.9.2. <i>A. caesarea</i> İin Spor Genişliği (W) Ölçümleri.....	53

4.9.3. <i>A. caesarea</i> İçin Q Değeri (Uzunluk/Genişlik) Ölçümleri	53
4.10. <i>A. huijsmanii</i> İçin Spor İncelemeleri.....	54
4.10.1. <i>A. huijsmanii</i> İçin Spor Uzunluğu (L) Ölçümleri.....	54
4.10.2. <i>A. huijsmanii</i> İçin Spor Genişliği (W) Ölçümleri	54
4.10.3. <i>A. huijsmanii</i> İçin Q Değeri (Uzunluk/Genişlik) Ölçümleri	55
4.11. <i>A. submembranacea</i> İçin Spor İncelemeleri	55
4.11.1. <i>A. submembranacea</i> İçin Spor Uzunluğu (L) Ölçümleri.....	55
4.11.2. <i>A. submembranacea</i> İçin Spor Genişliği (W) Ölçümleri.....	56
4.11.3. <i>A. submembranacea</i> İçin Q Değeri (Uzunluk/Genişlik) Ölçümleri	56
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	59
KAYNAKLAR	63
ÖZGEÇMİŞ	69



ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 4.1. Denemede kullanılan iki farklı alttür, dört farklı solüsyon ve bunların arasındaki interaksyonun ortalaması. (L).....	38
Çizelge 4.2. Denemede kullanılan iki farklı alttür, dört farklı solüsyon ve bunların arasındaki interaksyonun ortalaması. (W).....	39
Çizelge 4.3. Denemede kullanılan iki farklı alttür, dört farklı solüsyon ve bunların arasındaki interaksyonun ortalaması. (Q)	41
Çizelge 4.4. Denemede kullanılan sekiz farklı mantar türü, dört farklı solüsyon ve bunların arasındaki interaksyonun ortalaması. (L)	42
Çizelge 4.5. Denemede kullanılan sekiz farklı mantar türü, dört farklı solüsyon ve bunların arasındaki interaksyonun ortalaması. (W).....	43
Çizelge 4.6. Denemede kullanılan sekiz farklı mantar türü, dört farklı solüsyon ve bunların arasındaki interaksyonun ortalaması.(Q).....	45



ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 3.1. <i>Amanita ovoidea</i>	18
Şekil 3.2. <i>Amanita echinocephala</i>	19
Şekil 3.3. <i>Amanita phalloides</i>	20
Şekil 3.4. <i>Amanita citrina</i>	21
Şekil 3.5. <i>Amanita huijsman</i>	22
Şekil 3.6. <i>Amanita caesarea</i>	23
Şekil 3.7. <i>Amanita muscaria</i> (L. : Fr.) Lam.....	24
Şekil 3.8. <i>Amanita submembranacea</i> (Bon) Gröger	25
Şekil 3.9. Moleküler Aşamalar	28
Şekil 4.1. Solüsyonlardaki Spor Boyutları.....	46
Şekil 4.2. Solüsyonlardaki Spor Boyutları.....	48
Şekil 4.3. Solüsyonlardaki Spor Boyutları.....	49
Şekil 4.4. Solüsyonlardaki Spor Boyutları.....	51
Şekil 4.5. Solüsyonlardaki Spor Boyutları.....	52
Şekil 4.6. Solüsyonlardaki Spor Boyutları.....	54
Şekil 4.7. Solüsyonlardaki Spor Boyutları.....	55
Şekil 4.8. Solüsyonlardaki Spor Boyutları.....	57



KISALTMALAR DİZİNİ

- μm : mikrometre
CTAP : Cetyltrimethly amonium bromide
GPS : Küresel Konumlama Sistemi
 H_2O : Su
IKI : Bağımsız Çalışma Çözültisi
ITS : Transkripsiyonu yapılamayan bölge
ITS1F : ileri primer
ITS4 : geri primer
KI : Potasyum İyodür
KOH : Potasyum Hidroksit
L : Spor uzunluğu
ML : Maximum Likelihood
MLZ : Melzer Reaktifi
mm : milimetre
Q : Uzunluk/Genişlik Oranı
W : Spor genişliği



1. GİRİŞ

Amanitaceae familyası içerisinde yer alan *Amanita* cinsi, hem öldürücü derecede toksik hem de yenilebilir türleri içeren ve üzerinde yoğun çalışmalar yapılması nedeniyle üzerindeki ilgiyi koruyan bir mantar cinsidir. *Amanita*, geniş bir dağılım gösterdiği bilinen monofiletik bir mantar cinsidir (Bas, 1969). Cins yedi seksiyona bölünmüştür: *Amanita*, *Caesareae* Singer, *Vaginatae* (Fr.) Quél., *Amidella* (J.-E. Gilbert) Konrad & Maubl., *Lepidella* (J.-E. Gilbert) Veselý, *Phalloideae* (Fr.) Quél. ve *Validae* (Fr.) Quél (Yang, 1997; Zhang ve ark, 2015). Zehirli türlerin çoğu *Phalloideae* seksiyonu içerisinde olmakla birlikte, yenilebilir türlerin büyük bir kısmı *Caesareae* içerisinde yer alır. Cinsin 500 tanımlanmış türü bulunmakta ve bir o kadar da tanımlanmamış türü olduğu tahmin edilmektedir. Tanımlanmış olan türlerin 100 kadarının zehirli, 50 kadarının yenilebilir olduğu bilinmekte, kalanların yenilebilirliği hakkında ise herhangi bir çalışma bulunmamaktadır (Zhang ve ark, 2015). Cinsin en ilginç özelliklerinden biriside saprofit ve ektomikorizal türler içermesidir. Bu cinsdeki türlerin bir çoğunluğunun iyi besin alımına yardımcı oldukları için bitkilerle karşılıklı ilişkisi bulunmaktadır (Nara, 2006).

Moleküler çalışmaların mantar taksonomisinde kullanılabilir hale gelmesiyle, cinslerin yeniden değerlendirilmesine başlanmış ve önemli bulgular elde edilmiştir. Mantarda morfolojik ve mikroskobik teşhis yöntemleri, mantarların çevresel şartlardan etkilenmesi nedeni ile yanıltıcı olabilmektedir. Bu nedenle ve cinsin pratik önemi nedeni ile *Amanita*, şaşırtıcı bir şekilde, Avrupa'da ve Türkiye'de sistematik filogenetik çalışmalara tabi tutulmayan cinslerden birisi olarak kalmıştır. Bu cins içerisinde yer alan önemli miktarda takson, sadece morfolojik yaklaşımla tanımlanmıştır. Ancak bu taksonlar teyit edilmeye ihtiyaç duymaktadırlar.

Her ne kadar morfotaksonomik çalışmalar yukarıda da belirtildiği gibi,

mantar taksonomisinde yeterli görülmesine de, morfotaksonomik alanda türlerin birbirinden ayrılmasında önemli ayırt edici karakterlerin belirlenmeye çalışılması önem arz etmektedir. Bazı morfotaksonomik ayırt edici karakterlerin ortaya konulması, hem bilimsel hem de bu konuya ilgisi olan kişilerin türleri tanıması açısından faydalı olacaktır. Son zamanlarda birçok mikoloji alanında çalışan araştırmacının bir araya gelmesiyle ortaya çıkarılan bir makalede mantar taksonomisinde, moleküler analizlerin morfotaksonomik verilerle desteklenmesi gerektiği vurgulanmıştır. *Amanita* türlerinin doğru teşhis edilmesi, hayati kazaları en aza indirmek için önemlidir. Moleküler filogenetik, türlerin tanımlanmasına yardımcı olan önemli bir araçtır. (Moreno, 2008). Özellikle Avrupa, Kuzey Amerika ve tropikal Afrika'da çok sayıda ve iyi bilinen monografik çalışmalarla, bu cinse ilişkin çok sayıda morfoloji temelli taksonomik literatür yayınlanmıştır (Bas, 1969). Moleküler filogeninin mantar taksonomisine dahil edilmesi, moleküler sonuçlara göre artan sayıda türün yeniden tanımlanması ve karakterizasyonu ile güzel sonuçlar elde edilmiştir (Moncalvo ve ark, 2000).

Genellikle *Amanita* cinsinde spor şekli ve ölçülerinin, çok az değişkenlik gösteren taksonomik bir karakter olduğuna inanılmış ve bu nedenle önemli görülmemiştir. Ancak, literatürde, en azından bazı türlerde ve aynı zamanda birçok diğer makromantar cinslerinde, spor ölçülerinin değiştiğine dair bilgiler bulunmaktadır. Buna rağmen, literatürde bu konuya özgü yapılmış çalışmalar bulmakta oldukça zorlanılmaktadır. Altmışlı yıllara kadar birçok mikroskopik yapılar sistematik ve ayrıntılı bir şekilde analize başlangıç yapılamadı (Bas, 1969). Ne yazık ki, otuz yıldan fazla bir süre sonra, bir kaç işçi Bas'ın ortaya koyduğu yöntemleri yeterince benimsemiş ve *Amanita*'nın araştırması, daha önceki zamanlar tarzında yazılmış yeni türlerin tanımlarıyla geri tutulmaktadır (Tulloss ve Yang, 2011).

Spor ölçümleri, mantar taksonomisinde ve *Amanita*'da çok önemli bir özelliktir. Şu ana kadar spor ölçümlerininide içeren mikroskopik tanımlamalar için

tek tip bir protokol yoktur ve mantar mikroskopisi için çeşitli farklı reaktifler kullanılmaktadır.

Bu çalışmanın amacı farklı *Amanita* türlerinin spor boyutlarının çeşitli solüsyonlarla ölçüldüğünde aralarında fark olup olmadığını belirlemektir. *Amanita*'nın morfolojik tespiti olanaklarının pratik açıdan mutlak bir zorunluluk olduğunu göz önünde bulundurarak, cinsin taksonomik araştırmalarında, bu tür analizlerin yapılmasının büyük fayda sağlayacağı kanaatindeyiz. Tüm bu bilgiler ışığında, sunulan bu çalışmada, sekiz *Amanita* cinsi türünde; *Amanita ovoidea* (Bull.), *A. muscaria* (L.) Lam., *A. submembranacea*, (Bon) Gröger, *A. echinocephala* (Vittad.) Quél., *A. phalloides* Secr., *A. citrina* Pers., *A. huijsmanii* F. Massart & Rouzeau ve *A. caesarea* (Scop.) Pers. öncelikle ITS rDNA gen bölgesi DNA dizi analizlerine dayanan moleküler yöntemlerle ve morfolojik teşhisle tür tanımlaması yapılmıştır. Türler, cins içerisindeki farklı altcins ve seksiyonlardan seçilerek, altcinsler arasındaki farklılıklarda ortaya çıkarılmaya çalışılmıştır. Sonrasında spor şekli, spor boyu ve spor çapı gibi, spor ile ilgili mikroskopik ölçümler yapılarak, türler arasında spor değişkenliği açısından morfotaksonomik ayırıcı bir özellik olup olmadığı kontrol edilmiştir. Denemelerde, farklı solüsyonlar kullanılarak, bu solüsyonların etkinlikleri de test edilmiştir. Çalışma, TÜBİTAK İkili İşbirliği Projeleri Birimi (Türkiye-Bulgaristan Bilateral Project) tarafından kabul edilen “Güneydoğu Avrupa (Balkanlar) ve Türkiye Mikobiyotasında Dağılım Gösteren *Amanita* S. L. Cinsinin Çokgenli Filogenetik Değerlendirilmesi” adlı “118Z640” nolu proje kapsamında gerçekleştirilmiştir.



2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Bas (1969) tarafından, *Amanita* cinsinin tanımlanması ve infragenerik sınıflandırması hakkında tarihsel bir araştırma yapılmıştır. *Amanita*'nın morfolojik özellikleri, volva'nın özellikleri vurgulanarak tartışılmıştır. *Amanita* cinsi ve alt cinsi *Lepidella*'nın tanımlamaları, alt cins ve bölümler için bir anahtarla birlikte verilmiştir. Tanımlanan 93 türden on altısı yeni ve yedisi geçici olarak yeni tür olarak tanımlanmış, üç yeni isim ve dört yeni kombinasyon tanımlanmıştır.

Weiß ve ark (1998) tarafından yapılan bir çalışmada, morfolojik ve anatomik yöntemlerle belirlenen 49 adet *Amanita* türünde, DNA dizi analizleriyle cins içerisindeki filogenetik ilişkiler ve doğal gruplar belirlenmeye çalışılmıştır. LSU gen bölgesinin kullanımıyla DNA dizileri oluşturulmuş ve analizler için Bootstrap, Parsimony, maksimum likelihood ve kümeleme gibi analizlerle neighbor-joining kullanılmıştır. *Amanita*, *Caesarea*, *Vaginatae*, *Validae*, *Phalloideae* ve *Amidella* monofilitik gruplar olarak doğrulanırken, *Lepidella*'nın monofili durumu belirsiz kalmıştır. Seksiyon içinde ve arasında dallanma topolojileri kısmen elde edilebilmiştir. Altcins *Amanita* ve *Lepidella* desteklenmemiştir. *Mapae* grubu, *Validae* seksiyonunda yer almıştır. Çalışılan türlerde DNA analizleri ile elde edilen gruplaşma hipotezleri, morfolojik ve anatomik karakterlerin dağılımı ile ilişkili olarak tartışılmıştır.

Oda ve ark (1999) tarafından, 36 adet *Amanita* türlerinin moleküler filogenisi ITS gen bölgesinin kullanımı ile araştırılmıştır. Elde edilen filogenetik ağaç, bazidyosporların Melzer ayracı ile reaksiyon verip vermemesine göre, *Amanita* ve *Lepidella* olarak iki alt cinse ayrılan *Amanita* cinsinin bölünmesinde, morfolojik karakterlere dayalı Bas (1969) ve Singer (1986)'in klasik sınıflandırma sistemini desteklemiştir. Ancak, seksiyon düzeyinde, altcins *Amanita*'nın 3 seksiyona (*Amanita*, *Caesarea* ve *Vaginatae*) bölünmesi gerekliliği tavsiye edilmiştir. Ayrıca sunulan çalışmanın sonuçları, altcins *Lepidella*'da seksiyon düzeyinde taksonomik değerlendirmelerin modifiye edilmesi gerekliliğini

göstermiştir. *A. muscaria* ve *A. pantherina*'nın ortak bir atadan gelmiş olduğu görüşü çok eski bir görüş olduğu veya bunların aynı türlerin daha düşük taksonları olabileceği bildirilmiştir. Çalışma ile, *A. hemipapha*'nın 3 alt türü ve *A. vaginata*'nın 3 varyetesinin taksonomik durumlarının alt tür/varyete'den türe çıkarılmasının gerektiği ve yeni bir kombinasyon, *A. javanica*, *A. hemibapha* subsp. *javanica* olarak önerilmiştir.

Drehmel ve ark (1999) tarafından yapılan bir çalışmada, *Amanita* cinsi içerisindeki filogenetik ilişkiler LSU gen bölgesinin DNA dizi analizlerinin kullanılması ile araştırılmıştır. Örnek taksonlar, Singer, Bas ve Jenkins'in geçerli sınıflamasından tüm seksiyonları temsil edecek şekilde seçilmiştir. LSU gen bölgesinin filogenetik analizleri; *Amanita*, *Amidellae*, *Caesareae*, *Lepidella*, *Mappae*, *Phalloideae*, *Ovigerae*, *Vaginatae*, *Validae* seksiyonlarını içeren ve Singer (1986) tarafından daha önce tanınan dokuz seksiyonun yanı sıra, *Amanita* ve *Lepidella* alt cinslerinin ayrımını desteklemiştir. Bu dokuz uç grup arasındaki filogenetik analizler, aynı zamanda morfolojik ve biyokimyasal karakterler tarafından desteklenen bazı daha yüksek seviyeli ilişkileri ortaya çıkarmıştır. Filogenetik sınıflama; iki alt cins (*Amanita*, *Lepidella*), dört seksiyon (*Amanita*, *Vaginate*, *Phalloideae*, *Lepidella*), yedi alt seksiyon (*Amanita*, *Ovigerae*, *Amidellae*, *Caesareae*, *Phalloideae*, *Vaginatae*, *Validae*) ve iki seri (*Mappae*, *Validae*) olarak önerilmiştir.

Gonzalez ve ark (2002) İspanya'da Iberian Peninsula'da *Amanita* cinsinin en yaygın 20 türüne ait 29 koleksiyonu arasındaki genetik ilişki, ITS1–5.8S-ITS2 analizi ile incelenmiştir. Analiz için 60 fragment dikkate alınmıştır. Çalışmada elde edilen ana sonuç, bu tekniğin *Amanita* türlerinde izolatları tanımlamak ve karakterize etmek için yararlı olabilece olmuştur. ARDRA, seksiyon seviyesinde veya altında filogenetik ilişkileri net bir şekilde çıkarmak için uygun bir ayırım seviyesi göstermemiş olsa da, üretilen farklı haplotipler neighbour joining analizi vasıtasıyla karşılaştırıldığında, bazı genel eğilimler özetlenebilmiştir. Böylelikle aynı seksiyondan üyeler, genellikle bir arada gruplandırılmıştır.

Zhang ve ark (2004) tarafından yapılan çalışmada, doğu Asya orijinli *Amanita* cinsinin filogenetik ilişkileri, taksonomisi ve biyocoğrafyası ITS ve nLSU gen bölgelerinin kullanımıyla belirlenmeye çalışılmıştır. Klasik olarak kabul edilen 2 adet alt cinsin ayırımı, çalışmada iyi desteklenmemiştir. *Amanita*, *Vaginatae*, *Caesareae*, *Phalloideae*, *Validae* ve *Amidella*'nın herbir seksiyonu, farklı bölgelerin data setleri ve farklı analiz yöntemleriyle monofilotik olarak desteklenmiştir. *Lepidella* seksiyonunun monofilotik durumu belirsiz kalmıştır. Çalışma ile elde edilen bulgular şu şekilde özetlenmiştir: (1) Çok az tür Kuzey Amerika, Avrupa ve doğu Asya boyunca geniş dağılım göstermiştir. Kuzey Yarımküre'de daha önce fark edilen bazı türlerin örnekleri monofilotik değildir. Bu nedenle, bu çalışmada, bu türlerin kıtalar arası dağılımı desteklenmemiştir. (2) Doğu Asya ve Avrupa'nın *Amanita*'ları arasındaki ilişkiler yakın olmuş ve bazı taksalar her iki bölgede de yaygın olmuştur. Doğu Asya ve Kuzey Amerika arasındaki yakın ilişkili türler yaygın olmuş, ancak henüz çok nadir olarak moleküler dataların kullanımıyla aynı türlerin farklı popülasyonları olarak doğrulanmışlardır. Kuzey Amerika'daki *Amanita*'ların çoğu türü, farklı türler olarak kabul edilmesi gereken Avrupa materyallerinin temelinde etiketlenmişlerdir. (3) Güneybatı Çin'de *Amanita*'nın çok az kriptik türü ayrılmaya ihtiyaç duyulduğu ve (4) farklı lokalitelerden *A. parvipantherina*'de karpoforların morfoloji ve rengindeki varyasyonlar, çevresel modifikasyonlar olarak yorumlanamayacağı sonucuna varılmıştır.

Semwal ve ark (2007) tarafından ilk kez Hindistan'dan Garhwal Himalaya'dan dört *Amanita* türü ayrıntılı olarak tanımlanmıştır. Üç tanesi *A. concentrica*, *A. rubrovolvata* ve *A. subglobosa* olmuş, bir tanesi ise henüz isimlendirilmediği için "PAK5" olarak kodlanmıştır.

Moreno ve ark (2008) tarafından yapılan çalışmada, *Amanita curtipes* ve *A. ponderosa*, yaşam alanlarının yanı sıra bir dizi morfolojik özelliği paylaşan iki Akdeniz taksonu tarafından tanımlanmış, sinonimlik veya varyete durumları birkaç araştırmacı tarafından önerilmiştir. Bu taksonomik sorunu açıklığa kavuşturmak için,

28S rRNA geninin D1-D2 domainleri ve İspanya'da toplanan iki türün örneklerinin ITS1-5.8S-ITS2 gen bölgeleri analizlenmiştir. İki bölgeye dayalı moleküler filogenetik analizler, *A. ponderosa* ve *A. curtipes*'in açıkça farklı türler olduğunu ortaya koymuştur. *Amanita* türlerinin filogenetik ağaçlardaki dağılımı, önceki yazarlar tarafından önerilenle tutarlı olmuştur. *A. ponderosa* ve *A. curtipes* sekansları, *Amidella* seksiyonunun diğer türleri ile birlikte monofiletik bir küme halinde gruplanmıştır. Bununla birlikte, *A. ponderosa*, *A. peckiana* ve *A. volvata* gibi seksiyondaki diğer türlere, *A. curtipes*'ten daha yakın olmuştur. Ayrıca, *A. ponderosa* ve *A. curtipes*'i güvenilir bir şekilde ayırt etmek için en yararlı olan makromorfolojik karakterler de çalışmada belirlenmiştir.

Menolli ve ark (2009) tarafından *Amanita coacta*, 1978 yılında tek bir koleksiyona dayanarak Kuzey Brezilya'daki Amazonas Eyaleti'nden tanımlanmış ve o zamandan beri daha fazla kayıt bildirilmemiştir. Bu türün on altı koleksiyonu, Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo Eyaleti, Güneydoğu Brezilya'dan edilmiştir. Bu koleksiyonlar, spor boyutu ve şeklindeki değişim aralığı dahil yeniden tanımlama için bir temel oluşturmuştur. Brezilya'daki tüm *Amanita* türleri için bir anahtar da sunulmuştur.

Justo ve ark (2010) tarafından yapılan çalışmada, agaricoid *Amanita* (Agaricales, Basidiomycota) içerisinde bulunan secotioid (*Torrendia*) ve gasteriod (*Amarrendia*) formlarının sistematik pozisyonu, moleküler data (nLSU, ITS) ile çalışılmıştır. Secotioid ve gasteroid formlar, agaricoid formlarda kümelenen dört bağımsız klade oluşturmuştur. Bir tür, Güney Avrupa ve Kuzey Afrika'dan secotioid *T. pulchella*'ya karşılık gelmiştir. Diğerleri, Avustralya'dan *Torrendia* ve *Amarrendia* türlerine karşılık gelir. Akdeniz iklim koşullarının, bu secotioid evrimini ve coğrafi olarak uzak bölgelerdeki gasteriod formlarından en az birini yönlendiren bir güç olduğu varsayılmıştır. Daha önce *Torrendia* ve *Amarrendia*'ya yerleştirilen türler, *Amanita*'ya aktarılmıştır. Başlangıçta *T. arenaria* olarak tanımlanan koleksiyonların revizyonu sırasında, Avustralya'dan yeni bir *Torrendia* türü keşfedilmiş ve *Amanita pseudoincultu* olarak tanımlanmıştır.

Zhang ve ark (2010) tarafından yapılan bir çalışmada, Doğu Asya’da oluşan öldürücü *Amanita* türleri arasında moleküler filogenetik ilişkiler ve morfolojik karakterler araştırılmıştır. Çalışma sonuçları, bölgede en az dokuz adet filogenetik takson varlığını ortaya çıkarmış, bunlar arasında beş takson: *A. exitialis*, *A. fuliginea*, *A. subjunquillea*, *A. subjunquillea* var. *alba* ve *A. virosa* daha önce de morfolojik olarak bilinen taksonlarla aynı olmuş; üç adet yeni takson: *A. fuligineoides*, *A. rimoso* and *A. pallidorosea* ise çalışma ile tanımlanmıştır. Kalan bir tanesini *A. subjunquillea* var. *alba*’dan ayırmak için güçlü bir morfolojik kanıt bulunamadığı için, “*A. sp. 1*” olarak numaralandırılmıştır. Orijinal olarak Avrupa’da tanımlanan *A. virosa* (en iyi bilinen öldürücü zehirli mantar)’nın Batı Asya’daki varlığı hem ITS sekansları hem de morfoloji ile doğrulanmıştır. Avrupa’nın yerli diğer öldürücü türü, *A. phalloides*, Doğu Asya’dan *A. subjunquillea* türüne yakın ilişkili olarak belirlenmiştir. *A. oberwinklerana* morfolojik olarak *Phalloideae* seksiyonuna yerleştirilmiştir, ancak ITS ve LSU gen bölgelerinin DNA dizi analizleriyle *Lepidella* seksiyonunun bir üyesi olmuştur. Aynı zamanda Doğu Asya’lı *Phalloideae*’nin dağılımı ve Avrupa ve Kuzey Amerika’dan benzerleriyle bu türlerin filogenetik ilişkileri tartışılmıştır. Doğu Asya’da *Phalloideae* seksiyonunun türleri için bir anahtar sağlanmıştır.

Bojantchev ve ark (2011) tarafından, Kaliforniya’da “bahar kakaosu” olarak bilinen ilkbaharda oluşan *Amanita vernicoccora*’yı tanımlanmıştır. Dört DNA bölgesinin dizi analizleri ve fenotipik özellikler, *A. vernicoccora*’nın, uzun zamandır sonbaharda oluşan *A. calyptroderma*’nın ('sonbahar kakaosu') soluk renkli bir formu olarak kabul edilen benzersiz bir tür olduğunu göstermiştir. Morfolojik ve genetik veriler, *Caesareae* seksiyonundaki her iki türü de destekmiştir.

Gonou-Zagou ve Delivorias (2011) tarafından, *Amanita* türleri için beyaz formlar ve varyeteler tanımlanmıştır. Bu durum, iyi bilinen ve yaygın olan türler için bile nadirdir. *Amanita*’nın en yaygın türlerinden olan *A. muscaria* ve *A. rubescens*’in olağandışı beyaz formları, Yunanistan’da ilk kez bulunmuştur. Her ikisinin de Avrupa’da nadir olduğu düşünülmüştür. Her iki form, tipik çeşitlerinin

oldukça yaygın olduğu alanlardan toplanmış, bu da farklı taksonomik durumu temsil etmeyebileceğini, ancak albinizm için hayvan ve bitki genleri gibi bir çeşit genetik değişkenlik nedeniyle ortaya çıkabileceğini düşündürmüştür.

Tullos ve Yang (2011) *Amanita*'nın ileri taksonomisi ve sistematigi ile örnek açıklamalarını desteklemek için ayrıntılı bilgiler sağlamıştır.

Kim ve ark (2013a) *Amanita* Pers.'nin geniş bir dağılıma sahip iyi bilinen bir monofilik mantar türü olduğunu, bununla birlikte, Kore'deki *Amanita* türlerinin çeşitliliğinin göz ardı edildiğini ve Kore'de yapılan taksonomik çalışmaların çoğunun sadece morfolojik özellikleri araştırdığını, bu yaklaşımın mantar sistematiginde doğru tanımlama için genellikle yetersiz olduğunu bildirmişler; bu nedenle, Kore'den 2012 yılında toplanan 16 *Amanita* örneğinin filogenetik pozisyonunu anlamak için *Amanita*'nın *Lepidella* alt cinsinin bir filogenisini oluşturmuşlardır. ITS ve nLSU sekans verileri kullanılarak oluşturulan filogeni, 9 *Amanita* türünü tanımlanmıştır (*A. citrina*, *A. excelsa* var. *spissa*, *A. flavipes*, *A. fritillaria*, *A. oberwinklerana*, *A. pallidrosea*, *A. rubescens*, *A. subjunquillea* ve *A. volvata*) ve bunlardan 3 tanesi Kore için yeni tür olmuştur: *A. fritillaria*, *A. oberwinklerana* ve *A. pallidrosea*.

Kim ve ark (2013b) 2012 yılında yapılan Kore mantarlarının çeşitlilik çalışması esnasında yaklaşık 70 *Amanita* türü örneği toplamışlar, *Amanita* ve *Vaginatae* seksiyonlarına ait 23 tanesini araştırılmıştır. ITS ve LSU gen bölgelerinin DNA dizi analizleri ve morfolojik özelliklere dayanarak, 15 filogenetik tür belirlenmiştir: *A. alboflavescens*, *A. ceciliae*, *A. farinosa*, *A. fulva*, *A. griseofolia*, *A. ibotengutake*, *A. melleiceps*, *A. orientifulva*, *A. pantherina*, *A. rubrovolvata*, *A. sinensis*, *A. subglobosa*, *A. vaginata*, *A. cf. vaginata* f. *alba* ve tanımlanmamış bir *Amanita* türü. Bu çalışmada, tanımlanan *Amanita* türlerinden dördü (*A. griseofolia*, *A. ibotengutake*, *A. orientifulva* ve *A. sinensis*) Kore'de ilk defa bildirilmiştir.

Cai ve ark (2014) tarafından yapılan bir çalışmada, Batı ve Güney Asya'dan, Avrupa ve Orta Amerika'ya, Güney Afrika ve Avusturalya'dan oluşan

geniş bir örnekleme alanında, zehirli (öldürücü) *Amanita* (*Amanita* section *Phalloideae*) mantar grubunda 5 gen data seti (nrLSU, ITS, rpb2, ef1- α ve β -tubulin)'de maximum-likelihood, maximum-parsimony ve Bayesian metodlarıyla genetik çeşitlilik araştırılmıştır. Ayrıca 14 örnekte amatoksin ve phalloidin tespit etmek amacıyla biyokimyasal analizler yapılmıştır. Çalışma sonucunda zehirli ve ölümcül *Amanita* mantarları, monofiletik grup olarak tanımlanmış, morfolojik ve moleküler çalışmaların birleştirilmesi ile 14 tanesi yeni olmak üzere 28 filogenetik tür belirlenmiştir. Biyokimyasal analizler, *Amanita* mantarı içinde peptid toksinlerinin (amatoksin ve phalloidin) tek bir orijininin olduğunu göstermiştir. Moleküler veriler, zehirli *Amanita* mantarlarının orijininin Paleotropis bölgesi olduğunu göstermiştir. Zehirli *Amanita* mantarları içerisindeki, Doğu Asya ve kuzeydoğu Amerika veya Avrasya-Kuzey Amerika-Orta Amerika arasındaki kıtalararası kardeş grup veya tür ilişkileri; Paleotropikal orijinin çeşitlenmesi modeli tarafından, Bering Land Bridge teorisi yoluyla dağılım ve sonrasında iklim değişimleri ile bölgesel türleşme olarak açıklanmıştır.

Deng ve ark (2014), Çin'in Guangdong bölgesinden *Amanita macrocarpa* türünü tanımlamışlardır. Yeni tür; büyük, kahverengimsi turuncudan açık kahverengiye renkli, pileus üzerinde çok sayıda piramidal siğiller, sarımsı lameller, stipe ortasında büyük bir halka ve amiloid elipsoidal basidiosporlar ile karakterize edilmiştir. Yeni türü doğrulamak ve benzer türlerle evrimsel ilişkilerini ortaya çıkarmak için, filogenetik analizler, LSU ve ITS gen bölgeleri ile gerçekleştirilmiştir. Morfolojik ve moleküler veriler, *A. macrocarpa*'nın *Lepidella* seksiyonunda olduğunu ve *Lepidella*'nın taksonlarından farklı olduğunu göstermiştir.

Cho ve ark (2015) *Amanita* (*Agaricales*, *Basidiomycota*)'nın zehirli türleride içeren en iyi bilinen cinslerden birisi olduğunu, dünya genelinde yaklaşık 500 türünün bulunduğunu bildirmişlerdir. Kore'nin Inje kasabasında yaklaşık 240 makrofungus türü, 2014 yılında toplanılmıştır. Bunlar arasında, 25 tanesi makroskobik özellikler kullanılarak *Amanita* üyesi olarak tanımlanmıştır. Örnekler,

ITS ve nLSU gen bölgelerine dayalı DNA dizi analizi ve mikroskopik özellikler ile tanımlanmıştır. Önceden kaydedilmiş türlerle eşleşen yedi tür, Kore'de yeni olan dört tür (*A. caesareoides*, *A. griseoturcosa*, *A. imazekii* ve *A. sepiacea*) ve iki bilinmeyen tür ile 13 *Amanita* türünü moleküler yöntemlerle belirlenmiştir.

Tang ve ark (2015) *Amanita* cinsinin tropikal Afrika'da bulunduğunu, ancak önceki taksonomik çalışmalarının çoğunun morfolojik temelli olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada, tropikal Afrika'dan *Amanita* sect. *Vaginatae* s.l.'nin 10 türünün filogenetik ilişkilerini çıkarmak için hem morfolojik hem de moleküler veriler (nLSU DNA dizileri) kullanılmıştır. Sonuç olarak, *A. madagascariensis* tanımlanmıştır. *Amanita tanzanica*, *A. mafingensis*'in sinonimi olarak önerilmiştir.

Zhang ve ark (2015) tarafından yapılan bir derleme çalışmasında, son 20 yılın üzerindeki bir zaman dilimine odaklanarak, *Amanita* mantarının popülasyon genetiği, filoğrafyası ve dağılımdaki araştırmalar özetlenmiş ve bazı çözülmemiş konuları da içeren gelecek çalışma alanları tartışılmıştır.

Redhead ve ark (2016) tarafından yapılan bir çalışmada, *Amanita* cinsi, *Amanita*-ektomikorizal cins ve *Aspidella*-saprofit cins olarak iki monofiletik taksona bölünmüş ve nedenleri tartışılmıştır.

Tulloss ve ark (2016) son zamanlarda iyi bilinen bir cins olan *Amanita*'nın ektomikorizal bir cins olan *Amanita* ve saprofit bir cins olan *Saproamanita* olmak üzere iki altcins bölündüğünü, bu bölünmeye katılmadıklarını ve *Amanita* cinsinin bölünmemesi gerektiğini, cinsin bölünmesi için yapılan önerinin yeni cins yayınlanması için son zamanlarda önerilen kurallara uymadığını bildirmişlerdir. Kısa düzeltilmiş karakterizasyonlar, monofiletik *Amanitaceae* familyası ve onun iki monofiletik cinsi *Amanita* ve *Limacella* için sağlanmıştır. *Amanita*'nın karakterizasyonunda, *Vittadiniae* alt seksiyonundan *Hesleri* soyunun kaldırılması şeklinde minimal bir düzenleme önerilmiş ve *Amanita* sistematığında bazı açık noktalar tartışılmıştır. Çalışmada, cinsin bölünmesinin gereksiz olduğu ve birbirleriyle ilişkilerinin ve eski literatürlerle bağlantılarının sağlanmasını zorlaştırdığı için pahalıya mal olabileceği bildirilmiş, fungal ekoloji çalışmalarında

geçerli yeni nesil sekanslama kullanımının *Amanita*'nın bölünmesini gerektirmediği tartışılmıştır.

Vizzini ve ark (2016) tarafından yapılan bir çalışmada, *Amanita* "*helianthemicola*" olarak adlandırılan *Helianthemum* ile ilişkili *Amanita* (sect. *Vaginatae*) taksonlarının filogenetik ilişkileri ve taksonomik durumu araştırılmıştır. Koleksiyonlar İtalya, İngiltere ve Fransa'dan toplanmış ve aynı zamanda yakın ilişkili tür, *A. lividopallescens*'da gözden geçirilmiştir. Analizler morfolojik ve nrITS sekanslarına dayalı moleküler yöntemleri içermiştir. Araştırma ile *Helianthemum nummularium* ile sıkı ilişkili olan ve tüm araştırılan *Amanita* koleksiyonlarının, *A. simulans* ile konspesifik olduğu ortaya çıkmıştır. *Amanita simulans*, son zamanlarda Sardunya-İtalya'da *Populus nigra* habitatında morfolojik yöntemlerle tanımlanmıştır. *A. simulans*'ın holotipi kayıp olduğu için, neotipi bu çalışma ile orijinal toplama alanından sağlanmıştır. *A. simulans* tekrar tanımlanmış ve morfolojik çeşitliliği, konukçu türleri, dağılımı ve ilişkili taksonları hakkında geniş bir tartışma sağlanmıştır. *Amanita stenospora*'nın, *A. lividopallescens*'in sinonimi olduğu belirlenmiştir.

Endo ve ark (2017) tarafından, *Amanita* seksiyon *Caesareae*'nin Japon türleri, daha önce "*A. javanica*" ve "*A. similis*" olarak değerlendirilen tekdüze uniform pileuslu "Kitamagotake" ve zeytin-kahverengisi pileuslu "Chatamagotake", taksonomik olarak yeniden değerlendirilmiştir. Japon "*A. javanica*" ve "*A. similis*" morfolojik olarak, Güneydoğu Asya *A. javanica* ve *A. similis* s.str'den farklı olmuştur. ITS, 28S ve tef-1 gen bölgelerinin filogenetik analizleri, *A. javanica* ve *A. similis* s.str. her iki Japon türü *Amanita* seksiyon *Caesareae*'nin daha önce tanımlanan türlerinden farklı olduğunu göstermiştir. Bu nedenle, bunlar sırasıyla *A. kitamagotake* ve *A. chatamagotake* olarak, yeni türler olarak tanımlanmıştır. İlginç bir şekilde, normalde kırmızı bir pileus sergileyen *A. caesareoides* ve *A. chatamagotake* örnekleri, sarı renk varyantlarını içermiştir. Orijinal Japon "*A. javanica*" örneği, morfolojik olarak *A. kitamagotake* ile tutarlı olmamış, ancak *A. chatamagotake*'nin sarı renkli bir varyantı olduğu belirlenmiştir.

Bu sonuçlar, *Amanita* seksiyon *Caesareae*'nin sarı veya kahverengi pileuslu tür tanımlaması için kesin morfolojik gözlem ve moleküler analizin önemini göstermiştir.

Truong ve ark (2017) tarafından, *Amanita nouhvae* sp. nov., kuzey Patagonya'daki *Nothofagus antarctica* ile ilişkili yeni bir hypogeous tür olarak tanımlanmıştır. Bu, Amerika'dan bir sequestrate *Amanita*'nın ilk raporunu oluşturmuştur. İç spor duvarında süslenmiş kalın duvarlı bazidyosporlar ('crassosporos'), *A. nouhvae* ve onun kardeş epigeous taksonu *Amanita morenoi*'de (kuzey Patagonya'dan nadiren toplanan, ancak görünüşte yaygın bir tür olan ve bazen Avustralya taksonu *Amanita umbrinella* olacak şekilde yanlış tanımlanmıştır). 18S, 28S ve 16S ve 26S DNA gen bölgeleri, bu iki türü diğer Güney Amerika ve Avustralya türleriyle birlikte *Amanita* alt cinsi içinde güney ılıman bir kümeye yerleştirmiştir. Tarihlendirilmiş cins düzeyindeki bir filogeniye dayanarak, güney ılıman kuşağın Eosen/Oligosen sınırının yakınında (yaklaşık 35 Ma \pm 10 My) ortaya çıkmış olabileceği tahmin edilmiştir. Bu tarih, Güney Yarımküre'de, muhtemelen kıtasal sürüklenmenin yanı sıra Antarktik buzullaşmasının başlamasının bir sonucu olarak çeşitlenen geniş bir şekilde dağılmış bir ataya işaret edebileceği şekilde değerlendirilmiştir. Karşılaştırma yaparak, bu klade'in, Kuzey Yarımküre dağılımının egemen olduğu bir cins içinde olağanüstü bir biyocoğrafik model izlediğini gösterilmiştir.

Mehmood ve ark (2018) tarafından, Uttarakhand, Hindistan'ın ılıman ormanlarından birkaç *Amanita* koleksiyonuyla birlikte *Amanita subparvipantherina* toplanılmıştır. Bu, Hindistan için ilk kayıt olarak rapor edilmiştir. Ayrıntılı bir morfolojik tanımlama ve *Amanita* ile yakından ilişkili diğer taksonlarla moleküler bir filogeni karşılaştırması sağlanmıştır.

Thongbai ve ark (2018) Tayland'dan *Amanita* sect. *Vaginatae*'nin sadece üç türünün rapor edildiğini bildirmişler ve bu nedenle, 2012-2016 yılları arasında toplanan *Amanita* sect. *Vaginata* örneklerini analizlemişlerdir. Dikkat çekici bir şekilde, β -tubulin, nrLSU, nrITS ve rpb2 genlerinin DNA dizi analizlerine ve

morfolojiye dayalı olarak incelenen on beş örnekten dokuzunun yeni tür olduğu tespit edilmiştir. Bu dokuz tür, çizimler ve renkli fotoğraflarla tam olarak tanımlanmış ve gösterilmiştir. İlgili taksonların morfolojik özellikleri karşılaştırılarak tartışılmıştır ve Tayland'da *Amanita* sect. *Vaginatae*'nin ikili bir anahtarı sağlanmıştır.

Vizzini ve ark (2020) tarafından yapılan bir çalışmada, *A. citrina*'nin İtalyan ve Fransız örnekleri dahil olmak üzere, *Amanita* cinsinin *Validae* seksiyonu çokgenli moleküler analizler (nrITS, nrLSU, tef1, rpb2) ile incelenmesi, taksonun *A. mappa* (= *A. citrina*) ile konspesifik olmadığı gösterilmiştir. Taksonun derinlemesine tanımlaması, müttefik türlerle bir karşılaştırma ve Avrupa'daki *Validae* serisi *Mappae* bölümü *Amanita* türleri için bir anahtar sağlanmıştır.



3. MATERYAL VE METOT

Çalışma, TÜBİTAK İkili İşbirliği Projeleri Birimi (Türkiye-Bulgaristan Bilateral Project) tarafından kabul edilen “Güneydoğu Avrupa (Balkanlar) ve Türkiye Mikrobiotasında Dağılım Gösteren *Amanita* S. L. Cinsinin Çokgenli Filogenetik Değerlendirilmesi” adlı “118Z640” nolu proje kapsamında gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda, moleküler analizler Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü ve Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’nde, mikroskopik analizler ise Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü ve Bulgaristan Bilimler Akademisi Biyoçeşitlilik ve Ekosistem Araştırmaları Enstitüsü (IBER)’de yapılmıştır.

3.1. Materyal

Çalışmada materyal olarak *Amanita ovoidea*, *A. muscaria*, *A. submembranacea*, *A. echinocephala*, *A. phalloides*, *A. citrina*, *A. huijmani* ve *A. caesarea* olmak üzere 8 tür kullanılmıştır.

3.1.1. *Amanita ovoidea*

Şapka 90-350 mm genişliğinde, beyaz, nemli, gençken yarıküresel, olgunlaştığında ise dışbükey ve etli kısım beyazdır (**Şekil 3.1**). Volva kalıntıları tüysü yapıdadır. Sap, 100-150 × 25-50 mm, beyaz, tamamen tüysü yapıda ve tabana doğru kalınlaşır. Volvası beyaz veya kızarıktır. Sporlar (6.3-) 7.5-10.5 (-15.0) × (4.9-) 5.2-7.0 (-8.4) µm ve elipsoiddir. Çam, meşe, iğne yapraklı ormanlarda, kireçli, kumlu ve alkali topraklarda, kıyı bölgelerinde, dağ, yol kenarlarında ve çimenli alanlarda bulunur (**Anonim, 2020**).



Şekil 3.1. *Amanita ovoidea*

3.1.2. *Amanita echinocephala*

Şapka 70-160 mm, genişliğinde, gümüşü gri ile soluk kahverengimsi gri arasında, soluk beyazdan pudra kremine, yaş bazen soluk kahverengimsi saman sarısıdır (Şekil 3.2). Sap 100-140 × 15-25 mm, halka şeklinde veya nadiren silindriktir, yuvarlak, sert, beyazımsı ile soluk saman sarısı renklerde. Sporlar 9.0-12.0 (-14.5) × 6.0-8.0 (-11.5) µm ve amiloid, uzaması için geniş bir şekilde elipsoiddir (Anonim, 2020).



Şekil 3.2. *Amanita echinocephala*

3.1.3. *Amanita phalloides*

Şapka 65-152 mm, genişliğinde, zeytin yeşili, sarı yeşil ile sarı, gri ve soluk ya da koyu kahverengi renklerinde. (Şekil 3.3). Sap, 54-135 × 8-17.5 mm, beyazdan yüzük altında soluk sarıya kadar renklenmekte, bazen tabana yakın kısımlarda daha koyu sarı, bazen yüzüğün üstünde hafif sarımsı beyaz. Sporlar, (7.5-) 8.0-10.1 (-13.5) × (5.5-) 6.1-8.0 (-10.5) µm, amiloid ve elipsoid şeklinde ya da geniş bir şekilde elipsoid olmak üzere subglobozdur. Basidyumların tabanında klamp bulunmaz. *Amanita phalloides*, ilk defa Avrupa'dan tanımlanmıştır. Avrupa'da kayın (*Fagus*), meşe (*Quercus*), çam (*Pinus*), kestane (*Castanea*), atkestanesi (*Aesculus*), huş ağacı (*Betula*), ve fındık (*Corylus maxima*), gürgen (*Carpinus*) ve ladin (*Picea*) ile oluşum göstermektedir (Anonim, 2020).



Şekil 3.3. *Amanita phalloides*

3.1.4. *Amanita citrina*

Şapka, 70-80 mm, genişliğinde, dışbükey, düz, hafif kahverengimsi gri renginden koyu griye kadar renklenmekte, çevresel fibriloz (elyafımsı) ve krem rengi ile sarımsı keçemsi volva kalıntıları ile kaplı, kenarı düz ve sarkan volva kalıntısı yok ve etli kısım beyazdır. Sap $80 \times 9-17-4$ mm, subsilindirik, yukarı doğru daralan şekilde. Yüzük zarımsı, üst yüzeyi sarı-sarımsı, alt yüzeyi grimsi-beyazımsı renktedir (Şekil 3.4). Sporlar, $8.0-10.0 (-11.0) \times 7.5-9.0 (-10.5) \mu\text{m}$, subgloboz ve amiloiddir. Bazidyumların tabanında klamp yoktur. Avrupa'da, sonbaharda yaprak döken ve iğne yapraklı ormanlık bölgelerde bulunur. Aynı zamanda, Kuzey Amerika meşe ve çam ormanlarında bulunur (Anonim, 2020).



Şekil 3.4. *Amanita citrina*

3.1.5. *Amanita huijsmanii*

Şapka 45-60 mm, genişliğinde, ilk başta çan şeklinde, daha sonra dışbükey, bazı örneklerde merkezde belirgin bir geniş topuzumsu çıkıntılı, kuru, kenarları güçlü bir şekilde çizgili, metalik gri, bazen merkezde daha koyu renkte. Sap, 55-70 × 7-9 mm, beyaz, hafif ve eşit şekilde yukarı doğru daralır, ince beyaz fibrillerle süslenmiştir. Etli kısım beyaz ve oyuktur (Şekil 3.5). Volva zarımsı ve beyaz renktedir. Sporlar, (8.5-) 10.1-12.8 (-15.0) × (6.5-) 7.0-9.8 (-10.9) µm, inamiloid ve elipsoiddir (Anonim, 2020).



Şekil 3.5. *Amanita huijsmanii*

3.1.6. *Amanita caesarea*

Şapka 50-140 (-190) mm, donuk turuncu renginden parlak turuncu ve kırmızı rengine kadar renklenmekte ve genellikle olgunlukta az çok soluklaşır, ilk başta yarı küresel, daha sonra yassı dışbükey, düz, bazen yapışkan, oldukça kısa kenar çizgili (Şekil 3.6). Sap, 60-130 × 15-25 mm, silindiriktir, sarı, yüzük altında pürüzsüz ve yukarıda hafif çizgilidir. Yüzük geniş, kalın, zarımsı, sarı, üst tarafta hafif çizgili, alt tarafta keçelidir. Volva 60 mm boyunda, 4 veya 5 mm kalınlığındadır. Sporlar, (8.0-) 8.9-12.9 (-17.8) × (5.3-) 6.0-8.5 (-14.3) µm, inamiloid ve elipsoid, bazen geniş bir şekilde elipsoiddir. *Amanita caesarea*, yaygın olan ve sevilen yenilebilir bir türdür (Anonim, 2020).



Şekil 3.6. *Amanita caesarea*

3.1.7. *Amanita muscaria*

Şapka 90-145 mm, başlangıçta yüzeyde mor rengin yavaş gelişmesi nedeniyle turuncu veya sarı ya da nadiren kırmızı olabilir (Şekil 3.7). Sap 60-210 × 8-22 mm, etek gibi annulosa sahip. Sporlar (7.4-) 8.5-11.5 (-13.1) × (5.6-) 6.5-8.5 (-9.8) µm, genişçe ellipsoid ve inamiloiddir. Bazidyumun tabanında klamp yok. Kuzeydeki şamanlar tarafından kullanımıyla ünlü olan toksik bir türdür. Tüm Avrupa ve kuzey Asya'da (Sibirya'da) ve batı Alaska'da görülür. İthal ağaçlarla (Örneğin; çam ve okaliptüs), en kolay şekilde (ve sıklıkla) gelen *Amanita* türlerinden biridir. Ektomikorizal olarak, pek çok bitki türü ile ilişki kurabilmektedir. Öncelikle huş ağacı ve çeşitli iğne yapraklılar ile ilişkilendirilen bu türün, geniş yapraklı (yaprğını döken) ağaçlar ile birlikte karışık ormanlarda, saf *Tilia* (Norveç'te) ormanlarında, Terschelling Adası (Friesland, Hollanda)'nda cüce söğütte (*Salix repens*) ve Avustralya ve Arjantin'deki okaliptuslarla birlikte mikorizl oluşturduğu rapor edilmiştir (Anonim, 2020).



Şekil 3.7. *Amanita muscaria*

3.1.8. *Amanita submembranacea*

Şapka 115 mm'ye kadar, koyu zeytin yeşili renğinde, kenarlara doğru daha soluk renklere, kenar çizgileri sap yarıçapından daha kısa. Sap yüzükten yoksun, tabanında az çok zarımsı sapı kaplayan volvaya sahip. Spor (8.3-) 9.5-13.0 (-14.5) x (7.3-) 9.0-12.0 (-13.0) μm , küresel (seyrek olarak elips)'dir (Şekil 3.8). Haziran-Eylül ayları arasında köknar (*Abies*), huş ağacı (*Betula*), *Larix* veya ladin (*Picea*) ile birlikte mikoriza oluşturur. *A. submembranacea* Fransa'dan tanımlanmış olup, şu anda Norveç'ten Akdeniz'e kadar yayılmış gösterdiği bilinmektedir (Anonim, 2020).



Şekil 3.8. *Amanita submembranacea*

3.2. Metot

3.2.1. Mantarların Toplanması ve Tanı Özelliklerinin Kaydedilmesi

Amanita cinsi mantar örneklerinin toplanması esnasında aşağıdaki hususlar göz önünde bulundurulmuştur:

- Mantarların bulunduğu yerde yüksek kalitede fotoğraflarının çekilmiştir.
- Bölgenin vejetasyon özelliklerinin kaydedilmiştir. (ağaç türleri)
- Küresel konumlama sistemi (GPS) ile koordinatların belirlenmiştir.
- Mantarların olduğu yerden alınarak numaralandırılmıştır.
- Kâğıt kese ya da alüminyum folyo içerisine konularak taşınmıştır.
- Şapka ölçümleri: Şapka çapı ve boyu dijital bir kumpas yardımıyla ölçülmüştür. (örnekler taze iken yapılmıştır)
- Sap ölçümleri: Sap çapı ve boyu dijital bir kumpas yardımıyla ölçülmüştür. (örnekler taze iken yapılmıştır)

- Volva ölçüleri: Volva ölçüleri de dijital bir kumpas yardımıyla mantar kurutulmadan alınmıştır.
- Sap ve şapkanın farklı bölümlerinin renkleri: Standart renk şemasına göre belirlenmiştir (**Kornerup ve Wanscher, 1978**).
- En kısa sürede gıda kurutucularında 40°C’de kurutulmuştur.
- Numarası ile birlikte kilitli plastik torbalar içerisine konularak muhafaza edilmiştir.
- Kurutulmuş örneklerin moleküler analizlerinin tamamlanmasının ardından fungaryum materyali olarak hazırlanmıştır [-30°C’de 48 saat bekletilmiş, etiketlenmiş (tür adı, toplayıcı adı, nereden toplandığı, GPS koordinatları ve yüksekliği, örnek numarası) ve kâğıt keselere yerleştirilmiştir].

3.2.2. Moleküler Analizler

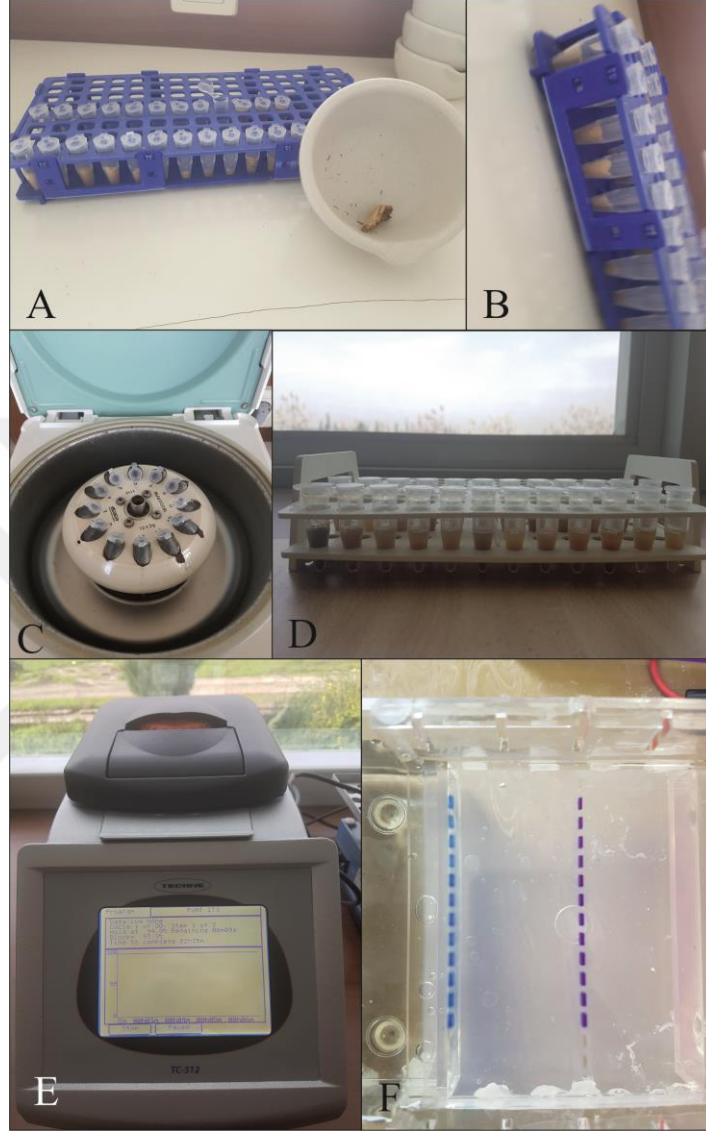
DNA izolasyonu, kurutulmuş mantarlardan alınan dokularda Eurx Genematrix Plant & Fungi DNA Purification Kit prosedürlerini küçük modifikasyonlarla takip ederek (RNase A ve proteinaz K konsantrasyonunu 100 mg/mL ve 10 mg/mL ve hacmini 10 µL artırarak) yapılmıştır (**Bozok, 2016**). DNA dizi analizi çalışmalarında, transkripsiyonu yapılamayan bölge (ITS rDNA) kullanılmıştır. DNA izolasyonunu takiben, izole edilen DNA’ların, DNA dizi analizi yapılacak gen bölgeleri ile çoğaltılmaları için PCR reaksiyonu yapılmıştır. Gen bölgelerinin çoğaltılması ve dizi analizleri için ITS1F (CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA) ve ITS4 (TCCTCCGCTTATTGATATGC) primerleri kullanılmıştır (**White ve ark, 1990; Gardes ve Bruns, 1993**). PCR koşulları şu şekilde olmuştur: 5 dakika 94°C, ardından 94°C’de 30 saniye 30 döngü, 53°C’de 45 saniye, 72°C’de 60 saniye ve 72°C’de 10 dakika.

PCR ürünleri 1xTAE buffer (**Sambrook ve Russell, 2001**) içerisindeki agaroz jel (%1.5-UltraPure TM Agarose)’de elektroforez yardımıyla yayıldıktan sonra etidium bromit ile boyanarak UV görüntüleme sistemi yardımıyla

görüntülenmiştir. PCR ürünlerinin temizlenmesi ve DNA dizi analizleri hizmet alımı şeklinde gerçekleştirilmiştir (**Şekil 3.9.**). DNA dizi analizleri, yine ITS1F-ITS4 primerleri kullanılarak BigDye Terminator v3.1 Sekanslama Kiti ile ABI 3730XL Sanger sıralayıcı (Applied Biosystems, Foster City, CA, ABD)'de yapılmıştır.

Satırlardaki dizin verilerinin düzenlenmesinde (ileri ve geri primerlerin karşılaştırılarak hataların düzeltilmesi) Sequencher version 5.4.5 (Gene Codes, Ann Arbor, MI) programı kullanmış ve sonrasında dizilimler yeniden düzenlenmiştir. Filogenetik ağaçların oluşturulması, MEGA 7.0 programı kullanımıyla Maximum Likelihood (ML) analizi ile yapılmıştır.

Türlerin belirlenmesi, elde edilen DNA dizilerinin Genbankası verileri ile karşılaştırması ile yapılmıştır. Çalışma ile elde edilen DNA dizilerine en yüksek benzerlik gösteren ve güvenilir kabul edilen kaynaklardan sağlanan DNA dizileri filogenetik analizlerde kullanılmıştır.



Şekil 3.9. Moleküler çalışmalar (A: Mantar örneklerinin öğütülmesi, B: Tüplere yerleştirilmesi, C: Santrifüj edilmesi, D: Prosedürdeki kimyasalların eklenmesi, E: PCR, F: Bantların görünümü)

3.2.3. Mikroskopik Çalışmalar

Makro ve mikro morfolojik analizler, son morfolojik monografik tanılar ve metodolojik çalışmalarda ana hatlarıyla belirtildiği şekilde cins üzerinde yapılan

çalışmalarda yaygın olarak uygulanan tekniklerle gerçekleştirilmiştir (Neville ve Poumarat, 2004; Tulloss ve Yang, 2011). Çalışmada her bir türde, 50 bazidyospor boyutlarının değerlendirilmesi yapılmıştır. Ölçümler için örnekler, musluk suyunda slaytlarla hazırlanmıştır. Slaytlar, $\times 1000$ büyütmede ışık mikroskopunda incelenmiş ve fotoğrafları çekilmiştir. Tüm mikroskobik çalışmalar, AmScope MU900 dijital kamera bağlantılı AmScope T360B bileşik ışık mikroskopunda yapılmıştır. Sonrasında, Piximetre v. 5.9 yazılımı yardımıyla ölçümler yapılmıştır. Spor uzunluğu ve spor çapı ölçülmüş ve daha sonra uzunluk/genişlik oranı hesaplanmıştır. Bu ölçümleri takiben, farklı ölçümlerin sonuçları karşılaştırılmış ve sporların değişkenliğinin istatistiksel değerlendirmesi yapılmıştır. Daha sonra, seçilen koleksiyonlardaki spor boyutları, mikolojik çalışmalarda yaygın olarak kullanılan KOH, Melzer reaktiflerinde ve musluk suyu ortamında incelenmiştir.

KOH (%5'lik Potasyum hidroksit): 10 ml damıtılmış su içerisinde 0.5 g KOH çözülerek hazırlanmıştır. Bu reaktif kararsız olduğundan ve zamanla kristal oluşturma eğiliminde olduğundan kullanmaya yakın zamanlarda az miktarlarda hazırlanmıştır.

Melzer reaktifi: 0.5 g iyot ve 1 g potasyum iyodür damıtılmış suda çözülmüş ve 22 g kloralhidrat eklenip karıştırılarak kullanımdan önce 48 saat bekletilmiştir. Bu ve bunun gibi diğer tüm iyot içeren reaktifler uzun süre saklamak için koyu koyu şişelerde tutularak tabii kalmaları sağlanmıştır.

IKI (iyot ve potasyum iyodür karışımı): 1 g iyot ve 3 g potasyum iyodür 100 ml damıtılmış suda çözülmüş olarak hazırlanmıştır.

Yani çalışmada musluk suyu, KOH, IKI ve Melzer reaktifi olmak üzere dört solüsyon kullanılmıştır. Spor uzunluğu, spor genişliği ve Q-oranı (herbir spor için spor uzunluğunun genişliğine oranı) olmak üzere üç spor parametresi değerlendirilmiştir: Her ölçüm kümesinden, karşılaştırma amacıyla minimum, maksimum, ortalama değer ve standart sapma hesaplanmıştır. Bas (1969)'a göre, L =spor uzunluğu, W =spor genişliği, Q =spor uzunluğunun spor genişliğine oranı

olarak adlandırılmaktadır.

Melzer reaktifi, evrensel olarak *Amanita* sporlarının spor duvarlarındaki olası amiloid reaksiyonunu test etmek için sıklıkla kullanılan bir solüsyon olarak bilinmektedir. (Baral, 1987). Bununla birlikte, Melzer reaktifinin kullanımı, ana bileşenlerinden biri olan kloralhidrat nedeniyle potansiyel sağlık riskleri açısından birçok ülkede son yirmi yılda giderek zorlaşmaktadır. Bazı mantar gruplarında Melzer reaktifi kullanımı, diğer solüsyonlarla başarılı bir şekilde ikame edilebilirken, bazı mantar gruplarında edilememektedir. *Amanita*'da ise bu solüsyonların karşılaştırmalı kullanımı ayrıntılı olarak test edilmemiştir. Bu nedenle, bu çalışmada *Amanita* sporlarında ile çalışmanın yerine geçip geçemeyeceğini değerlendirmek için diğer iyot içeren reaktiflerle (IKI, laktogliserol-IKI, laktofenol-IKI) testler yapılmıştır.

- IKI (bağımsız çalışma çözeltisi): 1 g iyot (I₂) ve 3 g potasyum iyodür (KI) 100 ml damıtılmış suda çözülerek hazırlanmıştır.
- IKI (laktogliserol ve laktofenole eklemek için hazırlanan ana çözelti): 1 g iyot (I₂) ve 3 g potasyum iyodür (KI) 10 ml damıtılmış suda çözülerek hazırlanmıştır.
- Laktofenol: 20.0 g fenol, 40.0 ml gliserol, 20.0 ml laktik asit 20.0 ml damıtılmış su içerisinde çözülerek hazırlanmıştır.
- Laktogliserol: 1: 2: 1 (h / h) oranlarında laktik asit, gliserol ve su eklenerek hazırlanmıştır.
- Laktogliserol–IKI: 9:1 oranında laktogliserol ve IKI ile karıştırılarak hazırlanmıştır.
- Laktofenol–KI: 9:1 oranında laktofenol ve IKI karıştırılarak hazırlanmıştır.

Ön test sırasında yukarıdaki reaktiflerin uygulanabilirliği genel olarak değerlendirilmiş ve laktogliserol ve laktofenol bazlı reaktifler *Amanita* sporlarının

mikroskopisi için yararlı olmadığı soucnaa varılmıştır. Her iki inceleme ortamı da *Amanita* sporlarının iç yapısını tamamen yok etmiş ve sporların mikroskop altında tekdüze görünmelerine sebebiyet vermişlerdir. Bu durum, normal olarak gelişen sporların anormal olarak gelişen sporlardan ayırt edilmesini imkansız hale getirmekte ve böylelikle yanlış ölçüm sonuçları açığa çıkmaktadır. Dahası, bu iki çözeltilerin yüksek kırılma indeksleri (1.4'ün üzerinde), *Amanita* spor duvarlarının görüldüğünden daha ince görünmesini sağlamakta ve spor ölçümlerini zorlaştırmaktadır. Bunun dışında, laktogliserol ve laktofenol bazlı reaktifler, *Amanita* taksonomisinde kullanım için pratik olmayan ve spor preparatı hazırlarken sporların hareket etme ve kendi eksenini etrafında dönmesini engelleyen yüksek oranda yoğun çözeltiler olduğundan dolayı bu reaktiflerin *Amanita* sporlarının mikroskopisi için uygun olmadığı düşünülmektedir.

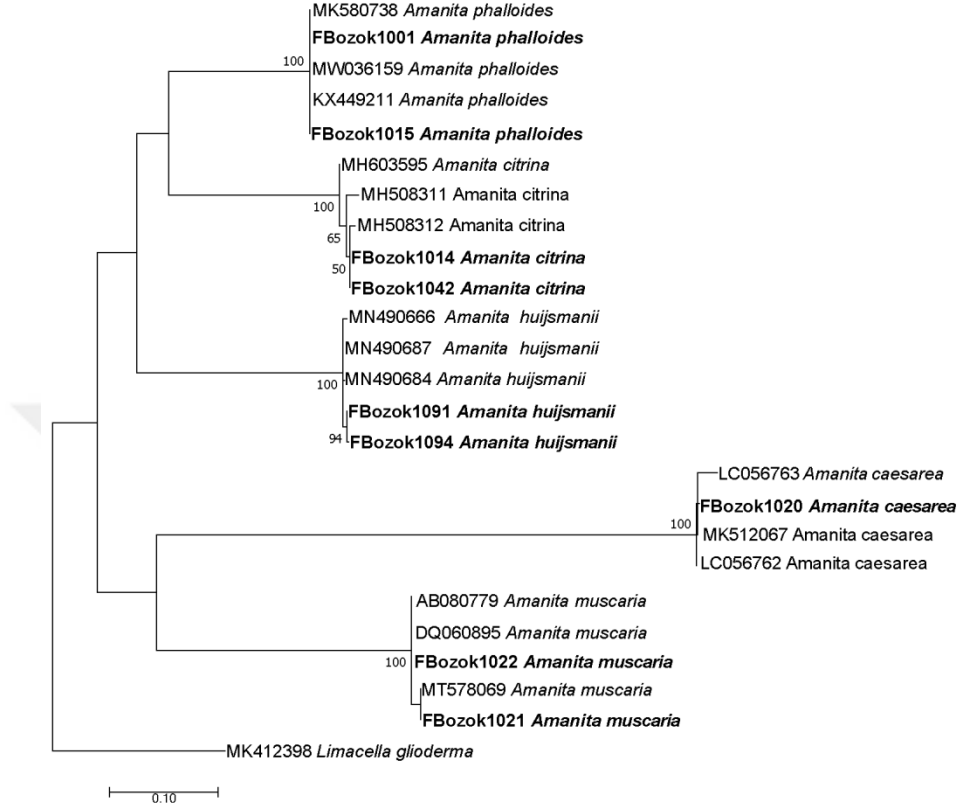


4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Moleküler Çalışmalar

Bu tez çalışması kapsamında seçilen *Amanita* cinsi türlerinin, farklı seksiyonlardan olmasına dikkat edilmiştir. Seçilen türlerin morfotaksonomik tanımlanmasının ardından ITS gen bölgesine dayalı DNA dizi analizleri ile moleküler doğrulamaları da yapılmaya çalışılmıştır. Bu kapsamda, *A. phalloides*, *A. citrina*, *A. huijsmanii*, *A. caesarea* ve *A. muscaria* türlerinin moleküler analizlerinden kaliteli DNA dizileri elde edilebilmiş, diğer üç tür olan *A. ovoidea*, *A. submembranacea* ve *A. echinocephala*'dan kaliteli DNA dizileri elde edilemediği için filogenetik ağaca eklenememiştir. Ancak, proje devam ettiği için farklı yöntemlerle ve tekniklerle bu türlerden de kaliteli DNA dizileri elde edilmesi çalışmaları devam etmektedir.

Şekil 4.1'de, Kimura 2-parametre modeline dayanan Maximum Likelihood (ML) analizi ile çizilen *Amanita* cinsine ait çalışmada incelenen türleri içeren ITS rDNA gen bölgelerini içeren filogenetik ağaç sunulmuştur. Ağacın en yüksek log likelihood değeri -5484.50'dir. İlişkili taksonların birlikte kümelendiği dalların destek yüzde değerleri, dalların yanında gösterilmiştir. Analiz 25 nükleotid sekansı içermekte ve son veri kümesinde toplam 1499 pozisyon bulunmaktadır. Bu çalışma kapsamında incelenen koleksiyon koyu olarak gösterilmiştir. Dış grup olarak, *Limacella glioderma* kullanılmıştır. Filogenetik ağaç oluşturulurken, seçilen koleksiyonu genbankasında tam anlamıyla karşılayan türlerin DNA dizleri FASTA formatında indirilerek kullanılmıştır (Çizelge 4.1). Elde edilen bu sonuçlar doğrultusunda, Maximum Likelihood (ML) analizi yapılmıştır.



Şekil 4.1. Maximum Likelihood (ML) analizi ile çizilen *Amanita* cinsine ait incelenen türler için filogenetik ağaç

Çizelge 4.1. Genbankasından seçilerek karşılaştırma amaçlı kullanılan *Amanita* türleri

Tür	Genbank kodu	Referans
<i>A. phalloides</i>	MK580738	Yayınlanmamış
<i>A. phalloides</i>	MW036159	Yayınlanmamış
<i>A. phalloides</i>	KX449211	Berch ve ark (2017)
<i>A. citrina</i>	MH603595	Loizides ve ark (2018)
<i>A. citrina</i>	MH508311	Yayınlanmamış
<i>A. citrina</i>	MH508312	Yayınlanmamış
<i>A. huijsmanii</i>	MN490666	Hanss ve Moreau (2017)
<i>A. huijsmanii</i>	MN490687	Hanss ve Moreau (2017)
<i>A. huijsmanii</i>	MN490684	Hanss ve Moreau (2017)
<i>A. caesarea</i>	LC056762	Endo ve ark (2016)
<i>A. caesarea</i>	LC056763	Endo ve ark (2016)
<i>A. caesarea</i>	MK512067	Borovička ve ark (2019)
<i>A. muscaria</i>	AB080779	Oda ve ark (2002)
<i>A. muscaria</i>	DQ060895	Geml ve ark (2006)
<i>A. muscaria</i>	MT578069	Thiem ve ark (2020)
<i>L. glioderma</i>	MK412398	Yayınlanmamış

Araştırma kapsamında seçilen türlerden *A. echinocephala* *Lepidella*, *A. ovoidea* *Roanokenses*, *A. phalloides* *Phalloidae*, *A. citrina* *Validae*, *A. muscaria* *Amanita*, *A. caesarea* *Caesarea*, *A. huijsmanii* ve *A. sebmembranacea* ise *Vaginatae* seksiyonlarında yer almaktadırlar. Ayrıca; *Lepidella*, *Validae*, *Roanokenses* ve *Phalloidae* seksiyonları *Lepidella* altcinsinde; *Amanita*, *Caesarea* ve *Vaginatae* ise *Amanita* altcinsinde yer almaktadır. Filogenetik ağaç incelendiğinde, *A. phalloides*, *A. citrina* ve *A. huijsmanii* birbirlerine; *A. caesarea* ile *A. muscaria*'da birbirlerine daha yakın yerleşim göstermişlerdir.

Amanita cinsi üzerinde yapılan birçok moleküler çalışma bulunmaktadır. **Weiß ve ark (1998)** LSU gen bölgesi, **Oda ve ark (1999)** ITS gen bölgesi, **Drehmel ve ark (1999)** LSU gen bölgesi, **Zhang ve ark (2004)** ITS ve LSU gen bölgeleri, **Zhang ve ark (2010)** ITS gen bölgesi, **Cai ve ark (2014)** LSU, ITS, rpb2, ef1- α ve β -tubulin gen bölgeleri, **Vizzini ve ark (2016)** ITS gen bölgesi ile moleküler çalışmalar yapmışlardır. Son

zamanlarda kapsamlı bir çalışmada, **Hanss ve Moreau (2017)** tarafından gerçekleştirilmiş ve cins üzerindeki filogenetik tartışmalar devam etmektedir. **Redhead ve ark (2016)** tarafından yapılan çalışmada, *Amanita* cinsi, *Amanita*-ektomikorizal cins ve *Aspidella*-saprofit cins olarak iki monofiletik gruba bölünmüş ve nedenleri tartışılmıştır. Hemen akabinde **Tulloss ve ark (2016)** tarafından yapılan bir çalışmada ise, son zamanlarda iyi bilinen bir cins olan *Amanita*'nın ektomikorizal bir cins olan *Amanita* ve saprofit bir cins olan *Saproamanita* olmak üzere iki cinse bölündüğünü, bu bölünmeye katılmadıklarını ve *Amanita* cinsinin bölünmemesi gerektiğini, cinsin bölünmesi için yapılan önerinin yeni cins yayınlanması için son zamanlarda önerilen kurallara uymadığını bildirmişlerdir. Monofiletik *Amanitaceae* familyası ve onun iki monofiletik cinsi *Amanita* ve *Limacella* için sağlanmıştır. *Amanita*'nın karakterizasyonunda, *Vittadiniae* alt seksiyonundan *Hesleri* soyunun kaldırılması şeklinde minimal bir düzenleme önerilmiş ve *Amanita* sistematğinde bazı açık noktalar tartışılmıştır. Çalışmada, cinsin bölünmesinin gereksiz olduğu ve birbirleriyle ilişkilerinin ve eski literatürlerle bağlantılarının sağlanmasını zorlaştırabileceği bildirilmiş, fungal ekoloji çalışmalarında geçerli yeni nesil sekanslama kullanımının *Amanita*'nın bölünmesini gerektirmediği sonucuna varılmıştır.

Bu tez çalışması kapsamında sadece sekiz tür alınarak, bu sekiz türün öncelikle morfoloksonomik sonra da moleküler yöntemlerle tanımları yapılmış, sonrada spor boyutunda morfolojik tanımlama kriterlerine bir katkı sağlamak adına karşılaştırmalı spor boyutları incelemeleri farklı solüsyonlarda gözlemlenmiştir. Bu nedenle, çalışmada moleküler analizler sınırlı düzeyde gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma, Türkiye ve Bulgaristan

arasında TÜBİTAK tarafından desteklenen bir ikili işbirliği projesinin küçük bir kısmıdır. Proje tamamlandığında, daha kapsamlı ve geniş moleküler datalarla (farklı gen bölgelerinde incelendiği) daha kapsamlı filogenetik ağaçlar oluşturulacaktır.

Çalışmada spor ölçümleri tür ve altcins düzeyinde ve aynı zamanda kullanılan solüsyonların karşılaştırılması şeklinde incelenmiş ve interaksiyonlarda göz önünde bulundurulmuştur.

4.2. Spor İncelemelerinin Altains Düzeyinde Karşılaştırılması

İncelenen sekiz *Amanita* türünün örneklerinin dört tanesi *Lepidella*, 4 tanesi *Amanita* altcinsinde yer almakta olup, spor incelemeleri öncelikle altains düzeyinde değerlendirilmiştir.

4.2.1. Altains Düzeyinde Spor Uzunluğu (L) Ölçümleri

Denemede iki farklı altains, dört farklı solüsyon ve bunların arasındaki interaksiyonun ortalaması Çizelge 4.2'de sunulmuştur. Çizelge 4.2'ye göre, spor uzunluğu açısından varyans analizi sonucuna bakıldığında altains, solüsyon ve bunların interaksiyonları arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar bulunmuştur. Buna göre, altains x solüsyon interaksiyonu arasındaki ilişki önemli bulunmuş ve en uzun spor 11.60 µm ile *Amanita* altcinsinde uygulanan Melzer solüsyonundan elde edilmiştir. En kısa spor ise 9.63 µm ile *Lepidella* altcinsinde Melzer solüsyonunda kaydedilmiştir. *Amanita* ve *Lepidella* altcinslerinde H₂O-1, H₂O-2 ve KOH solüsyonları arasında, istatistiksel olarak fark bulunmamıştır. Bu da spor uzunluğu ölçümlerinde, bu üç solüsyondan biri tercih edildiğinde sonuçların değişmeyeceği anlamına gelmektedir. Melzer solüsyonu ise istatistiksel olarak farklılık göstermiştir. *Amanita* ve *Lepidella* için; MLZ ve diğer 3 solüsyondan biri karşılaştırma amaçlı kullanıldığı zaman sonuçların istatistiksel olarak farklı çıkacağı görülmektedir.

Kullanılan solüsyonlar arasındaki farklılıklar karşılaştırıldığında, en uzun spor (10.62 μm) ölçümü, Melzer solüsyonundan elde edilmiştir. Buna göre altcinslerde spor uzunluğu açısından uygulanan solüsyonlar içerisinde, Melzer en kullanışlı olarak tespit edilmiştir. Bunu, sırasıyla KOH (10.56 μm), H₂O-2 (10.40 μm) ve H₂O-1 (10.38 μm) takip etmiştir. Solüsyonların spor uzunluğu ölçümü ortalamalarına bakıldığı zaman, Melzer ve KOH ortalama olarak daha yakın, Melzer ve H₂O-2 ile H₂O-1 arasında önemli farklılıklar tespit edilmiştir. KOH, H₂O-2 ve H₂O-1 ise ortalama olarak yakınlık göstermiştir.

Çalışmada kullanılan *Amanita* ve *Lepidella* altcinslerinin spor uzunluklarındaki farklar, istatistiksel olarak önemli bulunmuş ve en yüksek değer 11.08 μm *Amanita* altcinsinden elde edilmiştir.

Çizelge 4.2. Spor uzunluğu (L) açısından iki farklı altcins, dört farklı solüsyon ve bunların arasındaki interaksiyonun ortalaması (μm)

Altçins	H ₂ O-1	H ₂ O-2	KOH	MLZ	Altçins ort.
<i>Amanita</i>	10.82b	10.85b	11.05b	11.60a	11.08A
<i>Lepidella</i>	9.95c	9.93c	10.07c	9.63d	9.90B
Solüsyon ortalaması	10.38b	10.40b	10.56ab	10.62a	
LSDaltçins***= 0.1441	LSDsolüsyon***= 0.2038		LSDint***= 0.2881		

1 Aynı sütunda ayrı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki istatistiksel farklılıklar önemli bulunmuştur

2 Ö.D.. Önemli değil; *, P<0.05. **p ≤ 0.01, ***p ≤ 0.001'i ifade etmektedir

4.2.2. Altçins Düzeyinde Spor Genişliği (W) Ölçümleri

Denemede kullanılan iki farklı altcins, dört farklı solüsyon ve bunların arasındaki interaksiyonun ortalaması Çizelge 4.3'de verilmiştir. Çizelge 4.3'e göre, spor genişliği açısından varyans analizi sonucuna bakıldığında altcins, solüsyon ve bunların interaksiyonları arasındaki fark, istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Buna göre, altcins x solüsyon interaksiyonu arasındaki ilişki önemli bulunmuş, en geniş spor ölçümü 9.36 μm ile *Amanita* altcinsinde Melzer solüsyonundan, en düşük ölçüm ise *Lepidella* altcinsinde Melzer solüsyonundan elde edilmiştir.

Amanita ve *Lepidella* altcinslerinde H₂O-1, H₂O-2 ve KOH solüsyonları arasında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır. Yani spor uzunluğunda olduğu gibi spor genişliği açısından da bu üç solüsyondan birisi tercih edildiğinde sonuç değişmeyecektir. Melzer ise istatistiksel olarak farklılık göstermiştir. *Amanita* ve *Lepidella* için; MLZ ve diğer 3 solüsyondan biri karşılaştırma amaçlı kullanıldığı zaman sonuçların istatistiksel olarak farklı çıkacağı görülmektedir.

Çalışmada kullanılan solüsyonlar kıyaslandığında, en yüksek spor genişliği ölçümü (8.36 µm), KOH solüsyonundan elde edilmiştir. Denemede altcinslerde KOH solüsyonu, en iyi solüsyon olarak belirlenmiştir. Bunu sırasıyla, MLZ (8.30 µm), H₂O-2 (8.19 µm) ve H₂O-1 (8.15 µm) takip etmiştir. KOH ile H₂O-1 ortalamaları arasında, önemli farklılıklar tespit edilmiştir. MLZ ve H₂O-2 birbirine yakın sonuçlar verirken, KOH ile arasında farklılık tespit edilmiştir.

Amanita ve *Lepidella* altcinslerinde, sporların genişliği bakımından elde edilen farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuş, en yüksek ölçüm (8.97 µm) *Amanita* seksiyonundan elde edilmiştir.

Çizelge 4.3. Spor genişliği (W) açısından iki farklı altcins, dört farklı solüsyon ve bunların arasındaki interaksiyonun ortalaması (µm)

Altçins	H ₂ O-1	H ₂ O-2	KOH	MLZ	Altçins ort.
<i>Amanita</i>	8.73b	8.83b	8.95b	9.36a	8.97 a
<i>Lepidella</i>	7.56c	7.55c	7.77c	7.24d	7.53 b
Solüsyon ortalaması	8.15b	8.19ab	8.36a	8.30ab	
LSDaltçins***= 0.1289	LSDsolüsyon***= 0.1823		LSDint***= 0.2578		

1 Aynı sütunda ayrı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki istatistiksel farklılıklar önemli bulunmuştur

2 Ö.D.. Önemli değil; *, P<0.05. **p ≤ 0.01, ***p ≤ 0.001'i ifade etmektedir

4.2.3. Altçins Düzeyinde Q Değeri (Uzunluk/Genişlik) Ölçümleri

Denemede kullanılan iki farklı altcins, dört farklı solüsyon ve bunların arasındaki interaksiyonun ortalaması Çizelge 4.4'de verilmiştir. Çizelge 4.4'e göre, Q değeri açısından varyans analizi sonucu incelendiğinde altcins, solüsyon ve bunların interaksiyonları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

Buna göre, altcins x solüsyon interaksyonu arasındaki ilişki önemli bulunmuştur. *Lepidella* altcinsinde Melzer ve H₂O-2 solüsyonları arasında, istatistiksel olarak fark bulunamamıştır ve en yüksek ölçüm olarak belirlenmiştir. *Amanita* altcinsinde uygulanan H₂O-1, H₂O-2, KOH ve Melzer solüsyonları arasında istatistiksel olarak farklılık bulunamamıştır. Q değeri, spor uzunluğunun spor genişliğine oranı olduğu için ve hem spor uzunluğunda hem de spor genişliğinde benzer sonuçlar elde edildiği için, bu durum zaten beklenen bir durum olmuştur.

Kullanılan solüsyonlar kıyaslandığında, H₂O-1 (1.29) ve Melzer (1.29) solüsyonları değerleri, istatistiksel olarak aynı grupta yer almış ve en yüksek değerler, bu solüsyonlardan elde edilmiştir.

Amanita ve *Lepidella* altcinslerinde, elde edilen sporların Q (uzunluk/genişlik) oranı bakımından arasındaki farklılıklar, istatistiksel olarak önemli bulunmuş ve en yüksek değer *Lepidella* (1.31) altcinsinden elde edilmiştir.

Genel olarak, *Amanita* ve *Lepidella* altcinslerinde Melzer farklı etkiler göstermiştir. *Lepidella*'dan, *Amanita*'ya göre daha düşük değerler elde edilmiştir. Bunun nedeninin, spor çevresindeki membran (zar) yapısının sınırının belirgenliğini azaltıp, spor sınırının keskinleşirmesinden dolayı ve sporun iç yapısını boşaltarak ölçüm değişikliğine sebep olabileceği düşünülmektedir. Bunun tam tersi ise *Amanita* altcinsi için geçerlidir. Spor içindeki yapıları göstererek, daha geniş görünmesine sebep olmuş olabilir. Böylece iki altcins arasında, istatistiksel farklılıklar ortaya çıkmıştır. Melzer, evrensel olarak *Amanita* sporlarının spor duvarlarındaki olası amiloid reaksiyonunu test etmek için inceleme ortamı olarak bilinmektedir (Baral, 1987).

Çizelge 4.4. Q değeri açısından iki farklı altcins, dört farklı solüsyon ve bunların arasındaki interaksiyonun ortalaması

Altcins	H ₂ O-1	H ₂ O-2	KOH	MLZ	Altcins ort.
<i>Amanita</i>	1.26c	1.24c	1.25c	1.26c	1.25b
<i>Lepidella</i>	1.31ab	1.32a	1.29b	1.33a	1.31a
Altcins ort.	1.29a	1.28ab	1.27b	1.29a	
LSDcinsler***= 0.0104		LSDsolüsyonlar***= 0.0147		LSDint***= 0.0207	

1 Aynı sütunda ayrı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki istatistiksel farklılıklar önemli bulunmuştur

Ö.D.. Önemli değil; *, P<0.05. **p ≤ 0.01, ***p ≤ 0.001'i ifade etmektedir

Bas (1969)'a göre **Q** oranları 1.0-1.05 arasında ise sporlar globoz, 1.05-1.15 arasında ise (subgloboz), 1.15-1.30 arasında ise genişçe ellipsoid, 1.30-1.60 arasında ise elipsoid. 1.60-2.0 arasında ise uzunlamasına, 2.0-3.0 arasında ise silindirik, 3.0'den büyük ise çomak şeklinde değerlendirilmektedir. Bu oranlara göre, *Amanita* altcinsi 1.25 ile genişçe ellipsoid, *Lepidella* altcinsi ise 1.31 ile ellipsoid sınıfına girmektedir. **Vesterholt (2008)**'e göre yapılan çalışmada altcins bazında *Amanita*, genişçe elipsoid ve *Lepidella* cinside geniş elipsoid bulunmuştur.

4.3. Spor İncelemelerinin Tür Düzeyinde Karşılaştırılması

4.3.1. Tür Düzeyinde Spor Uzunluğu (L) Ölçümleri

Araştırmada kullanılan sekiz farklı *Amanita* türü, dört farklı solüsyon ve bunların arasındaki interaksiyonun ortalaması Çizelge 4.5'de verilmiştir. Çizelge 4.5'e göre, değerlendirilen *Amanita* türlerinden elde edilen sporlara yapılan varyans analizi sonucuna bakıldığında türler, solüsyonlar ve bunların interaksiyonları arasındaki farklılıkların önemli olduğu saptanmıştır.

Buna göre, tür x solüsyon interaksiyonu arasındaki ilişki önemli bulunmuştur. En yüksek spor uzunluğu değeri (12.21 µm), *A. huijsmanii* (*Vaginatae*)'de Melzer solüsyonunda, en düşük değer ise (8.65 µm) *A. citrina* (*Validae*)'de yine Melzer solüsyonunda gözlemlenmiştir. Kullanılan solüsyonlar kıyaslandığında, Melzer (10.61 µm) ve KOH (10.55 µm) solüsyonu arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz olmuş ve en iyi uygulama olarak bulunmuştur. Aynı

zamanda, H₂O-1 (10.38 µm) ve H₂O-2 (10.39 µm) solüsyonları arasındaki farklılıklarda, istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Araştırmada kullanılan *Amanita* türlerinde spor uzunluğu açısından, farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Buna göre, sporu en uzun tür 11.79 µm ile *A. huijsmanii* (*Vaginatae*) olarak saptanmıştır. *A. submembranacea* (*Vaginatae*), 11.48 ile µm ikinci sırada yer alırken, 10.85 µm ile *A. muscaria* (*Amanita*) ve 10.73 µm ile *A. echinocephala* (*Lepidella*) arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuş ve üçüncü sırada yer almıştır. Spor uzunluğu en kısa tür ise 9.02 µm ile *A. citrina* (*Validae*) olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.5. Spor uzunluğu (L) açısından sekiz farklı tür, dört farklı solüsyon ve bunların arasındaki interaksiyonun ortalaması (µm)

Türler	H ₂ O-1	H ₂ O-2	KOH	MLZ	Tür ort.
<i>A. echinocephala</i> (<i>Lepidella</i>)	10.67h ₁	10.63h ₁	11.14def	10.48h _{ij}	10.73c
<i>A. ovoidea</i> (<i>Roanokenses</i>)	10.60h ₁	10.49h _{ij}	10.62h ₁	10.30i _{jk}	10.50d
<i>A. phalloides</i> (<i>Phalloidae</i>)	9.40m	9.45m	9.35m	9.06m	9.31f
<i>A. citrina</i> (<i>Validae</i>)	9.13m	9.15m	9.16m	8.65n	9.02g
<i>A. muscaria</i> (<i>Amanita</i>)	10.40h _{ij}	10.69h ₁	10.76f _{gh}	11.55bc	10.85c
<i>A. caesarea</i> (<i>Caesareae</i>)	9.95kl	9.89l	10.18j _{kl}	10.74g _h	10.19e
<i>A. huijsmanii</i> (<i>Vaginatae</i>)	11.49b-e	11.71bc	11.73bc	12.21a	11.79a
<i>A. submembranacea</i> (<i>Vaginatae</i>)	11.43cde	11.10efg	11.51bcd	11.87ab	11.48b
Solüsyon ort.	10.38b	10.39b	10.55a	10.61a	
LSDtür***= 0.1988	LSDsolüsyon***= 0.1406	LSDint***= 0.3977			

1 Aynı sütunda ayrı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki istatistiksel farklılıklar önemli bulunmuştur

2 Ö.D.. Önemli değil; *, P<0.05. **p ≤ 0.01, ***p ≤ 0.001'i ifade etmektedir

4.3.2. Tür Düzeyinde Spor Genişliği (W) Ölçümleri

Araştırmada kullanılan sekiz farklı *Amanita* türü, dört farklı solüsyon ve bunların arasındaki interaksiyonun spor genişliği açısından ortalaması, Çizelge 4.6'de sunulmuştur. Çizelge 4.6'ya göre, değerlendirilen *Amanita* türlerinden elde edilen sporlara yapılan varyans analizi sonucu incelendiğinde türler, solüsyonlar ve bunların interaksiyonları arasındaki farklılıkların önemli olduğu dikkat çekmiştir.

Buna göre, tür x solüsyon interaksyonu arasındaki ilişki, önemli bulunmuştur. En yüksek spor genişliği değeri (11.35 µm) *A. submembranacea* (*Vaginatae*)’de Melzer solüsyonunda, en düşük değer (6.89 µm) ise *A. ovoidea* (*Roanokenses*)’de yine Melzer solüsyonunda gözlemlenmiştir.

Kullanılan solüsyonlar kıyaslandığında, 8.36 µm değeriyle KOH solüsyonunun en geniş olduğu dikkat çekmiştir. Bunu sırasıyla, 8.30 µm ile Melzer, 8.18 µm ile H₂O-2, ve 8.15 µm ile H₂O-1 takip etmiştir.

Araştırmada kullanılan *Amanita* türlerinin spor genişliği açısından farklılıkları, istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Buna göre, sporu genişliği en fazla olan tür *A. submembranacea* (*Vaginatae*) olarak belirlenmiştir. Genişlik bakımından en düşük değer ise 4.12 µm ile *A. ovoidea* (*Roanokenses*)’de elde edilmiştir.

Çizelge 4.6. Spor genişliği (W) açısından sekiz farklı tür, dört farklı solüsyon ve bunların arasındaki interaksyonun ortalaması (µm)

Türler	H ₂ O-1	H ₂ O-2	KOH	MLZ	Tür ort.
<i>A. echinocephala</i> (<i>Lepidella</i>)	7.84ghi	7.81ghij	8.31f	7.84ghi	7.95c
<i>A. ovoidea</i> (<i>Roanokenses</i>)	7.31klmn	7.07mno	7.24lmno	6.89o	7.12g
<i>A. phalloides</i> (<i>Phalloidae</i>)	7.55ijkl	7.53ijkl	7.53ijkl	6.98no	7.39f
<i>A. citrina</i> (<i>Validae</i>)	7.55ijkl	7.78ghij	8.01fgh	7.25lmno	7.64e
<i>A. muscaria</i> (<i>Amanita</i>)	7.41jklm	7.71hijk	7.60hijkl	8.17fg	7.72de
<i>A. caesarea</i> (<i>Caesareae</i>)	7.61hijkl	7.74hij	7.94fghi	8.17fg	7.86cd
<i>A. huijsmanii</i> (<i>Vaginatae</i>)	9.13e	9.41de	9.35de	9.75d	9.41b
<i>A. submembranacea</i> (<i>Vaginatae</i>)	10.78bc	10.44c	10.90b	11.35a	10.87a
Solüsyon ort.	8.15c	8.18bc	8.36a	8.30ab	
LSDtür***= 0.2065	LSDsolüsyon***= 0.1460		LSDint***= 0.4130		

1 Aynı sütunda ayrı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki istatistiksel farklılıklar önemli bulunmuştur

2 Ö.D.. Önemli değil; *, P<0.05. **p ≤ 0.01, ***p ≤ 0.001’i ifade etmektedir

4.3.3. Tür Düzeyinde Q Değeri (Uzunluk/Genişlik) Ölçümleri

Araştırmada kullanılan sekiz *Amanita* türü, dört farklı solüsyon ve bunların arasındaki interaksyonun Q değeri açısından ortalaması, Çizelge 4.7’de verilmiştir. Çizelge 4.7’ye göre, değerlendirilen *Amanita* türlerinden elde edilen sporlara yapılan varyans analizi sonucu incelendiğinde türler, solüsyonlar ve bunların interaksyonları arasındaki farklılıkların önemli olduğu dikkat çekmiştir.

Buna göre, tür x solüsyon interaksyonu arasındaki ilişki önemli bulunmuştur. Çizelge 4.7 incelendiğinde, *A. ovoidea* (*Roanokenses*) türünde H₂O-1 (1.47), H₂O-2 (1.48), KOH (1.47) ve Melzer (1.49) solüsyonları istatistiksel olarak aynı grupta yer almış ve bu interaksyonlardan en yüksek değerler elde edilmiştir. Benzer şekilde, *A. muscaria* (*Amanita*) türü mantarlardan elde edilen sporlara yapılan analizde de H₂O-1 (1.40), KOH (1.41) ve Melzer (1.41) solüsyonları, istatistiksel olarak aynı grupta yer almıştır.

Kullanılan solüsyonlar kıyaslandığında, en iyi solüsyon (1.29) Melzer olarak tespit edilmiştir. Bunu, sırasıyla 1.28 ile H₂O-1, 1.28 ile H₂O-2 ve 1.27 ile KOH solüsyonları takip etmiştir.

Denemede kullanılan *Amanita* türlerinden elde edilen sonuçlar incelendiğinde, en yüksek değer (1.47) *A. ovoidea* (*Roanokenses*)’dan elde edilmiştir. Bunu sırasıyla 1.40 ile *A. muscaria* (*Amanita*), 1.34 ile *A. echinocephala* (*Lepidella*) ve 1.29 ile *A. caesarea* (*Caesareae*) takip etmektedir.

Çizelge 4.7. Q değeri açısından sekiz farklı tür, dört farklı solüsyon ve bunların arasındaki interaksiyonun ortalaması

Türler	H ₂ O-1	H ₂ O-2	KOH	MLZ	Tür ort.
<i>A. echinocephala (Lepidella)</i>	1.39cd	1.35d	1.33de	1.33def	1.34c
<i>A. ovoidea (Roanokenses)</i>	1.47a	1.48a	1.47a	1.49a	1.47a
<i>A. phalloides (Phalloidae)</i>	1.24j	1.25ij	1.24j	1.30fgh	1.25e
<i>A. citrina (Validae)</i>	1.20k	1.17k	1.14l	1.19k	1.17f
<i>A. muscaria (Amanita)</i>	1.40b	1.39bc	1.41b	1.41b	1.40b
<i>A. caesarea (Caesareae)</i>	1.32e-h	1.28hı	1.28ghı	1.31efg	1.29d
<i>A. huijsmanii (Vaginatae)</i>	1.26ij	1.24j	1.25ij	1.25ij	1.25e
<i>A. submembranacea (Vaginatae)</i>	1.06m	1.06m	1.06m	1.05m	1.05g
Solüsyon ort.	1.28ab	1.28bc	1.27c	1.29a	
LSDtür***= 0.0161	LSDsolüsyon***= 0.0114	LSDint***= 0.0322			

1 Aynı sütunda ayrı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki istatistiksel farklılıklar önemli bulunmuştur

2 Ö.D.. Önemli değil; *, P<0.05. **p ≤ 0.01, ***p ≤ 0.001'i ifade etmektedir

4.4. *A. echinocephala* İçin Spor İncelemeleri

4.4.1. *A. echinocephala* İçin Spor Uzunluğu (L) Ölçümleri

A. echinocephala türünde spor uzunluğu açısından KOH solüsyonu, diğer solüsyonlardan istatistiksel olarak önemli derecede farklı bulunmuştur. H₂O-1 ve H₂O-2 solüsyonları arasında, istatistiksel olarak fark bulunamamıştır. Ayrıca, Melzer solüsyonu ise H₂O-1 ve H₂O-2 ile istatistiksel olarak çok önemli olmayacak şekilde farklı olmuştur. KOH dışındaki solüsyonlar, birbirinden farklı olmadığı için bunlardan herhangi birisi ölçümlerde kullanılabilir.

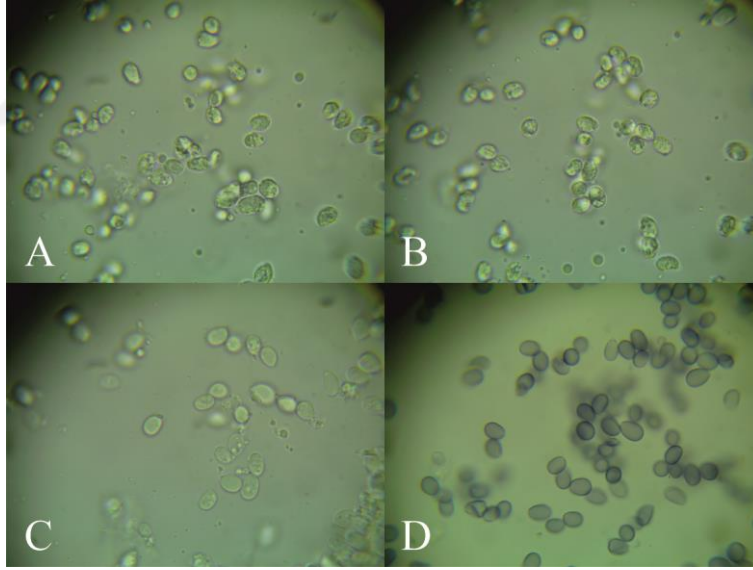
4.4.2. *A. echinocephala* İçin Spor Genişliği (W) Ölçümleri

A. echinocephala türünde spor genişliğinde de KOH solüsyonu, diğer solüsyonlardan istatistiksel olarak önemli derece farklı bulunmuştur. H₂O-1 ve Melzer solüsyonları arasında istatistiksel olarak fark tespit edilmemiştir. Ayrıca, H₂O-2 solüsyonu ise H₂O-1 ve Melzerden düşük oranda farklı olmuştur. KOH dışındaki solüsyonlar birbirinden farklı olduğundan dolayı bunlardan bir tanesinin

ölçüm için kullanabileceği önerilmektedir.

4.4.3. *A. echinocephala* İçin Q Değeri (Uzunluk/Genişlik) Ölçümleri

A. echinocephala türünde Q değeri için solüsyonların arasındaki etkileşime baktığımız zaman, az önemli derecede fark gözlemlenmiştir. Uzunluklar ve genişlikler aynı oranda artış ya da azalış gösterdiği için oranlar arasında çok fazla istatistiksel olarak fark bulunmamıştır. **Şekil 4.2**'de H₂O-1 (A) ve H₂O-2 (B) solüsyonlarının sporun iç yapısına etki etmediği ve KOH (C) solüsyonunun ise sporun iç yapısına etki ederek spor boyutunu artırdığı görülmektedir. Melzer (D) solüsyonunda ise sporda renk değişiminin yanı sıra sınırlarının daha belirgin ortaya çıktığı ve iç yapısındaki değişimin fark edilebildiği görülmektedir. İstatistiksel sonuçlar, **Şekil 4.2**'deki görünümle birbirlerini desteklemektedir.



Şekil 4.2. *A. echinocephala*'da solüsyonlardaki spor boyutları (A: H₂O-1, B: H₂O-2, C: KOH, D: MLZ)

4.5. A. ovoidea İçin Spor İncelemeleri**4.5.1. A. ovoidea İçin Spor Uzunluğu (L) Ölçümleri**

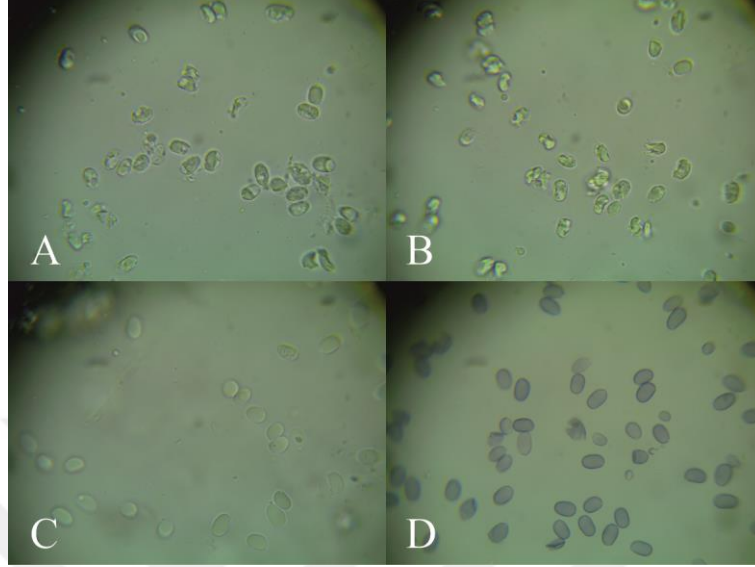
A. ovoidea türünde spor uzunluğunda, KOH ve H₂O-1 solüsyonları arasında istatistiksel olarak fark bulunamamıştır. Bu iki solüsyon, H₂O-2 ve Melzer solüsyonları arasında az önemli derecede istatistiksel olarak fark gözlemlenmiştir.

4.5.2. A. ovoidea İçin Spor Genişliği (W) Ölçümleri

A. ovoidea türünde spor genişliği açısından H₂O-1 ve Melzer solüsyonları arasında, istatistiksel olarak önemli derecede fark kaydedilmiştir. Melzer dışındaki solüsyonlar birbirleri arasında, istatistiksel olarak az önemli derecede farklılık göstermiştir. Bu üç solüsyondan biri ile mikroskopik ölçümleri yaptığımızda, benzer sonuçlar elde edilebilir. Melzer solüsyonu ise, H₂O-1 dışındaki solüsyonlarla az önemli derecede farklılık göstermiştir.

4.5.3. A. ovoidea İçin Q Değeri (Uzunluk/Genişlik) Ölçümleri

A. ovoidea türünde Q değerinde solüsyonların arasındaki etkileşime baktığımızda, oranlar arasında fark kaydedilememiştir. Spor uzunlukları ve genişlikleri aynı oranda artış ya da azalış gösterdiği için oranlar arasında istatistiksel olarak fark gözlemlenmemiştir. **Şekil 4.3.**'de H₂O-1 (A) ve H₂O-2 (B) solüsyonlarının sporun iç yapısına etki etmediği ve aralarında fark olmadığı görülmektedir. KOH (C) solüsyonunun sporun iç yapısına olan etkisi ve boyutunun H₂O-1 (A) ve H₂O-2 (B) solüsyonları ile aynı olduğu görülmektedir. Melzer (D) solüsyonunda ise sporda renk değişiminin yanı sıra sınırlarının daha belirgin ortaya çıktığı ve iç yapısındaki değişim fark edilebilir. Boyut olarak ise diğerlerinden biraz daha küçük görünmektedir. İstatistiksel sonuçlar **ve Şekil 4.3**'deki görüntüler birbirlerini doğrulamaktadır.



Şekil 4.3. *A. ovoidea*'da solüsyonlardaki spor boyutları
(A: H₂O-1, B: H₂O-2, C: KOH, D: MLZ)

4.6. *A. phalloides* İçin Spor İncelemeleri

4.6.1. *A. phalloides* İçin Spor Uzunluğu (L) Ölçümleri

A. phalloides için spor uzunluğu açısından, kullanılan solüsyonlar arasında istatistiksel olarak fark bulunamamıştır.

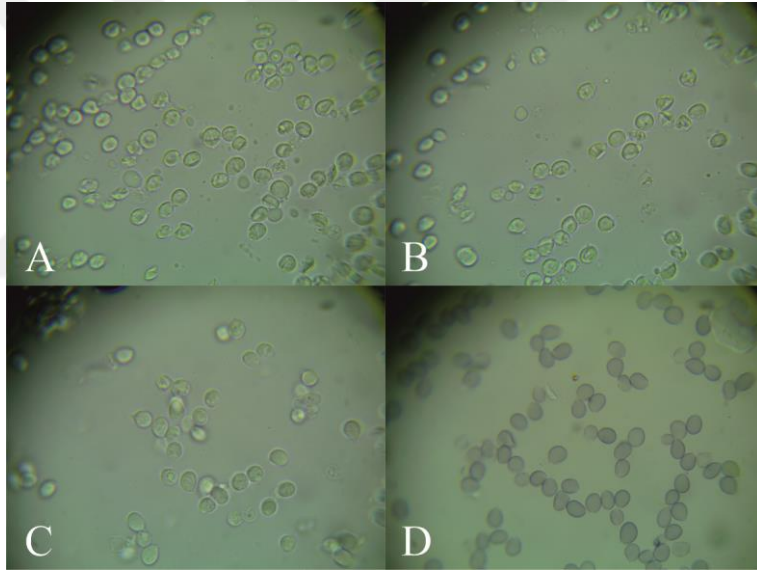
4.6.2. *A. phalloides* İçin Spor Genişliği (W) Ölçümleri

A. phalloides için spor genişliği açısından, Melzer dışındaki diğer solüsyonlar arasında istatistiksel olarak fark tespit edilmemiştir. Melzer ise diğer solüsyonlara göre daha düşük sonuçlar vermiştir. Bu sonuçlara göre, Melzer ile diğer üç solüsyonlardan bir tanesi mikroskobik ölçümler için yeterli olacaktır.

4.6.3. *A. phalloides* İçin Q Değeri (Uzunluk/Genişlik) Ölçümleri

A. phalloides için Q değeri açısından solüsyonların arasındaki etkileşime baktığımızda, Melzer dışında kalanlar arasında fark kaydedilmemiştir. Spor

uzunlukları ve genişlikleri aynı oranda artış ya da azalış gösterdiği için H₂O-1, H₂O-2 ve KOH arasında istatistiksel olarak fark gözlemlenmemiştir. **Şekil 4.4**, H₂O-1 (A) ve H₂O-2 (B) solüsyonlarının sporun iç yapısına etki etmediğini ve aralarında fark olmadığını göstermektedir. KOH (C) solüsyonunun sporun iç yapısına olan etkisi ve boyutu H₂O-1 (A) ve H₂O-2 (B) solüsyonları ile aynı görünmektedir. Melzer (D) solüsyonunda ise sporda renk değişiminin yanında sınırlarının daha belirgin ortaya çıktığı ve iç yapısındaki değişim fark edilebilir. Boyut olarak ise diğerlerinden biraz daha büyük görünmektedir. Yani, istatistiksel sonuçlar ve **Şekil 4.4** birbirini doğrulamaktadır.



Şekil 4.4. *A. phalloides*'de solüsyonlardaki spor boyutları
(A: H₂O-1, B: H₂O-2, C: KOH, D: MLZ)

4.7. *A. citrina* İçin Spor İncelemeleri

4.7.1. *A. citrina* İçin Spor Uzunluğu (L) Ölçümleri

A. citrina için spor uzunluğu açısından, Melzer solüsyonu ve diğer solüsyonlar arasındaki istatistiksel farklar önemli bulunmuştur. KOH, H₂O-1 ve H₂O-2 solüsyonları arasında, istatistiksel olarak fark tespit edilememiştir. Melzer

solüsyonunda, diğerlerine göre biraz daha düşük spor uzunluğu ölçümleri elde edilmiştir.

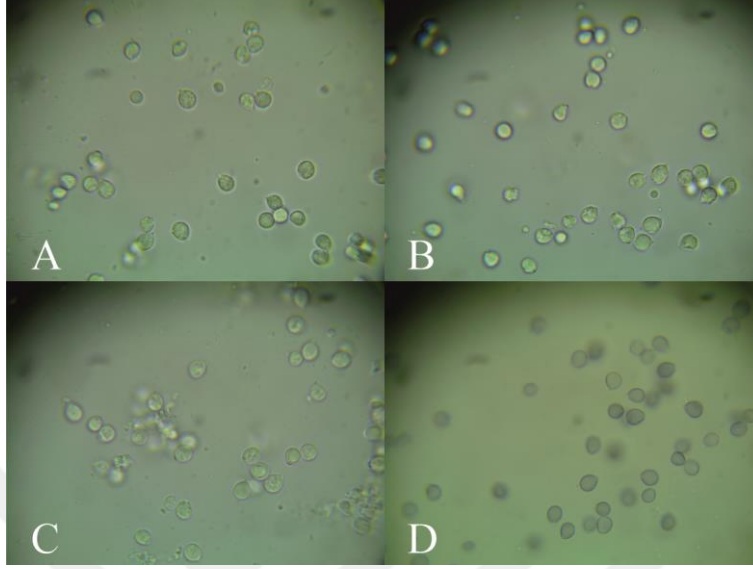
4.7.2. *A. citrina* İçin Spor Genişliği (W) Ölçümleri

A. citrina için spor genişliği açısından, KOH solüsyonu ile H₂O-1 ve Melzer arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Ayrıca, H₂O-2 solüsyonu ile fark ise az önemli olmuştur. Melzer solüsyonu ile H₂O-2 arasındaki fark, önemli bulunmuştur. Yani, ölçüm yapılırken H₂O-1 ve H₂O-2'dan birisi kullanıldığında sonuçlar değişmeyecektir.

4.7.3. *A. citrina* İçin Q Değeri (Uzunluk/Genişlik) Ölçümleri

A. citrina için Q değerinde, KOH ve diğer solüsyonlar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. KOH solüsyonunda, sporlar biraz daha küçüktür.

Şekil 4.5'de H₂O-1 (A) ve H₂O-2 (B) solüsyonlarının sporun iç yapısına etki etmediği ve aralarında fark olmadığı görülmektedir. KOH (C) solüsyonunda ise spor iç yapısı H₂O-1 (A) ve H₂O-2 (B) solüsyonları ile aynıdır. Melzer (D) solüsyonunda ise sporda renk değişiminin yanında sınırlarının daha belirgin ortaya çıktığı ve iç yapısındaki değişim fark edilmektedir. Boyut olarak ise, C solüsyonunda diğerlerinden biraz daha küçüktür. İstatistiksel sonuçlar ve Şekil 4.5 birbirini doğrular görünmektedir.



Şekil 4.5. *A. citrina*'da solüsyonlardaki spor boyutları
(A: H₂O-1, B: H₂O-2, C: KOH, D: MLZ)

4.8. *A. muscaria* İçin Spor İncelemeleri

4.8.1. *A. muscaria* İçin Spor Uzunluğu (L) Ölçümleri

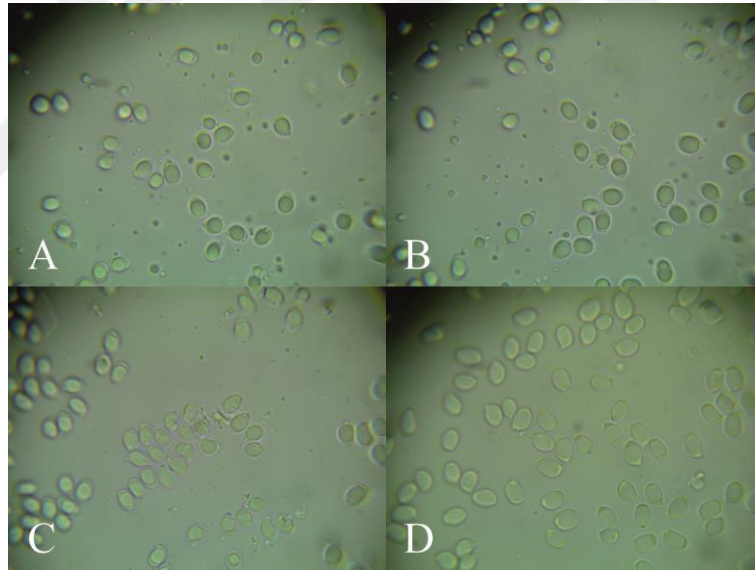
A. muscaria türü için spor uzunluğunda, Melzer solüsyonu ile diğer solüsyonlar arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark bulunmuştur. H₂O-1 ve H₂O-2 solüsyonları arasında fark tespit edilemezken, KOH ile az önemli derecede fark gözlemlenmiştir. Melzer solüsyonu, spor uzunluğunda en yüksek ölçüme sahip olmuştur.

4.8.2. *A. muscaria* İçin Spor Genişliği (W) Ölçümleri

A. muscaria türü için spor genişliğinde, Melzer solüsyonu ile diğer solüsyonlar arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark tespit edilmiştir. KOH ve H₂O-2 solüsyonları arasında fark gözlemlenmezken, H₂O-1 ile az önemli derecede fark kaydedilmiştir. Melzer solüsyonu, genişlik olarak en yüksek ölçüme sahip olmuştur.

4.8.3. *A. muscaria* İçin Q Değeri (Uzunluk/Genişlik) Ölçümleri

A. muscaria türünün Q değerinde solüsyonların arasındaki etkileşime baktığımızda, solüsyonlar arasında fark tespit edilememiştir. Spor uzunlukları ve genişlikleri aynı oranda artış ya da azalış gösterdiği için istatistiksel olarak Q değerinde de fark gözlemlenmemiştir. **Şekil 4.6'**da bu türde tüm sporların iç yapısının kaybolduğu görülmektedir. Ayrıca, H₂O-1 (A), H₂O-2 (B) ve KOH (C) solüsyonlarında ise sporun dış yapısı (zar, membran) ortaya çıkmıştır. Melzer (D) solüsyonunda ise sporun dış yapısı keskin ve iç yapısında renk değişimi olduğu görülmektedir. H₂O-1 (A), H₂O-2 (B) ve KOH (C) solüsyonları, aynı boyutlarda ve benzere iken, Melzer (D) solüsyonu ölçü olarak biraz daha büyük olmuştur. İstatistiksel sonuçlar, **Şekil 4.6'**yı doğrulamaktadır.



Şekil 4.6. *A. muscaria*'da solüsyonlardaki spor boyutları
(A: H₂O-1, B: H₂O-2, C: KOH, D: MLZ)

4.9. A. caesarea İçin Spor İncelemeleri**4.9.1. A. caesarea İçin Spor Uzunluğu (L) Ölçümleri**

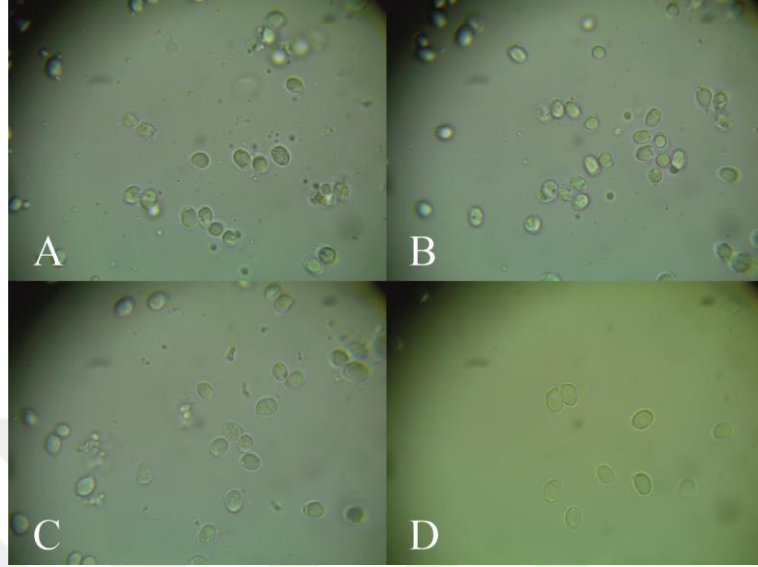
A. caesarea türü için spor uzunluğunda, Melzer ve diğer solüsyonlar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Diğer üç solüsyon açısından ise; H₂O -1 ve KOH birbirine benzer iken, H₂O -2 solüsyonu az da olsa farklılık göstermiştir. Melzer dışındaki solüsyonlar, istatistiksel olarak az önemli derecede farklılık göstermiştir.

4.9.2. A. caesarea İçin Spor Genişliği (W) Ölçümleri

A. caesarea türü için spor genişliğinde, Melzer solüsyonu ile KOH arasında az önemli derecede farklılık gözlemlenirken, H₂O-1 ve H₂O-2 solüsyonları ile önemli derecede istatistiksel olarak farklılık bulunmuştur. Melzer solüsyonu, istatistiksel olarak en geniş ölçüme sahip olmuştur.

4.9.3. A. caesarea İçin Q Değeri (Uzunluk/Genişlik) Ölçümleri

A. caesarea türünün Q değerinde, Melzer solüsyonu H₂O-1 ile az önemli derecede farklılık gösterirken, KOH ve H₂O-2 solüsyonları ile önemli derecede istatistiksel olarak farklılık sunmuştur. H₂O-1 solüsyonu, en geniş ölçüme sahip olmuştur. **Şekil 4.7**'de Melzer (D) solüsyonunun, renk ve boyut açısından H₂O-1 (A), H₂O-2 (B) ve KOH (C) solüsyonlarından farklı olduğu görülmektedir. H₂O-1 (A) ve H₂O-2 (B) solüsyonları ile ölçüm yapılan sporların, iç yapısı bazılarında kaybolurken bazılarında ön plana çıkmıştır. KOH (C) solüsyonu da iç yapısı açısından A ve B solüsyonuna benzerlik göstermiştir. İstatistiksel sonuçların, **Şekil 4.7**'yi doğrular nitelikte olduğu görülebilmektedir.



Şekil 4.7. *A. caesarea*'da solüsyonlardaki spor boyutları
(A: H₂O-1, B: H₂O-2, C: KOH, D: MLZ)

4.10. *A. huijsmanii* İçin Spor İncelemeleri

4.10.1. *A. huijsmanii* İçin Spor Uzunluğu (L) Ölçümleri

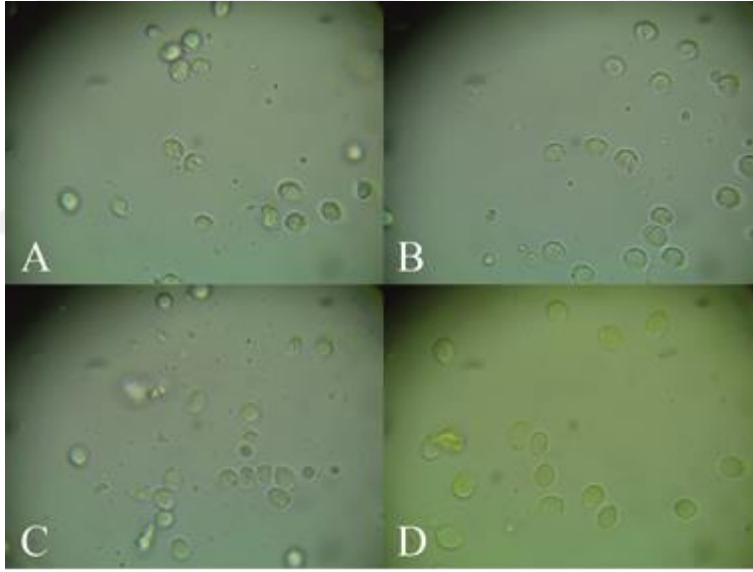
A. huijsmanii türü için spor uzunluğunda, Melzer ile diğer solüsyonlar arasındaki fark, istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Ayrıca, H₂O-1 az önemli derecede KOH ve H₂O-2'den farklılık göstermiş ve ölçüm olarak en küçük değerleri sunmuştur. Melzer ise ölçüm olarak en yüksek değere sahip olmuştur.

4.10.2. *A. huijsmanii* İçin Spor Genişliği (W) Ölçümleri

A. huijsmanii türü için spor genişliğinde, Melzer solüsyonu ile H₂O-1 arasında önemli derecede istatistiksel olarak fark bulunmuştur. Ayrıca, KOH ve H₂O-2 ile ise arasında az önemli farklılık gözlemlenmiştir. Melzer ölçüm olarak en yüksek değere sahip olmuştur.

4.10.3. A. huijsmanii İçin Q Değeri (Uzunluk/Genişlik) Ölçümleri

A. huijsmanii türünde Q değerinde, solüsyonların arasındaki etkileşime bakıldığında, solüsyonlar arasında fark bulunmamıştır. Spor uzunlukları ve genişlikleri aynı oranda artış ya da azalış gösterdiği için istatistiksel olarak Q değerinde fark tespit edilememiştir. Şekil 4.8, Melzer (D) solüsyonunun renk ve spor iç yapısı olarak diğer solüsyonlardan farklılık göstermediğini sunmaktadır. H₂O-1 (A), H₂O-2 (B) ve KOH (C) solüsyonlarında da, iç yapıdaki kaybolmalar ve çevresinde görünmez yapıların ortaya çıkması nedeniyle fark tespit edilememiştir. Melzer (D) solüsyonu, spor boyutu açısından diğerlerinden daha büyük olmuştur. İstatistiksel sonuçlar, Şekil 4.8'i doğrular niteliktedir.



Şekil 4.8. A. huijsmanii'de solüsyonlardaki spor boyutları
(A: H₂O-1, B: H₂O-2, C: KOH, D: MLZ)

4.11. A. submembranacea İçin Spor İncelemeleri**4.11.1. A. submembranacea İçin Spor Uzunluğu (L) Ölçümleri**

A. submembranacea türü için spor uzunluğunda, Melzer solüsyonu H₂O-1 ve H₂O-2 arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. KOH ile olan

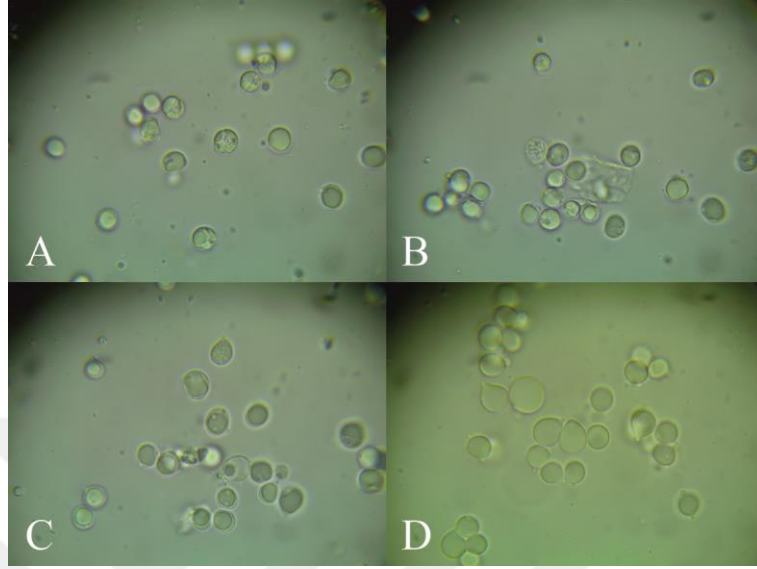
fark ise az önemli olarak gözlemlenmiştir. KOH ise H₂O-2 ile arasında önemli derecede istatistiksel olarak fark kaydedilmiştir. H₂O-1 (A), H₂O-2 (B) aralarındaki fark az önemli derecede olmuştur.

4.11.2. A. *submembranacea* İçin Spor Genişliği (W) Ölçümleri

A. *submembranacea* türü için spor genişliğinde, Melzer solüsyonu ile diğer solüsyonlar arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark gözlemlenmiştir. KOH ile H₂O-2 arasında da istatistiksel olarak önemli derecede fark kaydedilmiştir. H₂O-1 ve H₂O-2 aralarında ise az önemli derecede fark bulunmuştur.

4.11.3. A. *submembranacea* İçin Q Değeri (Uzunluk/Genişlik) Ölçümleri

A. *submembranacea* türü için Q değeri açısından solüsyonların arasındaki etkileşime bakıldığında, solüsyonlar arasında fark tespit edilememiştir. Spor uzunlukları ve genişlikleri aynı oranda artış ya da azalış gösterdiği için istatistiksel olarak Q değerinde fark bulunamamıştır. **Şekil 4.9**, Melzer solüsyonu ile diğer solüsyonlar arasında renk ve spor iç yapısı bakımından farklılık olamadığını göstermektedir. Boyut bakımından en yüksek ölçüm, Melzer (D) solüsyonundan elde edilmiştir. H₂O-1 (A), H₂O-2 (B) ve KOH (C) solüsyonlardaki ölçümler gerek iç yapı gerekse boyut bakımından birbirlerine yakın olmuşlardır. İstatistiksel sonuçlar, **Şekil 4.9**'u doğrular niteliktedir.



Şekil 4.9. *A. submembranacea*'da solüsyonlardaki spor boyutları
(A: H₂O-1, B: H₂O-2, C: KOH, D: MLZ)

Mantarlarda mikroskobik çalışmalar üzerine yapılan yayınlarda spor boyutları mutlaka ölçülerek verilmektedir. Ancak, spor ölçümlerinde kullanılan solüsyonların etkisi cins düzeyinde çok ayrıntılı olarak çalışılmamıştır. Bu nedenle, bu konuda yapılan çalışmalar yok denecek kadar sınırlıdır. **Oda ve ark (1999)** tarafından, 36 adet Japon *Amanita* türlerinin moleküler filogenisi ITS gen bölgesinin kullanımı ile araştırılmıştır. Elde edilen filogenetik ağaç, bazidyosporların Melzer solüsyonu ile reaksiyon verip vermemesine göre, *Amanita* ve *Lepidella* olarak iki alt cinse ayrılan *Amanita* cinsinin bölünmesinde, morfolojik karakterlere dayalı Bas (1969) ve Singer (1986)'in klasik sınıflandırma sistemini desteklemiştir. Ancak, seksiyon düzeyinde, altcins *Amanita*'nın 3 seksiyona (*Amanita*, *Caesarea* ve *Vaginatae*) bölünmesi gerekliliği tavsiye edilmiştir. Ayrıca sunulan çalışmanın sonuçları, altcins *Lepidella*'da seksiyon düzeyinde taksonomik değerlendirmelerin modifiye edilmesi gerekliliğini göstermiştir. Çalışma ile, *A. hemipapha*'nın 3 alt türü ve *A. vaginata*'nın 3 varyetesinin taksonomik durumlarının alt tür/varyete'den türe çıkarılmasının gerektiği ve yeni bir

kombinasyon, *A. javanica*, *A. hemibapha* subsp. *javanica* olarak önerilmiştir. Yine morfoloksonomik yöntemlerin moleküler datalarla birleştirildiği bir çalışmada, **Tang ve ark (2015)** tropikal Afrika'dan *Amanita* sect. *Vaginatae* s.l.'in 10 türünün filogenetik ilişkilerini ortaya çıkarmıştır. Çalışma sonucunda, beş tür hem annulus hem de klamp varlığıyla *Caesareae*, bir tür ne annulus ne de klamp olmadığı için *Vaginatae* s.s., kalan dört taksonda ise annulus bulunmuş, ancak klamp bağlantısı gözlemlenmiş ve ilginç bir şekilde güçlü bir istatistiksel destekle *Vaginatae* s.s. içerisinde yer almıştır. Sonuç olarak, *Vaginatae* s.s. seksiyonunun annuluslu tropikal türleri içermesi nedeniyle modifiye edilmesi gerektiği belirtilmiştir. Ayrıca, *A. madagascariensis* yeni bir tür olarak tanımlanmış ve *A. tanzanica*, *A. mafingensis*'in sinonimi olarak düzeltilmiştir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sunulan bu çalışmada, Türkiye ve Bulgaristan arasında yürütülen ve TÜBİTAK tarafından desteklenen *Amanita* cinsinin Türkiye ve Bulgaristan'da dağılımına morfoloksonomik ve moleküler yöntemlerin kullanımı ile katkı sunmak amacıyla yürütülen ikili işbirliği projesi kapsamında, farklı altcins ve seksiyonlarda yer alan sekiz *Amanita* türü morfoloksonomik ve ITS bölgesi DNA dizi analizlerine dayalı moleküler yöntemlerle tanımlanmış ve sonrasında spor ölçümlerini hedef alan ayrıntılı analizler gerçekleştirilmiştir. Bu analizlerde, spor uzunluğu, genişliği ve Q değeri, 2 ayrı altcins ve tür düzeyinde, dört farklı solüsyonun kullanımı ile değerlendirilmiştir. İstatistiksel analizlerde inetarksiyonlarda göz önünde bulundurulmuştur.

Veriler incelendiğinde, kullanılan solüsyonlar altcins ve tür bazında istatistiksel olarak farklılıklar ve benzerlikler göstermişlerdir. *Amanita* ve *Lepidella* altcinslerinde, Melzer solüsyonu farklı etkiler göstermiş, *Lepidella* altcinsinde *Amanita*'ya göre daha düşük ölçümler elde edilmiştir. Bunun nedeni, çevresindeki membranın (zar) yapısının sınırının belirgenliğini azaltıp, spor sınırını keskinleştirmek olarak düşünülmüştür. Ayrıca, sporun içyapısının solüsyon nedeniyle boşalması sonucu ölçüm değişikliğine sebep olma şeklinde de bir fikir oluşmuştur. Bu durumun tersi ise *Amanita* altcinsi için düşünülmüştür. Yani, Melzer solüsyonu, spor içindeki yapıları ortaya çıkararak daha geniş görünmesine sebep olmuş olabilir. Tüm bu nedenlerle, iki cins arasında istatistiksel farklılıklar ortaya çıkmış olabilir. Melzer solüsyonunun, *Agaricales* için oldukça önemli olması nedeniyle, boyalar ve reaktifler arasında ayırım yapmak zor olmaktadır. Diğer solüsyonlardan farklı olarak, Melzerde kimyasal dönüşümlerden ziyade emilim yoluyla gerçekleşir (Singer, 1986). Melzer, *Amanita* sporlarının spor duvarlarındaki olası amiloid reaksiyonunu test etmek için inceleme ortamı olarak bilinmektedir (Baral, 1987).

Spor uzunluğu ölçümlerinde, en yüksek değer (12.21 μm) *A. huijsmanii*

(*Vaginatae*) Melzer solüsyonunda, en düşük değer ise (8.65 μm) *A. citrina* (*Validae*) türünde yine Melzer solüsyonunda gözlemlenmiştir. Spor uzunluğunda Melzer solüsyonu etkisi tür bazında da görülmektedir. Spor genişliğinde ölçülen en yüksek değer (11.35 μm) *A. submembranacea* (*Vaginatae*)’de Melzer solüsyonunda, en düşük değer (6.89 μm) *A. ovoidea* (*Roanokenses*)’de yine Melzer solüsyonunda olduğu tespit edilmiştir. Spor genişliğinde de Melzer solüsyonu etkisi tür bazında da görülmektedir. En yüksek Q değeri, (1.47) *A. ovoidea* (*Roanokenses*)’den elde edilmiştir. Bunu, sırasıyla 1.40 ile *A. muscaria* (*Amanita*), 1.34 ile *A. echinocephala* (*Lepidella*), 1.29 ile *A. caesarea* (*Caesareae*) takip etmiştir. Melzer solüsyonu, istatistiksel olarak az da olsa farklılık göstermiştir. Spor uzunluk ve genişliğinin aynı oranlarda artması veya azalması nedeniyle, Q oranı değişmemiştir. Bu yüzden solüsyonlar arasındaki fark düşük oranda önemli bulunmuştur.

A. echinocephala (*Lepidella*) 1.34 ile elipsoid, *A. ovoidea* (*Roanokenses*) 1.47 ile elipsoid, *A. phalloides* (*Phalloidae*) 1.25 ile geniş elipsoid, *A. citrina* (*Validae*) 1.17 ile geniş elipsoid, *A. muscaria* (*Amanita*) 1.40 ile elipsoid, *A. caesarea* (*Caesareae*) 1.29 ile geniş elipsoid, *A. huijsmanii* (*Vaginatae*) 1.25 ile geniş ellipsoid ve *A. submembranacea* (*Vaginatae*) 1.05 küre şekilli olarak değerlendirilmiştir.

Lepidella altcinsinde yer alan *A. echinocephala*, *A. ovoidea*, *A. phalloides* ve *A. citrina* türleri, genel sonuçlara göre *Lepidella* ile farklılık göstermişlerdir. *Lepidella* altcinsi 1.31 ile elipsoid iken, tür bazında geniş elipsoid olarakta görünmektedirler. *Amanita* altcinsinde yer alan *A. muscaria*, *A. caesarea*, *A. huijsmanii* ve *A. submembranacea* türleri de genel sonuçlara göre *Amanita* ile farklılık göstermişlerdir. *Amanita* altcinsi 1.25 ile geniş elipsoid şeklinde iken, tür bazında elipsoid ve küre olarakta görülmüşlerdir. **Vesterholt (2008)**’e göre altcins bazında *Amanita* ve *Lepidella* altcinsleri geniş elipsoid bulunmuştur. Tür bazında ise: *A. muscaria* geniş elipsoid ve ellipsoid, *A. submembranacea* küresel, *A. phalloides* ise küresel ve *A. citrina* geniş ellipsoid olmuştur.

Solüsyonlar arasında ise farklılıklar ve benzerlikler tespit edilmiştir. Melzer solüsyonu, genel olarak alıcins ve tür bazında olumlu etkiler göstermiştir. Sekiz türün tamamında Melzer solüsyonunda renk değişimi olmuştur.

Gelecekte yapılacak olan çalışmalarda solüsyon ve tür sayısı artırılabilir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar ışığında, istatistiksel olarak birbirine benzer olan ölçümlerde solüsyonlardan sadece bir tanesi kullanılabilir. Ancak bu durum, öncelikle aynı türün farklı lokasyonlardaki durumlarına da bakılarak teyit edilmelidir.

Sunulan bu çalışma, devam eden bir projenin küçük bir kısmıdır. Proje tamamlandığında, *Amanita* cinsi mantar türlerinin Türkiye ve Balkan'lardaki dağılımı morfoloksonomik ve moleküler yöntemlerle ortaya çıkarılacaktır. Çalışma sonucunda, hem Türkiye hem de proje ortağı Bulgaristan için hem yeni kayıt hem de yeni türlerin ortaya çıkacağı düşüncesindeyiz. Ayrıca, bu çalışmada da olduğu gibi, morfoloksonomik tanımlama kriterlerine yardımcı olabilecek kriterlerde elde edilmeye çalışılacaktır. Mantar toplayıcılığı ve türlerini bilmeye olan merak hem dünyada hem Türkiye'de son zamanlarda artış göstermektedir. Hatta, bu durum bir turizm kolu haline gelmiş durumdadır. Ulusal veya uluslar arası ormanda mantar arama, uzmanlar tarafından türlerin tanıtımı ve gastronomik olarak bu mantarların değerlendirilmesi şeklinde etkinlikler artmaktadır. Hobi amaçlı toplayıcılar için moleküler analiz yapma imkanı olmadığı için, morfoloksonomik teşhis anahtarlarının geliştirilmesi büyük önem taşımaktadır. Bu çalışmada, hem bilimsel hem de pratikte kullanım amaçlarına hizmet etmek hedefleriyle planlanmıştır.



KAYNAKLAR

- Anonim, 2020. <http://www.amanitaceae.org>, 05.12.2020.
- Baral, H. O., 1987. Lugol's solution/IKI versus Melzer's reagent: hemiamyloidity, a universal feature of the ascus wall. *Mycotaxon*, 29:399-450.
- Bas, C., 1969. Morphology and subdivision of *Amanita* and a monograph of its section *Lepidella*. *Persoonia*, 5(4): 285-573.
- Berch, S.M., Kroeger, P., and Finston, T., 2017. The death cap mushroom (*Amanita phalloides*) moves to a native tree in Victoria, British Columbia. *Botany*, 95: 435-440. doi: 10.1139/cjb-2016-0183
- Bojantchev, D., Pennycook, S. R., and Davis, R. M., 2011. *Amanita vernicoccora* sp. nov.—the vernal fruiting 'coccora' from California. *Mycotaxon*, 117(1): 485-497.
- Borovička, J., Konvalinková, T., Žigová, A., Ďurišová, J., Gryndler, M., Hršelová, H., Kameník, J., Leonhardt, T., and Sácký, J., 2019. Disentangling the factors of contrasting silver and copper accumulation in sporocarps of the ectomycorrhizal fungus *Amanita strobiliformis* from two sites. *Sci. Total Environ.*, 694: 133679. doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.133679
- Bozok, 2016. Türkiye'nin Bazı Bölgelerinde Yayılış Gösteren *Boletus* Cinsi Makromantarların Morfolojik ve Moleküler Karakterizasyonu. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Cai, Q., Tulloss, R. E., Tang, L. P., Tolgor, B., Zhang, P., Chen, Z. H., and Yang, Z. L., 2014. Multi-locus phylogeny of lethal amanitas: implications for species diversity and historical biogeography. *BMC Evol. Biol.*, 14: 143-158.
- Cho, H. J., Park, M. S., Lee, H., Oh, S. Y., Jang, Y., Fong, J. J., and Lim, Y. W. 2015. Four new species of *Amanita* in Inje county, Korea. *Mycobiology*, 43(4): 408-414.

- Deng, W. Q., Li, T. H., Li, P., and Yang, Z. L., 2014. A new species of *Amanita* section *Lepidella* from South China. *Mycological Progress*, 13(2): 211-217.
- Drehmel, D., Moncalvo, J. M., and Vilgalys, R., 1999. Molecular phylogeny of *Amanita* based on large-subunit ribosomal DNA sequences: implications for taxonomy and character evolution. *Mycologia*, 91: 610-618.
- Endo, N., Fangfuk, W., Sakuma, D., Phosri, C., Matsushita, N., Fukuda, M., and Yamada, A., 2016. Taxonomic consideration of the Japanese red-cap Caesar's mushroom based on morphological and phylogenetic analyses. *Mycoscience*, 57(3): 200-207.
- Endo, N., Fangfuk, W., Kodaira, M., Sakuma, D., Hadano, E., Hadano, A., Murakami, Y., Phosri, C., Matsushita, N., Fukuda, A., and Yamada, A., 2017. Reevaluation of Japanese *Amanita* section *Caesareae* species with yellow and brown pileus with descriptions of *Amanita kitamagotake* and *A. chatamagotake* spp. nov. *Mycoscience*, 58(6):, 457-471.
- Gardes, M., and Bruns, T. D., 1993. ITS primers with enhanced specificity for Basidiomycetes-applications to the identification of mycorrhizae and rusts. *Mol. Ecol.*, 2: 113-118.
- Geml, C., Laursen, G. A., O'Neill, K., Nusbaum, H. C., and Taylor, D. L., 2006. Beringian origins and cryptic speciation events in the fly agaric (*Amanita muscaria*). *Mol. Ecol.*, 15(1): 225-39. doi: 10.1111/j.1365-294X.2005.02799.x
- Gonzalez, V., Arenal, F., Platas, G., Esteve-Raventós, F., and Peláez, F., 2002. Molecular typing of Spanish species of *Amanita* by restriction analysis of the ITS region of the DNA. *Mycological Research*, 106(8): 903-910.
- Gonou-Zagou, Z., and Delivorias, P., 2011. Two rare white forms of common *Amanita* species. *Field Mycology*, 12(1), 9.
- Graham, S. O., 1959. The effects of various reagents, mounting media, and dyes on the teliospore walls of *Tilletia contraversa* Kühn. *Mycologia*, 51(4): 477-

491.

- Hanss J. M., and Moreau, P. A., 2017. Une Révision des Amanites Vaginées (*Amanita* sect. *Vaginatae*) en Europe. 1re partie: quelques amanites argentées. Bull. Soc. Mycol. Fr., 133(1-2): 67-141.
- Justo, A., Morgenstern, I., Hallen-Adams, H. E., and Hibbett, D. S., 2010. Convergent evolution of sequestrate forms in *Amanita* under Mediterranean climate conditions. Mycologia, 102(3): 675-688.
- Kim, C. S., Jo, J. W., Kwag, Y. N., Kim, J. H., Shrestha, B., Sung, G. H., and Han, S. K., 2013a. Taxonomic study of *Amanita* subgenus *Lepidella* and three unrecorded *Amanita* species in Korea. Mycobiology, 41(4): 183-190.
- Kim, C. S., Jo, J. W., Kwag, Y. N., Oh, J., Shrestha, B., Sung, G. H., and Han, S. K. 2013b. Four newly recorded *Amanita* species in Korea: *Amanita* sect. *Amanita* and sect. *Vaginatae*. Mycobiology, 41(3): 131-138.
- Kornerup, A., and Wanscher, J. H., 1978. Methuen handbook of colour (3rd ed.). London: Eyre Methuen.
- Loizides, M., Bellanger, J. M., Yiangou, Y., and Moreau, P. A., 2018. Preliminary phylogenetic investigations into the genus *Amanita* (Agaricales) in Cyprus, with a review of previous records and poisoning incidents. Documents Mycologiques, tome XXXVII: 201-218.
- Mehmood, T., Raspé, O., Bhatt, R. P., and Singh, U., 2018. First record of *Amanita subparvipantherina* (Amanitaceae) from India. Curr. Res. Environ. Appl. Mycol., 8(1): 109-117.
- Menolli, N., Asai, T., and Capelari, M., 2009. *Amanita coacta* (Amanitaceae, Agaricales) with a key to *Amanita* species occurring in Brazil. Mycotaxon, 107(1): 419-430.
- Moncalvo, J. M., Drehmel, D., and Vilgalys, R., 2000. Variation in modes and rates of evolution in nuclear and mitochondrial ribosomal DNA in the mushroom genus *Amanita* (Agaricales, Basidiomycota): phylogenetic

- implications. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 16(1): 48-63.
- Moreno, G., Platas, G., Peláez, F., Bernedo, M., Vargas, A., Daza, A., Santamaría, C., Camacho, M., de la Osa, L.M., and Manjón, J.L., 2008. Molecular phylogenetic analysis shows that *Amanita ponderosa* and *A. curtipes* are distinct species. *Mycological Progress*, 7(1): 41-47.
- Nara, K., 2006. Ectomycorrhizal networks and seedling establishment during early primary succession. *New Phytologist*, 169(1): 169-178.
- Neville, P., and Poumarat, S., 2004. Amaniteae. *Fungi Europaei*. Vol. 9. Alassio: Candusso.
- Oda, T., Tanaka, C., and Tsuda, M., 1999. Molecular phylogeny of Japanese *Amanita* species based on nucleotide sequences of the internal transcribed spacer region of nuclear ribosomal DNA. *Mycoscience*, 40: 57-64.
- Oda, T., Yamazaki, T., Tanaka, C., Terashita, T., Taniguchi, N., and Tsuda, M., 2002. *Amanita ibotengutake* sp. nov., a poisonous fungus from Japan. *Mycol. Progress.*, 1: 355-365. <https://doi.org/10.1007/s11557-006-0032-9>
- Redhead, S. A., Vizzini, A., Drehmel, D. C., and Contu, M., 2016. *Saproamanita*, a new name for both *Lepidella* E.-J. Gilbert and *Aspidella* E.-J. Gilbert (Amaniteae, Amanitaceae). *IMA Fungus*, 7(1): 119-129.
- Sambrook, J., and Russell, D., 2001. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3rd edn, Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Semwal, K. C., Tulloss, R. E., Bhatt, R. P., Stephenson, S. L., and Upadhyay, R. C. 2007. New records of *Amanita* section *Amanita* from Garwhal Himalaya, India. *Mycotaxon*, 101: 331-348.
- Tang, L. P., Cai, Q., Lee, S. S., Buyck, B., Zhang, P., and Yang, Z. L., 2015. Taxonomy and phylogenetic position of species of *Amanita* sect. *Vaginatae* s.l. from tropical Africa. *Mycol. Progress*, 14: 1061.
- Thongbai, B., Hyde, K. D., Lumyong, S., and Raspé, O., 2018. High undescribed diversity of *Amanita* section *Vaginatae* in northern Thailand. *Mycosphere*,

9(3): 462-494.

- Thiem, D., Tyburski, J., Gołębiowski, M., and Hryniewicz, K., 2020. Halotolerant fungi stimulate growth and mitigate salt stress in *Alnus glutinosa* Gaertn. *Dendrobiology*, 83: 30-42.
- Truong, C., Sánchez-Ramírez, S., Kuhar, F., Kaplan, Z., and Smith, M. E., 2017. The Gondwanan connection–Southern temperate *Amanita* lineages and the description of the first sequestrate species from the Americas. *Fungal Biology*, 121(8): 638-651.
- Tulloss, R. E., Kuyper, T. W., Vellinga, E. C., Yang, Z. L., Halling, R. E., Geml, J., Sánchez-Ramírez, S., Gonçalves, S. C., Hess, J., and Pringle, A., 2016. The genus *Amanita* should not be split. *Amanitaceae*, 1(3): 1-16.
- Tulloss, R. E., and Yang, Z. L., 2011. Morphological study of *Amanita* (Fungi: Agaricales) - notes on methodology. (R.E. Tulloss, C. Rodriguez-Caycedo editors), *Amanita Workshop-NJMA 2011*, New Jersey: NJMA, pp. 11-27.
- Singer, R., 1986. *Agaricales in modern taxonomy*. Koenigstein: Koeltz Scientific Books, 4.
- Vesterholt, J., 2008. *Amanita*. *Funga Nordica*, 3: 326-333.
- Vizzini, A., Zotti, M., Traverso, M., Ercole, E., Moreau, P. A., Kibby, G., Consiglio, G., Cullington, P., Ardrón, P., Moingeon, J. M., and Peintner, U., 2016. Variability, host range, delimitation and neotypification of *Amanita simulans* (*Amanita* section *Vaginatae*): collections associated with *Helianthemum* grasslands, and epitypification of *A. lividopallescens*. *Phytotaxa*, 280(1): 001-022.
- Vizzini, A., Cingarlini, C., Sartori, D., Maraia, G. L., Setti, L., Poumarat, S., Kudzma, L., and Dovana, F., 2020. Assessing the taxonomic status of *Amanita citrina* var. *intermedia* (Basidiomycota, Agaricales). *Phytotaxa*, 440(1): 55-68.
- Weiß, M., Yang, Z. L., and Oberwinkler, F., 1998. Molecular phylogenetic studies

- in the genus *Amanita*. Can. J. Bot., 76: 1170-1179.
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S., and Taylor, J., 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics (M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, T. J. White editors), PCR protocols: a guide to methods and applications. California: Academic Press, pp. 315-322.
- Yang, Z. L., 1997. Die *Amanita*-Arten von Suedwestchina. Bibl. Mycol., 170: 1-240.
- Zhang, L. F., Yang, J. B., and Yang, Z. L., 2004. Molecular phylogeny of eastern Asian species of *Amanita* (Agaricales, Basidiomycota): taxonomic and biogeographic implications. Fungal Divers., 17: 219-238.
- Zhang, P., Chen, Z. H., Xiao, B., Tolgor, B., Bao, H. Y., and Yang, Z. L., 2010. Lethal amanitas of East Asia characterized by morphological and molecular data. Fungal Divers., 42: 119-133.
- Zhang, P., Tang, L. P., Cai, Q., and Xu, J. P., 2015. A review on the diversity, phylogeography and population genetics of *Amanita* mushrooms. Mycology, 6(2): 86-93.

ÖZGEÇMİŞ

1990 yılında Mersin’de doğdu. İlkokul, ortaokul ve lise öğrenimini Mersin’de tamamladı. 2009 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Orman Fakültesi Orman Mühendisliği Bölümü’nde öğrenimine başladı. 2015 yılında Orman Mühendisi olarak mezun oldu. 2017 yılına kadar özel sektörde çalıştı. 2017 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisansa başladı. Halen devam etmektedir.

