

TC
MUĞLA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

MUĞLA YÖRESİNDE YETİŞEN *GYROMITRA* TÜRLERİ ÜZERİNDE
TAKSONOMİK ÇALIŞMALAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HALİL GÜNGÖR

OCAK 2011
MUĞLA

**T.C.
MUĞLA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**MUĞLA YÖRESİNDE YETİŞEN *GYROMITRA* TÜRLERİ ÜZERİNDE
TAKSONOMİK ÇALIŞMALAR**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HALİL GÜNGÖR

MUĞLA 2011

T.C.
MUGLA ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü

Prof. Dr. Mustafa IŞILOĞLU danışmanlığında Halil GÜNGÖR tarafından hazırlanan “Muğla Yöresinde Yetişen *Gyromitra* Türleri Üzerinde Taksonomik Çalışmalar” başlıklı tez, 18.01.2011 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı’nda yüksek lisans tezi olarak oybirliği ile kabul edilmiştir.

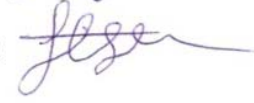
Başkan : Prof. Dr. Hatice GÜNEŞ İmza:



Üye : Prof. Dr. Mustafa IŞILOĞLU İmza:



Üye : Yrd. Doç. Dr. Fatih COŞKUN İmza:



ÖNSÖZ

Ülkemiz makrofungusları üzerindeki çalışmalar hızlı bir şekilde artmaktadır. Bu çalışmaların neredeyse tamamı mantarların morfolojik özellikleri konusunda olup moleküler düzeydeki çalışmalar sadece birkaç tanedir. Hem morfolojik hem de moleküler özelliklerin kullanıldığı bu çalışmanın ülkemiz makrofungusları üzerindeki moleküler sistematik çalışmalar için temel, ön adım olacağı kanısındayım.

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana her türlü desteği veren ve tez danışmanlığımı üstlenen değerli hocam Muğla Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim üyesi Prof. Dr. Mustafa IŞILOĞLU'na; beni makrofungus moleküler sistematigi konusuna yönlendiren Bölüm Başkanımız Prof. Dr. Hatice GÜNEŞ'e; mantarlar konusundaki bilgi ve deneyimi ile sürekli olarak desteğini gördüğüm bölümümüz öğretim üyelerinden Yrd. Doç. Dr. Hakan ALLI'ya ve Ula Meslek Yüksek Okulu Mantarcılık Ana Bilim Dalı Başkanı Doç. Dr. M. Halil Solak'a; moleküler sistematik alanında uzman olan ve moleküler sistematik çalışmalarının yapılması ve sonuçların yorumlanması konusunda benden hiçbir fedakârlığı esirgemeyen Balıkesir Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim üyelerinden Yrd. Doç. Dr. Fatih COŞKUN'a ve Yrd. Doç. Dr. Ekrem DÜNDAR'a teşekkürü bir borç bilirim.

Laboratuar çalışmalarında yardımcı olan arkadaşım Arş. Grv. Hayrunnisa BAŞ SERMENLİ ve İsmail ŞEN'e; arazi çalışmalarım esnasında beni yalnız bırakmayan arkadaşım Altan TOPAL'a; moleküler sistematik çalışmalarında yardımcı olan arkadaşlarım Şakir AKGÜN, Emre SEVİNDİK, Cüneyt TEZ ve Gülsüm GÖREN'e teşekkür ederim.

Hayatım boyunca desteklerini benden bir an olsun esirgemeyen aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yapılan bu çalışma, 10/34 nolu yüksek lisans tez projesi kapsamında Muğla Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi Komisyonu tarafından desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
TEZ ONAY SAYFASI	I
ÖNSÖZ	II
İÇİNDEKİLER	III
ÖZET (Türkçe)	VI
ÖZET (İngilizce)	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ	X
TABLolar DİZİNİ	XI
SEMBOLLER DİZİNİ	XII
1. GİRİŞ	1
1.1 Mantarların Kullanım Alanları	4
2. KAYNAK ÖZETLERİ	8
2.1 Yapılmış Çalışmalar	8
2.2 Mantar Sistematığı	14
2.3 <i>Gyromitra</i> Cinsi	15
2.3.1 Habitat özellikleri ve deskripsiyonu	15
2.3.2 Zehir bileşiği	16
2.3.3 Zehirlenme	19
2.3.4 Sistematığı	19
2.3.5 Türleri	20
2.3.5.1 <i>Gyromitra esculenta</i> (Pers.) Fr	20
2.3.5.2 <i>Gyromitra gigas</i> (Krombh.) Cooke	21
2.3.5.3 <i>Gyromitra infula</i> (Schaeff.) Boud	22
2.3.5.4 <i>Gyromitra ambigua</i> (P. Karst.) Harmaja	22
2.3.5.5 <i>Gyromitra leucoxantha</i> (Bres.) Harmaja	22
2.3.5.6 <i>Gyromitra bubakii</i> Velen	23
2.3.5.7 <i>Gyromitra tasmanica</i> (Berk.) Berk. & Cooke	23
2.4 Moleküler Sistematiği	23
2.4.1 Moleküler belirteçler	25
2.4.1.1 Proteine dayalı belirteçler	27
2.4.1.2 DNA'ya dayalı belirteçler	28

2.4.1.2.1 DNA Hibridizasyonuna dayalı belirteçler	29
2.4.1.2.1.1 RFLP (Restriction fragment length polymorphism)	29
2.4.1.2.1.2 VNTR (Variable number of tandem repeat) (Mini satellites)	30
2.4.1.2.2 PZR'ye dayalı metodlar	30
2.4.1.2.2.1 RAPD (Randomly amplified polimorphic DNA)	30
2.4.1.2.2.2 SSCP (Single strand conformation polymorphism)	31
2.4.1.2.2.3 SSR (Simple sequence repeats, microsatellites)	32
2.4.1.2.2.4 AFLP (Amplified fragment lenght polimorphism)	33
2.4.1.2.2.5 Dizi analizi yöntemi (Sequencing)	34
2.4.2 Moleküler filogenide kullanılan DNA çeşitleri	35
2.4.2.1 Mitokondriyal DNA	35
2.4.2.2 Kloroplast DNA'sı	37
2.4.2.3 Çekirdek DNA'sı	37
2.4.2.3.1 İç transkribe olan boşluklar (Internal transcribed spacers, ITS)	39
3. MATERYAL VE YÖNTEM	41
3.1 Materyal	41
3.1.1 Örneklerin toplanması ve saklanması	41
3.1.1.1 Arazi çalışmaları	41
3.1.1.1.1 Çalışma bölgesinin iklimsel özellikleri	41
3.1.1.2 Mikroskop çalışmaları	42
3.1.2 Moleküler sistematik çalışmaları	43
3.1.2.1 Kullanılan cam ve plastik malzemeler	43
3.1.2.2 Çalışmada kullanılan kimyasallar	43
3.1.2.3 PZR'de (Polimeraz zincir reaksiyonu) kullanılan kimyasallar	43
3.1.2.4 PZR'de kullanılan primerler ve özellikleri	44
3.1.2.5 Agaroz jel elektroforezinde kullanılan kimyasallar	44
3.2 Yöntem	44
3.2.1 Genomik DNA izolasyonunda kullanılan malzemeler ve yöntem	44
3.2.2 Agaroz jel elektroforezi	46
3.2.3 PZR deneyleri (Polimeraz zincir reaksiyonu)	46
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	48
4.1 Makroskobik ve Mikroskobik Çalışmalar Sonucunda Elde Edilen Veriler	48

4.2 Moleküler Sistematik Çalışmaları Sonucu Elde Edilen Veriler	51
5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	55
KAYNAKLAR	58
EK	82
ÖZGEÇMİŞ	85

MUĞLA YÖRESİNDE YETİŞEN *GYROMITRA* TÜRLERİ ÜZERİNDE TAKSONOMİK ÇALIŞMALAR

(Yüksek Lisans Tezi)

Halil GÜNGÖR

**MUĞLA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

2011

ÖZET

Çalışmada, Muğla ve çevresinde yetişen *Gyromitra* türlerinin klasik ve moleküler sistematik analiz metodlarıyla teşhisi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda Muğla'daki çeşitli lokalitelerde (Yaraş köyü, Yılanlı dağı, Ula ve Fethiye ilçeleri) yapılan arazi çalışmaları ile toplanan örnekler değerlendirilmiştir. Örnekler fotoğraflanıp etiketlenerek kurutulmuş ve Muğla üniversitesi fungaryumunda saklanmıştır. Örneklerin makroskobik özellikleri kaydedilmiş ve her bir örnek için ayrı ayrı spor, hif, parafiz gibi mikroskobik karakterleri incelenmiştir. Kaydedilen bu karakterler doğrultusunda mantarlar gruplara ayrılmış ve toplam 10 farklı grup elde edilmiştir.

Sistematikte morfolojik karakterler hala geçerliliğini korumaktadır. Ancak *Gyromitra*'lar gibi bazı mantarlarda morfolojik karakterler teşhis için yeterli olamamaktadır. Bununla beraber yeni teşhis edilen bir türün sistematik kategorisinin belirlenmesi ve yakın türlerin birbirinden ayırt edilmesi için moleküler sistematik çalışmaları yararlı olduğu ve anlamlı sonuçlar verdiği tespit edilmiştir. Bu sebeple moleküler sistematik çalışmalar son 20 yıldır artarak devam etmiştir. *Gyromitra*'larda morfolojik açıdan problemlili gruplardan biri olup dünyada tanımlanan 69 taksonu bulunmasına rağmen bunlardan sadece 7 tür kabul edilmektedir.

Ülkemizde *Gyromitra* cinsi 5 taksonla temsil edilmektedir. Ancak morfolojik olarak oldukça farklı *Gyromitra* örneklerinin bulunduğu da aşikardır. Morfolojik

karakterlerle bunları ayırt etmenin zor olması sebebiyle bu çalışmada bütün bunlara ek olarak moleküler sistematik çalışmalarda yapılmıştır. Belirlenen her grup için bir tip tür seçilmiştir. Sonrasında CTAB metodu ile DNA izolasyonu yapılmıştır. DNA izolasyonu yapılan her örneğin PCR'si yapılmıştır. PCR'de çekirdek DNA'sına ait rDNA bölgeleri (nrDNA) çoğaltılmıştır. Primer olarak ITS 4 ve ITS 5M primerleri kullanılmıştır. DNA dizi analizinden sonra her örneğin 830 bp uzunluğunda DNA dizileri elde edilmiştir. Elde edilen diziler Bioedit filogenetik analiz programı ile işlendikten sonra birbiri ile karşılaştırılmış ve sonuçta 10 farklı gruptan 3 farklı ITS bölgesi DNA dizisi elde edilmiştir. Bu diziler gen bankasında araştırılmış ve sonuç itibarıyla örneklerden ikisinin *G. esculenta*'ya % 99, diğer birinin ise % 98 oranında benzediği tespit edilmiştir. Dolayısıyla moleküler sistematik çalışmalar sonucu elde edilen veriler morfolojik bilgileri desteklememiştir. Bu sebeple nrDNA'nın *Gyromitra* cinsinin sistematigi için uygun bir karakter olmadığı, belirteç olarak DNA'nın farklı kısımlarının kullanılması durumunda daha fazla sayıda türün bulunabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmanın bir sonucu olarak 3 takson (*Gyromitra tasmanica*, *Gyromitra longipes* ve *Gyromitra esculenta* var. *fulva*) ülkemizde ilk defa kaydedilmiş ve yeni kayıt olarak Türkiye makrofungus florasına ilave edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Muğla, *Gyromitra*, Taksonomi, Moleküler sistematik, Filogeni

Sayfa adedi : 85

Tez yöneticisi : Prof. Dr. Mustafa İŞİLOĞLU

**A TAXONOMIC STUDY ON *GYROMITRA* SPECIES WHICH GROWS
MUĞLA BASIN**

(M. Sc. Thesis)

Halil GÜNGÖR

**MUĞLA UNIVERSITY
INSTITUTE of SCIENCE and TECHNOLOGY**

2011

ABSTRACT

In this study, it is objected to identify *Gyromitra* taxa which grow in Muğla basin, by classical and molecular systematic methods. On this idea the field work (Yaraş village , Yılanlı forest, Ula, Fethiye) that has been done in various localities in Muğla and picked samples were studied. Samples have been photographed, labelled, dried and then stored at Muğla University fungarium. Macroscopic properties of samples were saved and then for each sample; spore, hyphae, paraphyse, etc., microscopic characters have been examined. According to saved characters, samples were grouped and 10 distinct groups obtained.

Morphological characters have still been used for systematics. However, some fungi such as genus of *Gyromitra*, morphological characters are not sufficient for diagnosis. Therefore, determination of systematic category of new taxa record and discrimination of closely related species. Molecular systematic studies are useful and informative. Because of this, molecular systematic studies have been developed for 20 years. Genus *Gyromitra* is a complex group for its morphology as in the case for some other groups. Although 69 distinct *Gyromitra* taxa have been described, only 7 of them are accepted as distinct taxa.

In our country, genus *Gyromitra* has been represented by 5 taxa. However, it is expected that morphologically distinct groups may be present. Because of the

diffuculty to discriminate fungi using morphological characters, molecular systematic studies have also been done in this study.

For each distinct group a type species have been identified. For each type species DNA was isolated with CTAB method and PCR analysis has been carried out for the same region of genomic DNA. rDNA, which is a part of nuclear DNA is amplified. For amplification ITS 4 and ITS 5M primers vere used. For each sample 830 bp DNA strand has been obtained. Strands were processed with Bioedit phylogenetic analyse programme. Than DNA sequence of each sample has been compared with each others with Bioedit phylogenetic analysis programme . Eventually 3 different DNA sequences have been found. DNA strands were searched in Genebank. Results showed that two of them were owerlapping 99 % with *G. esculenta* and one of them was overlapping 98 % with *G. esculenta*.

However molecular systematic studies were not supporting morphological studies, we think ncular rDNA is not a good marker for *Gyromitra* systematics. So if any other parts of DNA used as a marker, more species may be obtained.

As a result of this study 3 new taxa (*Gyromitra tasmanica*, *Gyromitra longipes* and *Gyromitra esculenta* var. *fulva*) have been found and added as new record to Turkish macrofungi flora.

Key words : Muğla, *Gyromitra*, Taxonomy, Molecular Systematics, Phylogeny

Page number : 85

Advisor : Prof. Dr. Mustafa IŞILOğLU

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 3.1 PZR Sonuçları jel fotoğrafı	47
Şekil 4.1 PAUP'ta Neighbour joining analiz metodu ile oluşan soy ağacı	52
Şekil 4.2 PAUP'ta UPGMA analiz metodu ile oluşan soy ağacı	53

TABLULAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No.</u>
Tablo 3.1 Muğla ili 1975-2008 yılları arası ortalama iklimsel veriler	41
Tablo 3.2 PZR’de Kullanılan Kimyasallar ve Özellikleri	43
Tablo 3.3 PCR’de Kullanılan Primerler ve T _m değerleri	44
Tablo 3.4 Agaroz Jel Elektroforezinde Kullanılan Çözeltiler ve Özellikleri	44
Tablo 3.5 PZR reaksiyonlarında kullanılan program	46
Tablo 4.1 Çalışmadaki <i>Gyromitra</i> türleri genetik uzaklık haritası	54
Tablo 5.1 Teşhis edilen türler ve deskripsiyonları	55

SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AFLP	: Amplified fragment length polymorphism
ATP	: Adenozin trifosfat
B	: Beta
⁰ C	: Santigrat derece
cpDNA	: Kloroplast DNA
ddNTP	: Dideoksinükleotid trifosfat
dH ₂ O	: Distile su
Dk	: Dakika
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
dNTP	: Deoksiribonükleotid trifosfat
EtBr	: Etidyum Bromür
EtOH	: Etil Alkol
ETS	: External transcribed spacers (Dış transkribe olan boşluk)
ITS	: İnternal Transcribed Spacer (İç transkribe olan boşluk)
KOH	: Potasyum hidroksit
LSU	: Large subunit (Büyük alt ünite)
Mg	: Miligram
MgCl ₂	: Magnezyum klorür
mM	: Milimolar
MMH	: Monometil hidrazin
ml	: Mililitre
mtDNA	: Mitokondriyal DNA
NaAc	: Sodyum Asetat
nrDNA	: Çekirdek ribozomal DNA'sı
NTS	: Non-transcribed spacer (Transkribe olmayan boşluk)
PAGE	: Poliakrilamid Gel Elektrophoresis
PZR	: Polimeraz Zincir reaksiyonu
pMol	: Pikomolar

RAPD	: Randomly Amplified Polimorphic DNA (Rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA)
rbcL	: Ribulose bisphospate carboxylase
RFLP	: Restriction Fragment Length Polimorphism
RNA	: Ribonükleik asit
Rpm	: Revolutions per minute
rRNA	: Ribozal RNA
μ l	: Mikrolitre
SDS	: Sodyum Dodesil Sülfat
Sn	: Saniye
SSCP	: Single Strand Conformation Polimorphism (Tek zincir konformasyon polimorfizmi)
SSR	: Simple sequence repeats (Basit dizi tekrarları)
SSU	: Small subunit (Küçük alt ünite)
TBE	: Tris Borat EDTA
TE	: Tris EDTA
VNTR	: Variable Number of Tandem Repeats (Değişken sayıda tekrar eden diziler)

1. GİRİŞ

Dünyada yaşam var olduğundan beri, canlıların ortak ve temel ihtiyaçlarının en başında gelen besin, en önemli sorunlardan olmuştur. Bu sorun günümüzde de hala devam etmektedir. Mantarlar her ne kadar 1945’li yıllara kadar fazla dikkate alınmasa da bu yıllardan sonra önemli araştırmalara konu olmuştur. Bunun sebebi 1945’li yıllarda patlak veren II. Dünya savaşı sırasında görülen besin kıtlığıdır. Bu yıllardan sonra mantarların besin değeri daha iyi anlaşılmış ve yemeklik olarak kullanılmaya başlanmıştır (Bresinsky ve Besl, 1990). Bu sebeple bu yıllardan sonra mantarlar üzerine yapılan çalışma sayısı da hızla artmıştır. Artık mantarların günümüzde ticari olarak üretildiği ve bir sektör haline geldiği bilinen bir gerçektir.

Mantarların geçmişte de ilkel kabileler arasında önemli bir yere sahip olduğu yapılan araştırmalar sonucunda keşfedilmiştir. Özellikle halüsinojenik mantarlar dünyanın çeşitli yörelerinde kabileler arasında önemli bir yere sahiptir. Bu araştırmalar sonucunda mantarların M.Ö 1000 yıllarında Guatemala halkı tarafından dini törenlerde tanrının varlığının keşfini kolaylaştırdığı gerekçesiyle kullanıldığı tespit edilmiştir. Ayrıca bu mantarlar Kızılderililer tarafından dini amaçlar için kullanılmıştır. İnanışa göre tanrı onlarla mantar aracılığıyla iletişim kurmaktadır ve öldükten sonra ruh göklere yükselmekte ve mantar yiyerek beslenmektedir. Bu sebeple bu mantarlar geçmişte dini ve mitolojik motifler olarak kullanılmıştır. Sibiry’a da bu mantarların sosyal toplantılarda sarhoş edici olarak kullanıldığı da bildirilmiştir (Blackwell, 1988). Ayrıca yağmurdan sonra hızlı bir şekilde büyümeleri sebebiyle eski yunanlılar mantarların Zeus’un yıldırımlarından oluştuklarını düşünürlerdi (Lincoff, 1988).

Halk arasında küf, pas, rastık, maya, mildiyö, şapkalı mantar, kav mantarı, raf mantar, puf mantarı olarak bilinen canlıların tamamı mantardır ve mantarlar âlemi içerisinde yer alır. Bu canlıların bilimsel adı fungus olup bu âlemi inceleyen bilim dalına mikoloji, mantarları inceleyen bilim adamlarına ise mikolog adı verilir.

Mantarlar ökaryotik canlılar olup nukleusları ve zarla çevrili organelleri vardır. Klorofil içermezler besinlerini hazır olarak alırlar, yani heterotrofturlar. Sporlarla eşeyli veya eşeysiz olarak ürerler. Hücre çeperleri vardır ve çeperin ana bileşeni neredeyse her zaman kitindir. Çeperin yapısı farklı miktarlarda protein, glikoprotein, lipid ve diğer glikoz polimer tabakalarından (öncelikle β -1.3 glukan) oluşmaktadır.

Glukoz polimerleri bazı Myxomycota ve Mastigomycotina şubesinde yer alan türlerde olduğu gibi selüloz veya bazı mayalardaki gibi mannoz polimeri olabilir. Bütün mantarlar bir, iki veya daha fazla çekirdek içeren ipliksi organizmalardır. Her hücredeki nükleus sayısı ilgili mantarın evrimsel gelişim düzeyi ile ilgilidir. En ilkel grup olan mayalar tek hücreli ve tek çekirdekli aşamadan daha ileri bir aşamaya geçememişlerdir. Bazı mantarlar dimorfiktir, yani ya tek hücreli maya formunda veya da çok çekirdekli ipliksi formdadır. Dimorfik funguslar genellikle bitki ve hayvan patojenik formları arasında bulunur (Bradt ve Pritchard, 1984). Mantarlarda kök gövde yapraklar gibi doku farklılaşması yoktur. Hif denilen özel yapıların sıkı sıkıya birleşmesi ile oluşmuş misel adı verilen yapılardan oluşurlar. Hifler dallanmış ipliksi yapılardır. Mantarlar buldukları ortama miselleri aracılığıyla bağlanır ve yine miselleri aracılığıyla buldukları ortamdan besin ve su alırlar. Farklı sınıf mantarlar farklı hif yapısına sahip olabilirler. Hif yapıları mantarların teşhisinde kullanılan önemli karakterlerden biridir (Tamer vd., 2008).

Mantarlar benzer yanları olmasına rağmen grup olarak algler, bitkiler ve hayvanlarla yakın akraba değildir, bu sebeple bunları mantarlar olarak ayrı bir âlem kabul etmek mantıklıdır. Çünkü mantarlar bitkiler gibi klorofil içermezler. Hayvanlar gibi de çepersiz hücre içermezler. Hücre çeperi bitkilerde olduğu gibi selüloz değil kitindir. Ancak hayvanlar gibi depo maddeleri glikojendir. Görüldüğü gibi bazı özellikleri itibariyle mantarlar bitkilere, bazı özellikleri itibariyle de hayvanlara benzemektedir. Ama asla bu âlemlerden herhangi birinin tüm özelliklerini taşımamaktadırlar (Pritchard ve Bradt, 1984).

Heterotrof yaşam tarzı tüm mantarların ortak özelliğidir. Buna rağmen bu yaşam tarzları bir mantar grubundan diğerine değişebilir ve bazı gruplar için karakteristik olabilir. Ölmüş organizmaların organik bileşiklerini parçalayarak enerji elde eden mantarlar saprofitik olarak adlandırılırken, enerjilerini yaşayan bitkiler ve hayvanlardan elde eden mantarlar parazit olarak adlandırılmaktadır. Çoğu parazitik organizmalar medikal ve ekonomik açıdan kıymetli organizmalardır, çünkü bunlar hem bitkilerde hem de hayvanlarda çeşitli hastalıklara sebep olmaktadır. Saprofitik mantarlar doğamızın enerji ekonomisi için zorunlu olan canlılardır ve bu mantarlar doğada bulunan organik maddelerin yapıtaşlarına ayrılmasına yardımcı olarak doğadaki madde döngüsünde önemli rol oynarlar. Ancak mantarların bu

özellikleri genelde hafife alınmıştır. Bazı mantar grupları da algler ve damarlı bitkilerle (mikorhiza) simbiyotik olarak yaşamaktadırlar (Pritchard ve Bradt, 1984). Alglerle simbiyotik olarak yaşamaları sonucu likenleri oluştururlar.

Mantarlar değişik ortam şartlarında yaşayabilen kozmopolit canlılardır. Bazıları dünya genelinde dağılım gösterirken bazıları fiziksel, kimyasal ve biyolojik faktörler tarafından kontrol edilen özel doğal ortamlarda yaşarlar. Bazıları ise sadece ılıman ve tropik ortamlarda hayatlarını devam ettirirler. Bir kısmı ise katı bir şekilde suculdur. Bitkiler ve hayvanlarla simbiyotik olarak yaşamaları sık görülen bir durumdur (Pritchard ve Bradt, 1984). Hawksworth (1991)'a göre dünyada 1.5 milyon makrofungus türü bulunduğu sanılıyorsa da şimdiye kadar teşhis edilen mantar tür sayısı 150 bin civarındadır.

Bazı mikolojistler mantarların tamamının tek bir atadan geldiğini (monofiletik) öne sürerken bazı mikolojistler ise farklı mantar gruplarının farklı atalardan (polifiletik) türediğini öne sürmüşlerdir. Bu bağlamda Ascomycetes'lerin filogenetik olarak Rhodophyta'dan türediğini kabul ederlerken, Zygomycetes'lerin Cholorophyta'dan türediğini öne sürmüşlerdir. Bazı araştırmacılar da mantarların selüloz hücre duvarlarının olmamasından dolayı protistaların kamçılı atalarından türediğini öne sürmektedirler. Yapılan moleküler sistematik çalışmalarda ise Chytridiomycota ve Zygomycota şubelerinin diğer şubeler ile aynı ortak atadan gelmediği saptanmıştır (Nagahama vd., 1995, James vd., 2000). Protozoanlar ve mantarlar arasında bir akrabalık olduğu bilinmesine rağmen bunu tam olarak belirlemek zordur (Pritchard ve Bradth, 1984).

Mantarlar, makrofunguslar ve mikrofunguslar olmak üzere ikiye ayrılmışlardır. Mikrofunguslar gözle görülmeyen mantarlar olup ancak mikroskop altında görülebilmektedirler. Makrofunguslar gözle görülebilecek kadar büyük mantarlardır. Ülkemizde görülen iklim çok sayıda tür içeren zengin bir bitki floramızın oluşmasına sebep olmuştur. Bu bağlamda ülkemizde görülen bitki türü sayısı Avrupa ile neredeyse aynı sayıdadır. Ülkemizin fungus florasının zenginliğinin yorumlanmasında bitki florasının bu durumu bir kısas unsuru olarak kullanılabilir. Fungus florasının zenginliği ile beraber bu konuda yapılan çalışma sayısı yetersizdir. Şimdiye kadar ülkemizde 2400 kadar makrofungus türünün bulunduğu tespit edilmiştir (Solak vd., 2007). Ancak bu mantarların sayısının yapılacak

çalışmalarla artacağı tahmin edilmektedir. Artışın sebebi daha önceden yapılan mantar teşhislerinin yanlış olabileceği, arazi çalışması yapılmamış lokalitelerin varlığı gibi sebeplerdir. Makrofunguslar daha çok Ascomycetes ve Basidiomycetes şubeleri içerisinde yer almaktadır. Bununla birlikte ülkemizde mikrofunguslar üzerine yapılan çalışma sayısı yok denecek kadar azdır. Ayrıca türlerin teşhisinde morfolojik karakterlerin yetersiz olması önemli sorunlardan biridir. Avrupa'da çok yaygın olarak kullanılan ve anlamlı sonuçlar veren moleküler metodların ülkemizde neredeyse hiç kullanılmaması önemli bir eksik olarak görülmektedir.

Mantarların çoğunun üreme potansiyelleri diğer canlılara göre çok daha üst seviyededir. Bazı cinslerde üretilen spor sayısı milyarlarca olabilmektedir. Mantarlarda hem eşeyli hem de eşeysiz üreme görülebilmektedir. Ancak hem eşeyli hem de eşeysiz üremede spor oluşturulmaktadır.

Aseksüel sporlar neredeyse her zaman bütün mantarlar tarafından üretilir. Genellikle sporangia adı verilen özel yapılar içerisinde gelişir. Seksüel hücreler (gametler) gametangia olarak adlandırılan yapılar tarafından üretilirler. Mantarlarda eşeyli üreme izogami, anizogami ve oogami ile gerçekleştirilir. İzogami birçok ilkel cins için karakteristik iken oogami türemiş formlar arasında görülür. Oogami alg cinsi olan *Vaucheria* da görülen tarza benzemektedir. Mantarlarda eşeyli üreme bir gametin diğer bir gametle, bir hifle bir gametogiyum, bir gametangiyum ile bir hifin farklı kombinasyonlarının birleşmesi ile başarılabilir (Tamer vd., 2008). Sporangialar ve gametangialar arasındaki farklılık ve mimari çoğu mantarın teşhisi ve sınıflandırmasında karakter olarak kullanılabilir. Üretken hücrelerden üretilen spor veya gametlerin hareketli veya hareketsiz olması da teşhis ve sınıflandırma için kullanılan diğer bir karakterdir (Pritchard ve Bradt, 1984).

1.1 Mantarların Kullanım Alanları

Mantarlar günümüzde çok çeşitli alanlarda kullanılmaktadır. Öncelikle mantarlar önemli besin kaynaklarımızdan birisidir. Mantarları yenen, yenmeyen ve zehirli mantarlar olarak üç gruba ayırmak mümkündür. Yenmeyen mantarlar grubu zehirli olmayıp pişirilmesi zor, sert, kötü kokulu ve lezzetli olmayan, daha çok ağaç mantarlarını içine alan gruptur. Yenen mantarların sap, şapka ve miselleri yemek olarak kullanılabilir. Günümüzde yemeklik olarak kullanılan mantarların

bileşiminde gerçek selüloz yoktur, ayrıca protein, vitamin ve mineral madde içermelerinden sebebiyle iyi bir besin kaynağı olarak kabul edilebilmektedir (Öder, 1988). Vitaminlerden pantotenik asit, tiamin, nikotenik asit, biyotin, askorbik asit, D vitamini, riboflavin, minerallerden; demir, bakır, kalsiyum, fosfor, potasyum, sodyum, klor, çinko, brom, mangan bulunur. Ayrıca bunlar iyi bir folik asit kaynağıdır (Tokita vd., 1972; Günay, 1995). Ayrıca mantarların yetişme ortamına göre değişmekle birlikte % 90'ını su (Öztürk ve Kaşık, 2000) % 16-85'ini karbohidratlar % 0.2-87'sini lipidler, % 14-44'ünü proteinler, % 1-29'unu vitaminler ve mineraller gibi küller oluşturmaktadır (Griffin, 1981). Ancak mantarlar kesinlikle çiğ olarak yenilmemelidir. Ayrıca sindirilmeleri zor besin olmaları sebebiyle çok fazla tüketilmemelidir. Yendiği zaman ise mide aşırı derecede doldurulmamalıdır. Yemek istemeyen kişilere yemesi için ısrar edilmemelidir (Bresinsky ve Besl, 1990).

Mantarlar ilk defa 16 y.y'da Fransa da kültür ortamına alınmıştır (Chang ve Miles, 1989). İçerisinde bulunan protein miktarı sütte bulunan protein miktarı ile aynı seviyededir. Ancak etle kıyaslanamayacak kadar azdır. Bu açıdan mantarlar genellikle besin değeri için değil de farklılık olması için tercih edilen bir besin kaynağı olarak kabul edilmelidir.

Mantarlar medikal açıdan da çok değerlidirler ve çeşitli ilaçların yapımında kullanılmaktadırlar. Mantarların bu özellikleri uzun zamandan beri bilinmektedir. Mantarların medikal amaçlı kullanımları Avrupa'da yaygındır ancak kesinlikle Asya'daki kadar değildir. Eski Yunanlılarda birkaç mantar türünün medikal amaçlı olarak kullanıldığı bilinmektedir (Hobbs, 1995). Amerikan kabileleri ise mantarları önemli bir besin kaynağı olarak kabul etmemekle birlikte birkaç mantar türünü özellikle yanık tedavilerinde kullandığı bilinmektedir (Burk, 1983). Mantarların Asya'da kullanımı 7000 yıl öncelere kadar dayanmaktadır. Çinliler mantarları daha o yıllarda içki ve bazı ürünleri fermente etmek için kullanmışlardır (Wang, 1985). Mantarların tıbbi etkileri beş grupta toplanabilir bunlar; antibiyotik etki, hipolipidemik (yüksek kolesterolü düzenleyici) etki, karaciğeri koruyucu etki, bağışıklık sistemini düzenleyici etki ve antidiyabetik etkidir (Wasser ve Weis, 1999). Ayrıca son zamanlarda mantarların antikanser özellikleri üzerinde çok fazla çalışma yapılmıştır ve sonuç olarak kanser tedavisinde önemli başarılar elde edilmiştir (Furue, 1985; Kasamatsu, 1982; Torisu, 1990; Zhu ve Yu, 1990; Nanba, 1993). Son

yıllarda Alman araştırmacılar mantarlarda bulunan heteropolisakkaritlerin immün sistemi aktive eden polisakkaritlere benzer yapıda olduklarını belirtmişlerdir (Wagner ve Proksch, 1985). Medikal olarak kullanılan mantarların başında *Ganoderma lucidum* (reishi), *Cordyceps sinensis*, *Lentinula edodes* (shiitake), *Trametes versicolor*, *Grifola frondosa* (maitake), *Scihizophyllum commune*, gibi mantarlar gelmektedir (Hobbs, 1995). Bu sebeple bu mantarların seri bir şekilde üretimleri yapılmakta ve satılmaktadır. Bu medikal mantarlar çoğunlukla ağaç mantarlarıdır ve çayları yapılarak içilirler.

Claviceps purpurea, *Ustilago maydis*, *Saccharomyces cerevisiae* gibi bazı mantar gruplarından çeşitli alkaloid ve antibiyotik (penisilin) üretimi yapıldığı da bilinmektedir. *Penicillium* türleri de bunlardan biri olup ergotamin, kortizon gibi çeşitli önemli ilaçların yapılmasında kullanılmaktadır. Ayrıca amilaz, pektolaz gibi enzimlerle giberallin gibi bazı hormonların üretilmesinde de kullanılmaktadırlar. Bazı türlerden ise genetik çalışmalarda deney materyali olarak faydalanılmaktadır (Tamer vd., 2008).

Bazı parazitik funguslar tarım zararlı ve hastalıklarıyla biyolojik mücadele de kullanılmaktadır. Ayrıca bazı mantarların ağır metal depolama kapasitelerinin yüksek olduğu bilinmektedir. Bu açıdan düşünüldüğünde bu mantarlar ağır metallerle kirlenmiş arazileri temizlemede kullanılabilir (Ertugay ve Bayhan, 2008).

Bütün bunların yanında tarım sektöründe bitkiler üzerinde parazit olarak yaşaması sonucu önemli miktarlarda ürün kayıplarına sebep olabilmektedirler. Buna örnek olarak mısırdaki meydana gelen ve mısır rastığı olarak bilinen *Ustilago mydis* ve çavdarda oluşan ve çavdar mahmuzu olarak bilinen *Claviceps purpurea*, patates mildiyösü olarak bilinen *Phytophthora infestans*'tır. Patates mildiyösü 1840'lı yıllarda İrlanda'da kıtlığa sebep olarak 1 milyon insanın ölümüne sebep olurken, 1943'te Bangladeş'te pirinçte parazit olarak yaşayan bir mantar türü de yine kıtlığa sebep olmuştur (Tamer vd., 2008).

Ayrıca insan ve hayvanlarda da hastalık meydana getiren parazit mantarlar vardır. Bunların meydana getirdiği hastalıklara miköz adı verilir. Bu hastalık özellikle tropikal ülkelerde yaygındır. Mantarlar kan dolaşımı ile tüm vücuda dağılıp iç organlarda da rahatsızlığa sebep olabilir.

Mantarlar âleminde olan mayalar, fırıncılık ve fermantasyon endüstrisinin temelini oluşturur. Ekmekleri kabartmak için kullanılan hamur mayası bunun en iyi örneğidir.

Gyromitra cinsi de askuslu mantarlar içinde bulunan önemli cinslerden biridir. Toplamda tanımlanan 69 kadar türü bulunmasına rağmen bunlardan sadece 7'si kabul görmektedir. Bu durumun sebebi morfolojik karakterlerin yetersiz oluşu nedeniyle teşhislerin yanlış yapılmasıdır. Ortam şartlarına göre makroskobik özelliklerin belirli sınırlar içinde değişmesi yanlış teşhislerin en büyük sebebidir. Morfolojik karakterlerin bu şekilde değişken olduğu düşünülürse sistematikte sorunların yaşanması kaçınılmaz olacaktır. Bu durum cins içerisindeki sistematik problemin çözülmesinde alternatif metotların kullanılmasını zorunlu kılmaktadır. Moleküler filogenetik çalışmalar ise 1960'lardan beri hızla yaygınlaşmakta ve filogenetik akrabalıkların belirlenmesinde anlamlı sonuçlar vermektedir.

Ülkemizde yapılan klasik sistematik çalışmalarına göre bu cinse ait 5 takson bulunmaktadır. Ancak yapılan arazi çalışmalarına göre birbirinden morfolojik olarak oldukça farklı gruplar vardır.

Yapılacak kapsamlı çalışmalar sonucunda bu tür sayısının çok daha fazla olabileceği düşünülmektedir. Bunun için çalışmalarda klasik sistematığe ek ve alternatif olarak moleküler sistematik yöntemler kullanılmış ve bu çalışmalar sonucunda ülkemizde *Gyromitra* cinsine ait başka türlerin de varlığı ortaya çıkarılmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Yapılmış Çalışmalar

Dünyada mantarların sınıflandırması ilgili ilk çalışmalar Linne tarafından yapılmış olup “Species Plantarum” adlı eserinde mantarları Cryptogamia fungi adı altında bir sınıfta toplamıştır. Ancak mikolojinin modern kurucusu Antonio Michelli’dir. 1719 yılında ele aldığı eseri “Nova Genera Plantarum” isimli eserindeki tariflerden bugün dahi faydalanılabileceği belirtilmektedir. Mantarların taksonomileri ile ilgili yayımlanan ilk eserler Persoon (1801)’un “Synopsis Metotica Fungorum” ile Fries (1821-1832)’in “Systema Mycologium” adlı kitaplarıdır.

Ülkemizde makrofunguslar üzerine yapılan çalışmalar gözden geçirildiğinde, yeterli olmadığı ve ülkemizin makrofungus florasının tamamlanması için daha çok çalışılması ve yakın türlerin birbirinden ayrılması için alternatif metotların kullanılması gerektiği görülecektir. Buna rağmen özellikle son yirmi yılda önemli mesafeler kat edilmiştir. Ülkemizde mantarlar üzerine yapılan çalışmalar aşağıdaki şekilde özetlenebilir.

Türkiye’de mantarlar üzerine ilk çalışma Rigler (1852) tarafından yapılmıştır ve bu çalışmalarda İstanbul çevresinden 17 tür teşhis edilmiştir. Tchihatcheff (1860), İstanbul çevresi ve Belgrad ormanı’ndan yetişen 33 tür belirlemiştir. Fritsch (1873), İstanbul çevresi ve Belgrad ormanından 4 tür, Maire (1904) ise, Bursa-Uludağ ve Ankara-Mersin yolu üzerinde çalışmalar yapmışlar ve büyük çoğunluğunu pas ve parazit mantarların oluşturduğu 56 tür belirlenmiştir. Handel-Mazzetti (1909), İstanbul, Samsun , Bursa-Uludağ, Trabzon ve Ordu illerinden 44 tür, Zwara (1932), değişik lokalitelerden *Russula* cinsine ait 14 tür belirlemiştir. Sonrasında ise Albert Pilat Çankırı İlindeki Büyük Ilgaz ve Küçük Ilgaz dağlarında değişik zamanlarda yapmış olduğu arazi çalışmaları ile toplam 118 tür belirlemiştir (Pilat, 1932; 1937). Bunu takiben Alman bilim adamı Kurt Lohwag, Belgrad ormanlarında 88 tür ve kavaklarda bulunan ve odun tahripçisi olan 4 tür belirlemiştir (Lohwag, 1957; Lohwag 1959). Lohwag, orman fitopatologlarına, ağaç paraziti olan mantarlar üzerine çalışma yapmaları konusunda önder olmuştur ve bu tarihten sonra odun tahripçisi mantarlar üzerine yapılan çalışmalar artmıştır. Selik (1957), Güneybatı Anadolu’da odun tahripçisi olan *Schizophyllum commune* Fr.’yi incelemiş, Lohwag (1964), Belgrad ormanında yaptığı çalışma da bir *Myxomycetes*, bir *Phycomycetes*,

19 *Ascomycetes*, 58 *Basidiomycetes*, bir *Gasteromycetes*, 2 *Uredinaceae* ve 13 tane de fungi imperfect'den olmak üzere toplamda 95 tür tespit etmiş ve “Belgrad ormanından mikolojik notlar” adı altında yayınlamıştır. Yine Lohwag (1965), Ankara ve çevresinde bulunan 13 tür, Selik (1965), Belgrad ormanından yenilebilen 12 tür, Selik ve Aksu (1967), İstanbul parklarından odun tahripçisi 12 tür tespit etmiştir.

Bu tarihten sonra yenen ve zehirli makrofunguslar üzerine yapılan çalışmalar yapılmıştır. Öder (1972), Bolu ili ve çevresinde zehirli ve yenen 51 tür, Öner (1972), İstanbul, İzmir, ve Muğla yöresinden 100 tür, Karamanoğlu ve Öder (1972, 1973), Bursa yöresinden 13 tür ile Uşak ve Çorum'da meydana gelen mantar zehirlenmeleri ile birlikte 3 zehirli, 2 yenen toplam 5 tür belirlemişlerdir. Teşhis edilen zehirli türler *Inocybe fastigiata* (Schff.: Fr.) Quél., *Amanita verna* Bull., ve *Agaricus xanthoderma* Gen., iken yenen türler *Agaricus campestris* (L.) Fr. ve *Amanita alba* Gill. dir. Selik (1973, 1982), Türkiye genelinde odun tahripçisi 123 tür tespit ederken Doğu Karadeniz bölgesinde ise 18 tür tespit etmiştir. Sümer (1976), Belgrad ormanında kesilmiş ağaçlardan 24 tür belirlemiştir. Kotlaba (1976), Amanos dağlarından 21 tür tespit ederken, Öder (1976), İç Ege ve Batı Karadeniz bölgelerinde yenen 6 tür tespit etmiştir. Niemala ve Uotila (1977), Bolu, İstanbul ve İzmit illerinden 22 tür belirlemiştir. Öder (1977), ülkemizde yetişen bazı zehirli mantarlar ve tedavileri hakkında bilgi vermiştir. Sümer (1977), İstanbul Belgrad ormanında yetişen ve ağaçlarda çürüklük yapan 12 tür belirleyerek, bu türlerin fizyolojiler üzerine çalışmalar yapmıştır. Watling ve Gregory (1977), ülkemizin çeşitli illerinde yaptıkları çalışmalarda 20 familyaya ait 92 tür belirlerken, Öder (1978), Orta ve Doğu Karadenizde yenen mantarlardan 39 tür belirlemişlerdir. Gücin ve Öner (1982), Manisa il sınırları içinde 20 tanesi ülkemiz için yeni kayıt olan 70 tür belirlemişlerdir ve yine aynı yıl içerisinde ve yine Manisa ilinde *Ascomycetes* sınıfından ülkemiz fungus florası için 6 yeni tür tespit etmişlerdir. Öder (1982), Kastamonu yöresinden 12 adet yenebilen, 2 zehirli ve bir adet yenmez mantar türü tespit etmiştir. Sümer (1982), Bolu yöresinden 102 odun tahripçisi mantar belirlemiştir. Selik ve Sümer (1982), ülkemizin çeşitli illerinden Türkiye için yeni kayıt olan 45 tür tespit etmişlerdir. Abatay (1985), Doğu Karadeniz Bölgesi'nde değişik yerlerden odunsu bitkilerde parazit olarak yaşayan 62 tür tespit etmiştir.

Gücin 1983 yılında, Elazığ il sınırları içinde 58 tür belirlemiştir (Gücin, 1983) olup bunlardan ülkemiz için yeni kayıt olanları yayınlamıştır (Gücin,1983). Abatay (1984), ülkemiz ormanlarında yetişen ve halk tarafından toplanıp yenen mantarlardan 67'si hakkında bilgi vermiştir. Öner vd. (1984), ülkemizin çeşitli illerinde parazit mantardan 46 tür belirlemiştir. Abatay (1985), kardeniz bölgesinin Orta ve Doğu Karadeniz bölümlerinde yetişen 47 mantar türü belirlemiştir. Altan vd. (1986), Erzurum, Şenkaya, Gülveren köyünde 40 mantar türü belirlemiştir. Öder (1986), Sinop ve Artvin illeri arasında yetişen 10 adet zehirli mantar türünü tanımlayıp yayınlamıştır. Gücin (1987), Pötürge'de (Malatya) 41 mantar türü tespit etmiştir. Işıloğlu (1990), Malatya ilinde çalışmalar yapmış ve 25 tane yenen ve zehirli mantar türü belirlemiştir. Sümer (1987), ülkemiz yenen matralarından 32 tür hakkında ayrıntılı bilgiler vermiş ve çizimlerle bu türleri tarif etmeye çalışmış ve bu bilgileri bir kitap halinde yayınlamıştır. Abatay (1988), değişik ortam koşullarında hayatını sürdüren 75 mantar türü hakkında bilgi vermiştir. Abatay (1988), ülkemizdeki yenen mantar türlerinden olan 26 mantar hakkında bilgi verdiği bir kitapçık yayınlamıştır. Öder (1988), Sinop-Artvin illerinde halk tarafından tüketilen 14 yabancı tür belirlemiştir. Gücin (1988), Elazığ, Erzurum, Bingöl, Muş, Malatya gibi illerden odun tahripçisi 31 adet mantar türü belirlemiştir. Sümer (1989), ülkemizin değişik yörelerinden Türkiye için yeni kayıt olan 43 tür tespit etmiştir. Asan ve Gücin (1990), tarafından Istranca dağlarında 42 tür belirlemiştir. Solak ve Gücin (1990), Bursa ve çevresinden 72 tür tespit etmiştir. Tamer vd. (1990), Bingöl, Bitlis, Erzurum, Hakkari, Kars, Malatya, Tunceli ve Van'dan 46, Elazığ Hazar dağlarındaki bitkilerden ise 43 parazit mantar türü belirlemiştir ve bu çalışmalarını “Doğu Anadolu Florasında Bazı Parazit Funguslar” adı altında yayınlamışlardır. Gücin (1991), Fırat havzasında (Elazığ) yetişen 18 adet tıbbi ve zehirli mantar türü tespit etmiştir. Işıloğlu ve Watling (1991), Adana' da *Lepiota helveola* Bres.' zehirlenmesi hakkında bilgi vermiştir. Watling ve Işıloğlu (1991), Akdeniz havzasında ilk kez belirlenen *Torrendia pulchella* Bres. türü hakkında bilgi vermiştir. Gezer (1992), Denizli ilinden 51 tür belirlemiştir. Işıloğlu (1992), Adana ve Mersin illerinden 67 adet yenen ve zehirli mantar türü belirlemiştir. Işıloğlu ve Watling (1992), Akdeniz bölgesinden 79 mantar türü belirlemiştir. Sesli (1993), 1992 yılında, Trabzon ili Maçka ilçesinden 64 mantar türü belirlemiştir. Solak ve Gücin (1992), Bursa

yöresinden 36 adet yenen mantar türü belirlemiştir. Yalınkılıç vd. (1992), *Morchella* türlerinin Trabzon' da yetiştirme şartlarını incelemiştir. Gücin (1993), Kozak yaylasında (Bergama-İzmir) yetişen *Morchella* türleri hakkında çalışma yapmıştır. Parlak ve Gücin (1993), Çıldır gölünde 20 parazit ve 5 yenen mantar türü belirlemiştir. Afyon (1994), Isparta yöresinden 13 yenen mantar türü ve 11 yeni kayıt belirlemiştir. Baydar ve Sesli (1994), Akçaabat'tan (Trabzon) 40 tür belirlemiştir. Bunlardan 14 tanesi ise Türkiye için yeni kayıttır. Işıloğlu (1994), Türkiye mantar florasına yeni bir ilave yapmıştır. Kaşık (1994), Konya ilinde ağaçlar üzerinde yetişen mantarlar üzerine yaptığı araştırmada 17 tür belirlemiş ve bunların 4 tanesini Türkiye için yeni kayıt olarak vermiştir. Sesli (1994), Trabzon yöresinden 81 tür tespit etmiştir. Gücin vd. (1995), Batı Anadolu' da yayılış gösteren mantarların yetiştirme ortamlarına göre dağılımları hakkında bilgi vermişlerdir. Gücin vd. (1995), Uludağ'da yaptıkları çalışmalar sonucunda 85 tür belirlemiştir. Gücin ve Işıloğlu (1995), Ascomycetes'lerden 3 yeni cins belirlemişlerdir. Işıloğlu vd. (1995), 1994 yılında İstanbul'da meydana gelen mantar zehirlenmelerini araştırmışlar ve sonuç olarak 40 tür belirlemişlerdir. Sonrasında ise mantar zehirlenmeleri hakkında genel bilgi vermişlerdir. Işıloğlu ve Gücin (1995), Bursa' da yaptıkları çalışmalar sonucu Ülkemiz için yeni bir familya tespit etmişlerdir. Işıloğlu ve Öder (1995), Akdeniz bölgesinde yetişen mantar türlerine 146 mantar türü daha ilave etmiştir. Kaşık ve Öztürk (1995), Aksaray ilinde yaptıkları çalışmalarda 17 mantar türü belirlemiş ve bunlardan 3'ü ülkemiz için yeni tür olarak kayıtlara geçmiştir. Sesli (1995), *Gasteromycetes* 'lerden *Tulostoma brumale* Pers.' yi ilk kez tespit etmiştir. Toprak (1995), Niğde yöresinde yaptığı çalışmalarda 42 mantar türü belirlemiştir. Watling vd. (1995), ülkemizde yetişen *Battariae phalloides* hakkında bilgi vermişlerdir. Yıldız ve Ertekin (1996), Diyarbakır'dan ülkemiz için yeni 2 tür belirlemiştir. Afyon (1996), Isparta, Konya, Beyşehir yöresinden toplam 152 tür tespit etmiştir. Demirel (1996), Van yöresinde yaptığı çalışmalarda toplam 50 tür belirlemiştir. Demirel ve Uzun (1996), Van gölü çevresinde odun tahripçisi 8 mantar türü tespit etmiştir. Erkal (1996), Kapıdağ yarımadasında yaptığı tez çalışmasında 35 tür belirlemiştir. Sesli (1996), Trabzon'da ülkemiz için 2 yeni tür belirlemiştir. Yılmaz vd. (1997), Soma (Manisa) çevresinde 52 tür belirlemişlerdir. Aşkun ve Işıloğlu (1997), Balya'dan (Balıkesir) 56 tür belirlemiştir. Afyon (1997), Derbent ve Seydişehir yöresinden

toplam 109 tür belirlemiştir. Bu türlerden 15'i ülkemiz için yeni kayıttır. Ayrıca yine Derbent'ten yeni *Ascomycetes* kaydı vermiştir. Demirel (1997), Ardanuç'tan (Artvin) 3, Van'dan (1997), 2 yeni *Ascomycetes* kaydı vermiştir. Işıloğlu (1997), Sarıçiçek yaylasında yaptığı çalışmalar sonucunda (Malatya) 44 tür tespit etmiştir. Yıldız ve Ertekin (1997), Diyarbakır'da tespit ettiği 31 taksondan 2 tanesinin yeni kayıt olduğunu belirtmiştir.

Kaşık ve Öztürk (1998), 1990 yılında İstanbul'da görülen mantar zehirlenmelerinin ardından yaptıkları çalışmalar sonucunda 25 tür belirlemiştir. Bunların 3 tanesinin öldürücü türler olan *Amanita phalloides* (Fr.) Link, *Amanita citrina* (Sch.) Pers., ve *Amanita muscaria* (L.) Hook. olduğunu belirtmişlerdir. Sesli (1998), Maçka (Trabzon)'da yaptığı çalışmalar sonucunda 10, Trabzon yöresinde yaptığı çalışmalarda ise 4 yeni *Ascomycetes* türü belirlemiştir. Solak (1998), ülkemiz için yeni bir *Ascomycetes* cinsi belirlemiştir. Solak vd. (1999), İzmir yöresinde yaptıkları çalışmalarda 104 tür belirlemiştir. Demirel ve Uzun (1999), Sarıkamış'tan (Kars) ülkemiz için yeni 4 kayıt belirlemiştir. Kaya (1999), Muş ve Bitlis yöresinde yaptığı çalışmalarda toplamda 71 tür belirlemiştir. Aslantaş (1999), Sivas yöresinde yaptığı çalışmalarda 70 makrofungus türü tespit etmiştir. Allı ve Işıloğlu (2000), Muğla yöresinden 32 parazit fungus türü tespit etmiştir. Sesli ve Türkekel (2000), Ordu ve Tokat yöresinden ülkemiz için yeni 3 tür belirlemiştir. Gezer (2000), ülkemiz için yeni kayıt olan bir cins ve 5 tür bulmuş ve bu türler hakkında bilgi vermiştir. Kaya (2000), ülkemiz için 2 yeni cins bulmuştur. Kaya ve Demirel (2000), Türkiye için 4 yeni *Entoloma* türü tespit etmiştir. Sesli vd. (2000), Tokat yöresinden 3 yeni *Tulostoma* türünü kayıtlara geçirmişlerdir. Doğan vd. (2000), ülkemiz için 2 yeni tür bulmuştur. Durukan (2000), Çal (Denizli) yöresinde yaptığı çalışmalarda 29 tür tespit etmiştir. Solak vd. (2001), Türkiye florası için 3 yeni *Agaricus* türü kaydetmişlerdir. Kaya (2001), Bitlis yöresinden 60 tür belirlemiştir. Öztürk vd. (2001), Türkiye fungus florasına 2 yeni tür eklemiştir. Aktaş (2001), Ahırılı, Yalılıyük ve Bozkır (Konya) ilçelerinde yaptığı çalışmalarda 95 makrofungus türü tespit etmiştir. Demirel vd. (2002), Ağrı yöresinden 45 tür tespit etmiştir. Öztürk (2002), fungus florasına 2 yeni tür eklemiştir. Afyon ve Konuk (2002), Zonguldak yöresinde yaptıkları çalışmalarda 77 takson tespit etmişlerdir. Doğan ve Işıloğlu (2002), Türkiye için yeni bir *Ascomycetes* türü teşhis etmişlerdir.

Kaşık vd. (2003), Yahyalı (Kayseri) yöresinden 94 takson tespit etmiştir. Solak ve Yılmaz (2003), Muğla yöresinde yaptıkları çalışmalarda Türkiye florası için 5 yeni tür bulmuştur. Öztürk ve vd. (2003), Alanya (Antalya) yöresinden 177 makrofungus türü tespit etmiştir. Demirel vd. (2003), Erzurum yöresinden 114, Pekşen ve Karaca (2003), Samsun yöresinden 169 takson belirlemiştir. Solak vd. (2003), yeni bir türü Türkiye makrofungus florasına eklemiştir. Afyon (2004), Sinop yöresinin mantarlarını çalışmış ve 170 takson tespit etmiştir. Tespit edilen mantarlardan 32 tanesinin Türkiye için yeni kayıt olduğu belirlenmiştir. Akata (2004), Kızılcahamam Soğuksu Milli Parkın (Ankara)'da yaptığı çalışmalarda 113 tür tespit etmiştir. Demirel vd (2004), *Phallales* ordosundan olan *Phallus hadriani* Vent.: Pers. ve *Mutinus caninus* (Hud.: Pers.) Fr.'u ülkemiz fungus florasına yeni kayıt olarak eklemiştir. Köstekçi (2004) Eskişehir'den 118 tür tespit etmiştir. Ersel ve Solak (2004), İzmir ili makrofunguslarına katkılar adlı çalışmalarında 55 takson belirlemiştir ve bunlardan 3 tanesi (*Geastrum badium* Pers., *Geastrum fornicatum* (Huds.) Hook ve *Collybia distorta* (Fr.) Quél.) ülkemiz makrofungus florası için yeni kayıttır. Kaşık vd. (2004), *Coprinaceae* ve *Bolbitiaceae*'den Türkiye florası için 9 yeni kayıt vermiştir. Öner ve Gezer (2004)'in Batı Anadolu'da yaptıkları çalışmalarında 201 tür vermiştir. Bu türlerden 67'si Türkiye için yeni kayıttır. Solak vd. (2004), batı Anadolu'dan ülkemiz için yeni bir *Morchella* sp. kaydı verirken yine aynı yıl içerisinde ülke genelinde yaptıkları çalışmalar sonucu 5 yeni *Morchella* kaydı yapmışlardır. Yılmaz vd. (2004), ülkemizde yetişen *Ramaria* türleri hakkında bilgi vermişlerdir. Doğan vd. (2005), Aphyllophorales takımı için bir kontrol listesi hazırlamışlardır. Mendil vd. (2005), Ordu yöresinde yetişen mantar örnekleri içerisinde bulunan iz elementler üzerine çalışma yapmışlardır. Sesli ve Denchev (2005), ülkemizde yetişen Myxomycetes ve makrofungusları için bir kontrol listesi hazırlamışlardır. Solak vd. (2005), ülkemiz için yeni kayıt olan *Morchella exima* f. *Schizocostata*'nın morfolojik ve anatomik karakterizasyonunu yapmışlardır. Yılmaz Ersel ve Solak (2005), ülkemizde yetişen *Russula* türleri üzerine çalışma yapmış ve yeni bir *Russula* türünü kayıt altına almışlardır. Yine aynı yıl içerisinde *Hydnellum* cinsi için yeni bir kayıt ve kontrol listesi hazırlamışlardır. Yılmaz vd. (2005), Türkiye için yeni bir makrofungus türü kayıt altına almışlardır. Allı vd. (2006), Aydın yöresi zehirli mantarları hakkında bilgi vermişlerdir. Doğan ve Karadelev (2006),

Pyrofomes demidoffii ve *Antrodia juniperina* parazit türlerinin ekolojileri ve dağılımları hakkında bilgi vermişlerdir. Allı vd. (2007), Aydın yöresi makrofungusları hakkında bilgiler vermişlerdir.

Bu tarihten sonra ülkemizde mantarların antimikrobiyal, sitotoksik, mutajenik aktiviteleri ile ilgili çalışmalar artmıştır. Ayrıca mantarların tıbbi özellikleri ve ağır metal tutma ve çeşitli enzimleri üretme kapasiteleri ile ilgili yapılan çalışmalarda da artış olmuştur. Asma vd. (2007), ölü fungal biyokütleyi ağır metalleri temizleme de kullanmışlardır. Duman vd. (2007), bazı makrofungusların antimikrobiyal aktiviteleri üzerine çeşitli çalışmalar yapmıştır. Solak vd. (2007), Türkiye makrofungusları kontrol listesini hazırlamışlardır. Bu kontrol listesine göre ülkemizde 2388 makrofungus taksonu vardır. Ünyayar vd. (2007), *Coriolus versicolor* and *Funalia trogii* türlerinin memeli hücresi üzerindeki sitotoksik ve mutajenik aktivitesini araştırmışlardır. Aytar ve Çabuk (2008), *Trametes versicolor*'un linyit kömüründen kükürt tutma kapasitesi üzerinde çalışma yapmışlardır. Demir ve Yamaç (2008), bazı Basidiomycetes türlerinin, basidyokarplarının antimikrobiyal aktiviteleri üzerine çeşitli çalışmalar yapmışlardır. Helfer (2008), Güneybatı Asya mikotası hakkında bilgi vermiştir. Kuru ve Yeşilada (2008), *Funalia trogii* türünden lakkaz enzimi üretimi gerçekleştirmiştir. Sesli ve Denchey (2008), Türkiye'de yetişen Myxomycetes, Ascomycetes ve Basidiomycetes türleri için kontrol listesi hazırlamışlardır. Buna göre ülkemizde 2033 takson belirlenmiştir. Bu taksonlardan 219'u Myxomycetes, 135 Ascomycetes ve 1679'u ise Basidiomycetes sınıfındandır. Gürsoy vd. (2009), bazı *Morchella* türlerinin antioksidan aktiviteleri, metal, total fenolik ve flavonoid içeriklerini araştırmışlardır. Türkoğlu vd. (2009), Türkiye de Denizli yöresinde meydana gelen *Gyromitra* zehirlenmesi hakkında bilgi vermişlerdir. Kalyoncu vd. (2010), bazı yabancı makrofungus türlerinin antimikrobiyal aktiviteleri üzerinde çalışmalar yapmıştır.

2.2 Mantar Sistematığı

Mantar sistematığı, mantarların birbirine çok benzer olması, duplikasyon gibi sebeplerden dolayı oldukça karmaşıktır. Şimdiye kadar sınıflandırmada kullanılan farklı yöntemlere göre farklı sınıflar ortaya çıkmışsa da şu anda Chytridiomycota,

Oomycota, Zygomycota, Ascomycota ve Basidiomycota şubeleri bütün bilim adamları tarafından kabul edilmektedir (Alexopoulos vd., 1996; Bowman vd., 1992).

Bununla birlikte moleküler filogenetik çalışmalara göre yine kısmen sorunlu olmakla beraber mantarlar Blastocladiomycota (James vd. 2006), Zygomycota (White vd. 2006), Neocallimastigomycota, Chytridiomycota (James vd., 2006), Glomeromycota (Redecker ve Raab 2006), Basidiomycota ve Ascomycota şubelerine ayrılırken bazı bilim adamları mantarları; Chytridiomycota, Zygomycota, Ascomycota, ve Basidiomycota şubelerine ayırmıştır. Myxomycota, Dictyosteliomycota, Acrasiomycota ve Plasmodiophoramycota şubelerini de protistalardan türemiş polifiletik şubeler olarak kabul etmişlerdir. Stramenoplia ise Oomycota, Labyrinthulomycota, ve Hyphochytridiomycota şubelerini içermektedir (Tamer vd., 2008).

2.3 *Gyromitra* Cinsi

2.3.1 Habitat özellikleri ve deskripsiyonu

Beyine veya türbana benzeyen askokarp şekilleriyle doğada kolaylıkla tanınmaktadır. Kuzugöbeğine benzediğinden dolayı “sahte kuzugöbeği” olarak bazen de “derviş” olarak adlandırılmaktadır. Kuzugöbeğine habitatına benzer ortamlarda ilkbahar aylarında büyümektedirler. Eğer ortamda kuzugöbeği varsa çok iyi bir araştırma sonucunda *Gyromitra* türlerinden biri bulunabilir. Cins üyeleri özellikle kozalaklı ağaçlardan oluşan ormanlarda büyümektedirler. Renkleri beyazımsı, sarımsı kahverengiden koyu kahverengiye kadar değişebilir. Hatta kırmızıya, siyaha varan tonlarda olabilmektedir. Halk arasında özellikle haşlanarak veya yumurta ile karıştırılarak pişirilir ve yenir. Bazı türleri nadiren bulunurken, bazıları oldukça fazla sayıda bulunabilir. Ülkemizde sıcaklığa bağlı olarak şubat ayında batı kesimlerde, ilerleyen aylarda ise daha yüksek kesimlerde büyümektedirler. Suya oldukça fazla ihtiyaç duyan bir cins olup sıcak ve kurak ortam şartlarında varlığını devam ettiremezler. Anadolu’da özellikle batı kesimlerde pazarlarda kilosu 20 TL’ye alıcı bulabilmektedir.

1981 yılında Dennis tarafından fruktifikasyon organlarına bakılarak yapılan çalışmada *Gyromitra*, *Discina*, *Helvella* ve *Rhizina* cinsleri, Helvellaceae familyasına

dâhil edilmiştir (Spooner, 2003). Pezizales takımının ribozomal DNA çalışmalarına göre *Gyromitra esculenta* ve diğer sahte moreller Helvellaceae'nin diğer üyeleri ile çok uzak akraba iken *Discina*, *Pseudorhizina* ve *Hydnotrya* cinslerine daha yakın akrabadır. Bu nedenle bu cinsler Discinaceae familyasına dahil edilmişlerdir (O'Donnell vd., 1997). *Gyromitra* cinsi *Helvella* cinsine çok yakın bir cinstir. Hatta bilim adamları bu cinsin *Helvella*'nın bir varyantı olabileceğini düşünmüşlerdir. Ancak buna rağmen cins ayrı bir takson olarak kabul edilmiştir. Saccarado'ya göre *Verpa*, *Helvella*, *Gyromitra* ve *Morchella* sistematik kategoride aynı seviyededir (Morse 1945). Ayrıca Pezizomycetes sınıfının moleküler filogenetik çalışmaları sonucu Discinaceae, Morchellaceae ve Tuberaceae familyalarının birbirine yakın akraba oldukları belirlenmiştir (Hansen ve Pfister, 2006).

Gyromitra cinsi içinde bulunan türler gyromitrin (Asetaldehit –N-metil-N-formalhidrazin) adı verilen ve pişirildiğinde buharlaşan zehir içerirler. Gyromitrin ilk defa List ve Luft tarafından (1967) tarafından tanımlanıp sentezlenmiştir. Bu tür zehir formu sadece bu cinse özgü olup gyromitrin sendromuna sebep olur. Ancak buna rağmen ülkemizde özellikle Batı Anadolu'da (Türkoğlu vd., 2009) ve dünyada halk tarafından yemeklik olarak toplanmakta ve hatta pazarlarda satılmaktadır (Benjamin, 1995; Berger ve Guss, 2005).

2.3.2 Zehir bileşiği

Bu mantarların esas zehir bileşiği olan gyromitrin mantar pişirildiği zaman veya midede asit etkisiyle metilformalhidrazine, (MFH) sonrasında monometilhidrazine (MMH) dönüşür (Pyysalo ve Niskanen, 1977). Metilformalhidrazin her ne kadar gyromitrinden daha stabil olsa bile yine de uçucudur. Monometilhidrazinlerin sitotoksik zehirli ve alkilleme aktivitelerinin olduğu bilinmesine rağmen, endüstride bazı maddelerin sentezinde iyi bir aracı olması ve roket yakıtında kullanılan bir madde olması sebebiyle hala üretilmektedir (Andrary ve Privat, 1985). Monometilhidrazinlerin kaynama noktası çok düşüktür ve son derece zehirli olup kolayca alevlenebilir ve patlayıcıdır. Bu sebeple taşınırken dikkatli olunmalıdır (Arshadi vd., 2006).

Gyromitra cinsi içerisinde dünyada en yaygın olarak bulunan tür *Gyromitra esculenta* olup bu sebeple toksisite üzerine yapılan çalışmalarda daha çok bu tür

kullanılmıştır. Bu tür içerisinde dokuz çeşit toksin vardır. Bunlardan en önemlisi gyromitrindir ve toplam toksik bileşenlerin % 88'ini oluşturmaktadır. Kalan kısmını ise yine gyromitrin ile homolog olan ve etil grubunun alkil grubu ile yer değiştirmesi sonucu oluşan toksik bileşenler oluşturmaktadır (Pyssalo ve Niskanen, 1977). Tipik bir örnekte 40-732 mg/kg (yaş ağırlık) gyromitrin varlığı bildirilmiştir. Pratikte *Gyromitra* cinsi içerisinde bulunan mantarların gyromitrin içeriğini azaltan çeşitli metotlar bulunmaktadır. Bunlar kurutma ve kaynatarak pişirmedir. Mantarın oda sıcaklığında 1-3 hafta arasında kurutulması gyromitrin miktarını % 50 oranında azaltmaktadır. Bu sürenin altı ay kadar uzatılması halinde gyromitrin miktarında % 6 oranında ekstra bir düşüş kaydedilmiştir (Andary vd., 1984). Bu mantarlar birkaç yıl saklansalar dahi zehirlerinin tamamen uçmadığı, pişirilerek yenilirse zehirlenmelere sebep olabileceği bildirilmiştir (Rumack ve Salzman, 1978; Andary vd., 1984; Nagel vd., 1977). Mantar bol miktarda suda kaynatılarak pişirildiğinde içerisinde bulunan gyromitrin miktarının % 99.5 oranında azaldığı tespit edilmiştir. Ancak kalan % 0.5'lik dilim kanser sebebi olabilmektedir. Bunlardan başka patentli alınmış gyromitrin miktarını daha fazla düşürebilen bir başka yöntem daha keşfedilmiştir (Magnusson, 2000). Ancak bu yöntemde de degradasyon ürünleri tam olarak belirtilmemiş olup bu ürünlerin toksik olup olmadığı konusunda şüpheler vardır (Arshadi vd., 2006).

Mantarların farklı kısımlarının gyromitrin içeriği farklı miktarlarda olabildiği gibi aynı yöreden toplanan farklı örneklerde, farklı lokalite ve sitelerde büyüyen örneklerde de farklı olabilmektedir (Benjamin, 1995; Michelot ve Toth, 1991). Yapılan deneylerde bu mantarların saplarının içerdiği MMH miktarı şapka kısmını içerdiği MMH miktarının yaklaşık iki katıdır. *Gyromitra* cinsi içerisinde bulunan mantarlarda da genelde sapın şapkadan büyük olduğu unutulmaması gereken bir durumdur. *Gyromitra* cinsi türlerinde yükseklik arttıkça içerisindeki toksin miktarının düştüğü tespit edilmiştir (Benjamin, 1995). Buna göre orta yükseklikteki lokalitelerden (900-1200 m) toplanan mantarların (200-350 mg MMH/kg) çok yüksek lokalitelerden (2200 m) toplanan mantarlara (50-60 mg MMH/kg) göre 5-6 kat daha zehirli olduğu tespit edilmiştir. İleride yapılacak olan fizyolojik araştırmalar bu mantarların içerdiği hidrazinlerin farklı olmasına sebep olan ekolojik ajanların tespit edilmesinde yardımcı olabilecektir (Andary ve Privat, 1985).

Bu mantarlar kanserojen özellikleri olduğu bilinmesine rağmen hala toplanıp yenildiğine göre bu mantarda bulunan gyromitrin miktarının belirlenmesi önemli bir konudur (Arshadi vd., 2006). Bununla birlikte ilk zamanlarda kullanılan metotlar spesifik değillerdi ve çok zahmetliydi (Andersson vd., 1993; Cathum vd., 1998). Ayrıca gyromitrin miktarını belirlemek için çok miktarda örnek gerekiyordu (Arshadi vd., 2006) . İsviçre ulusal besin idaresinin kullandığı metot (Andary vd., 1984) olan thin-layer kromatografisi ve spektrofotometrisi total hidrazin miktarını vermesine rağmen spesifik bir metot değildir. Metilhidrazinin elektrokimyasal oksidasyonuna dayanan başka bir metot da yine çok zaman gerektiren ve bütün laboratuvarlarda yararlanılamayan bir yöntemdir (Slanina vd., 1993). Daha başka bir metot ise GC-MS tekniğidir. Bu metotta mantar içerisinde bulunan tüm gyromitrin metilhidrazine çevrilir ve pentafluorobenzol klorid (PFB-Cl) ile yakalanarak daha stabil olan tris-pentafluorobenzol metilhidrazine (tris-PFB-MH) çevrilir (Rutschmann ve Buser, 1991). Kullanılan bu son metot ile % 10 oranında daha duyarlı sonuçlar elde edildiği bildirilmiştir (Arshadi vd., 2006).

G. esculenta zehirlenme derecesinde varyasyonlar olduğu da bilinen konular arasındadır. Yani LD₅₀ hayvan türlerine göre olağanüstü derecede varyasyon göstermektedir. Örnek olarak gyromitrinin LD₅₀'si farelerde 344 mg/kg iken tavşanlarda bu miktar 50-70 mg/kg'dir. İnsanlarda bu oran ise 30-50 mg/kg'dir (Wright vd., 1978; Pyysalo, 1975; Schmidlin-Meszaros, 1974). Monometilhidrazinin (MMH) insanlardaki LD₅₀ 'si tam olarak saptanamamıştır. Ancak toksisitenin sebebinin bozularak MMH forma geçen gyromitrin olduğu bilinmektedir (Wright vd., 1978). Vücuda giren gyromitrinin % 35'inin MMH forma dönüştüğü bilinmektedir. Buna göre MMH LD₅₀'si insanlarda çocuklar için 1.6-4.8 mg/kg iken yetişkinler için bu doz 4.8-8 mg/kg'dir (Andrary ve Privat, 1985). Ayrıca letal doz ile zararlı doz arasında miktar olarak çok az fark vardır. Maymunlarda LD₅₀ 7 mg/kg iken 5 mg/kg kusmalara sebep olmaktadır (Back ve Pinkerton, 1967).

Bununla birlikte *Gyromitra* zehirlenmeleri doğu Amerika'da daha yaygınken, Batı Amerika'nın kayalık dağlarında daha az olduğu tespit edilmiş (Benjamin,1995; McKenny ve Stuntz, 1987; Spoerke ve Rumack,1994) ve bu sebeple Batı Amerika'da yetişen *Gyromitra esculenta* türlerinin daha az zehirli olduğu düşünülmüştür (Benjamin, 1995).

Zehirlenmenin kişiden kişiye değişmesi, genetik olarak MMH ve MFH asetilasyonu arasındaki farklardan kaynaklanabilmektedir. Ayrıca cinsiyet, yaş ve metabolizmanın genetik detoksifikasyon kapasitesinin yanında, mantarların içerdiği toksin miktarı da önemlidir.

2.3.3 Zehirlenme

Mantar tüketildikten sonra 6-12 saat içerisinde zehirlenme belirtileri görülmeye başlar. Nörolojik ve gastrointestinal sistem üzerinde etki eder. Zehirlenme olması için mantarın yenmesine gerek yoktur. Gyromitrin uçucu bir zehir olduğundan dolayı mantarın pişirilmesi esnasında solunan havadan da zehirlenme gerçekleşebilir (Bresinsky ve Besl, 1990). Semptom şiddeti kişinin kendisini kötü hissetmesinden ölüme kadar değişebilir. Gastrointestinal fazda yorgunluk, şişkinlik hissi, baş ağrısı, baş dönmesi, karın ağrısı, kusma, sulu ve kanlı ishal, dehidratasyon ile kendini belli eder. Sonraki safhalarda düşük kan basıncı ve krampları görülür. Hafif zehirlenmelerde belirtiler gastrointestinal safhadan ileri gitmez ve 2-6 gün arasında hasta iyileşmeye başlar (Mat, 2000).

Daha ağır vakalarda belirsiz geçen latent periyottan sonra hepatorenal evre başlar. Bu dönemde ikterus, hemoglobinüri, anüri, büyümüş ve basınca duyarlı karaciğer ve nöbet tutması görülür. Bununla beraber eksitasyon, yüksek sesle ağlama, delirium, papillada genişleme, kaslarda seğirme, tonik-klonik konvülsiyonlar görülür (Mat, 2000). Konvülsiyonların sebebi monometilhidrazinin GABA yapımını inhibe etmesidir. GABA bir nörotransmitter inhibitörüdür ve vücuda bir uyarı geldiğinde sinirlerin hepsinin birden uyarılmasını engeller. Bu safhada karaciğerde nekrozlar oluşur. Bütün bu belirtilerden sonra kollaps ve solunum durması ile 2.5-3 gün içerisinde ölüm gerçekleşir.

2.3.4 Sistematığı

Âlem	: Fungi
Şube	: Ascomycota
Sınıf	: Ascomycetes
Takım	: Pezizales

Familya : Discinaceae
Cins : *Gyromitra*

2.3.5 Türleri

Şimdiye kadar teşhisi yapılan 69 kadar *Gyromitra* taksonu varken bunlardan 7 tanesi kabul edilmiştir. Kabul edilen bu taksonlar şunlardır: *Gyromitra ambigua*, *G. gigas*, *G. infula*, *G. esculenta*, *G. bubakii*, *G. leucoxantha* ve *G. tasmanica*'dır

Yapılan klasik sistematik çalışmalara göre ülkemizde *Gyromitra* cinsi 5 taksonla temsil edilmektedir. Bu türler; *G. esculenta*, *G. gigas*, *G. ambigua* ve *G. infula*'dır. *Gyromitra esculenta*'nın ise iki adet varyetesi vardır bular *G. sculenta var. esculenta* ve *G. esculenta var. fulva*'dır.

2.3.5.1 *Gyromitra esculenta* (Pers.) Fr.

Gyromitra esculenta ülkemizde Samsun (Öder, 1986), Isparta (Afyon, 1996), Balıkesir (Aşkun, 1997), ve kuzeybatı Anadolu da (Gücin, 1995) yetiştiği tespit edilmiştir. (Mat, 2000). Kumlu topraklardaki çam ormanlarında, bazen bu ormanlar arasındaki açıklıklarda, tıraşlanmış orman alanlarında, ağaç kütükleri civarında, yine çam ormanlarında kabuk soyulup biriktirilen veya talaş biriktirilen yerlerin yakınlarında ya da çalıkların altlarında yetiştiği tespit edilmiştir. İlkbahar aylarında görülürler ve ülkemizde (kuzugöbeği) mantarının yetiştiği yerlerde yaygın olarak bulunur (Mat, 2000).

G. sculenta ilk defa 1800 yılında mikolojist Christian Hendrik Persoon tarafından *Helvella esculenta* olarak isimlendirilmiştir (Persoon, 1800). Günümüzde kabul edilen binominal ismini İskoç mikolog Elias Magnus tarafından 1849 yılında *Gyromitra* cinsi içerisine yerleştirmesi ile almıştır (Fries, 1849). Cins ismini Yunanca gyros (yuvarlak) ve mitra (kafabandı) terimlerinden alınmıştır (Liddell ve Scott, 1980). Yenilebilir (Simpson, 1979) manasına gelen epiteti ise Latince "esculentus" teriminden gelmektedir. Şeklinden dolayı "beyin mantarı" (Arora, 1986), "sarıklı mantar" (Lamaison ve Polese, 2005), "fil kulağı" (Dearness, 1924), "biftek mantarı" (Ammirati vd., 1985) olarak ta adlandırılmıştır.

Beyine benzeyen düzensiz şekilli şapkaları vardır. Şapka 3-8 cm çapında küresele yakındır (Mat, 2000). Şapka rengi kahverengi ve kırmızının farklı tonlarında olabilir (Arora, 1986). Şapka kenarları sap ile tam olarak bir bileşim hattı oluşturmaz. Şapka içerisinde boşluklar vardır ve iç yüzeyi beyazdır. Sap 2-6 x 1-3 cm boyunda şapkaya göre kısa silindirik veya toprağa doğru genişleyen yapıdadır. Sapın iç kısmı tamamen boş veya yer yer odacıklıdır. Enine kesitte sap dairesel veya ovaldir. Sapın rengi beyaz veya beyazımsı et renginde ya da kirli kahverengidir. Sporları renksiz ve saydam, uç kısımlarında iki adet damlacığı mevcuttur. Eliptik, uç kısımları bariz bir şekilde obtus, çeperleri düzgün, 15-22 x 9-12 μ dur. Ancak mantarın sporları sabit büyüklükte olmayıp ilk başta küçük olan sporlar zamanla büyümektedirler (Kempton ve Wells, 1973). Spor baskısı krem renklidir. Askus silindirik 100-200 x 15-20 μ ve 8 askosporludur. Parafizler, silindirik, septat, bazıları tabandan çatallanmış, uçları biraz daha enli ve 6-8 μ kalınlıktadır (Mat, 2000).

Türe ait *G. esculenta* var. *esculenta*, *G. esculenta* var. *fragilis*, *G. esculenta* var. *fulva*, *G. esculenta* var. *alba*, *G. esculenta* var. *crispa* ve *G. esculenta* var. *aurantiaca* olmak üzere 6 alt tür vardır (Vooren ve Moreau, 2009).

2.3.5.2 *Gyromitra gigas* (Krombh.) Cooke

Çam ormanlarındaki humuslu topraklarda yetiştiği bilinen bu tür ülkemizde Batı Karadeniz bölgesinde ve Konya yöresinde büyüdüğü tespit edilmiştir. Rengi açık kahverengiden koyu kahverengiye kadar değişik renklerde olabilir. Şapka 4-15 cm çapında, küremsi veya düzensiz yuvarlak-oval, bazen üstten basık şekilli olabilir. Üzeri beyin şeklinde kabaca kıvrımlara sahiptir. Sap 5-10 x 1 cm, kısa, sert, eşit kalınlıkta dip kısma doğru hafif sivri, içi boş veya odacıklıdır. Rengi beyazımsıdır (Phillips, 2006). Parlak renkli şapkaları ile ve apikulat sporları ile kolayca tanınır. Bazı kaynaklara göre sporların uç kısımlarında apiküller bulunmayabilir (Wood, 1971). Sporları renksiz saydam iki ucunda küt uçlu çıkıntılar vardır. Genç sporlar düzgün çeperli iken yaşlı sporlar üzerinde büyük siğil şeklinde yapılar vardır. Spor boyutları (21) 24-36 x 10-15 μ dur. Askus silindirik 280-350 x 25 μ dur ve 8 askospor vardır. Parafizler silindirik septat, tabanda bazı dallanmış, uçları biraz şişkinleşmiştir ve 5-9 μ kalınlıktadır.

2.3.5.3 *Gyromitra infula* (Schaeff.) Boud

Ülkemizde Trabzon–Maça, Artvin – Şavşat ve Eskişehir’de büyüdüğü tespit edilmiştir. Çürüyen kütükler üzerinde yetişir. Yaz aylarından sonbahar aylarına kadar humuslu topraklar üzerinde yetişir. Nadir bulunan türlerden biridir. Kırmızı listeye eğilimlidir. Fruktifikasyon organları büyüklük ve renk açısından *G. esculenta*’yı andırır.

Şapka uzun ve düzensiz bir şekilde katlanmıştır. 3-8 cm aralığındadır. Renk tarçın renginden koyu kahverengiye kadar değişir. Sap 1-6 cm uzunluğunda ve 2 cm kalınlığındadır. Sap bazen düzensiz şekilli olabilir. Sap ortasında bir boşluk vardır.

Sporlar 19-23 x 7-8 μ boyutlarında elips şeklinde düz ve iki adet büyük yağ damlacığı içerir. Askuslar 300-325 x 18 μ ’dur (Phillips, 2006).

2.3.5.4 *Gyromitra ambigua* (P. Karst.) Harmaja

Ülkemizde sadece Erzurum-Şenkaya civarındaki sarıçam ormanlarında kütüklere yakın yerlerde ilkbahar ve yaz aylarında büyüdüğü tespit edilmiştir. Nadir büyüyen türlerimizden biridir.

Piskopos şapkasını andıran şekli vardır. Beyin şeklindeki kıvrımları yoktur. Renk lavanta renginden açık menekşe rengine kadar değişebilir. 3-8 cm eninde, 2-8 cm yüksekliğinde, eyer biçiminde 2, 3 veya 4 lopludur. Şapka yüzeyi düzensiz veya hafif dalgalıdır. Sap 1-5 x 2 cm, eşit kalınlıkta veya hemen hemen öyle ve içi boştur. Eti beyazımsı, kırılğan, incedir. Tadı tatlımsıdır. Askosporlar 22–33 (37) \times 7,5–12 μ m’dir. Askus silindirik 250-330 x 10-20 μ ’dur ve 8 askosporludur (Mat, 2000).

2.3.5.5 *Gyromitra leucoxantha* (Bres.) Harmaja

Ülkemizde bulunmayan *Gyromitra* türlerinden biridir. Tek tek veya topluluk halinde çöp, odun yığınları üzerinde daha çok konifer ormanlarda yaşar. 2-6.5 x 1-3.5 cm boyutlarında, düzensiz kubbe şeklinde, himenyum turuncu kahverengiden parlak turuncu kahverengiye kadar değişir. Kuru şekli parlak kırmızı kahverengidir. Mantarın üst kısmı dalgalı-kırıktır. Dış kısmı beyaz renkten solgun kahverengiye kadar değişir. Yüzey hafif tüylü, düz veya baş kısmında birkaç kıvrım vardır. Sap

genelde belirgin 25 x 15 mm, substrat içerisine gömülü, parlak, şapka ile birleşik, beyaz-soluk kahverengi, tüylü, oluk şeklindedir. Askuslar 19.1-22.3 µm genişliğindedir. Parafizler 6.4-9 µm kalınlığında, dip kısımdan uç kısma doğru derece derece kalınlaşır. Askosporlar 25.9-31.1 x 11.1-13.9 µm, hyalin, pürüzlü retikülerdir (Abbott ve Currah 1997)

2.3.5.6 *Gyromitra bubakii* Velen.

Ülkemizde bulunmayan *Gyromitra* türlerinden biridir. *G. esculenta*'ya benzemesi sebebiyle *G. esculenta* alttürü, dahası sinonimi olarak ta kabul edilmektedir. Ancak spor boyutları *G. esculenta*'dan farklılık göstermektedir. *G. esculenta*'nın spor boyutu maksimum 29.5 mm kadarken *G. bubakii*'nin spor boyutları 20-35.5 mm arasında değişmektedir. İnce uzun perisporyumları vardır (Huhtinen ve Ruotsalainen, 2004).

2.3.5.7 *Gyromitra tasmanica* (Berk.) Berk. & Cooke

Ülkemizde şimdiye kadar varlığı tespit edilemeyen *Gyromitra* türlerinden biridir. Boyları 4-6 x 2-3 cm arasında değişmektedir. Düzensiz şekilli, girintili-çukurlu, himenyum kahverengi, şapkanın iç kısmı beyaz renkli ve şapka serbest şekillidir. Sap kalın, silindirik, 2-3 x 0.3-1 cm, düz ve beyaz renklidir. Askuslar subsilindirik, 200-250 x 11-14 µ. Sporlar sıra halinde, elipsoid veya uzun elipsoid, düz, hyalin ve her iki uca yağ damlacığı vardır. Sporlar 21-26 x (9.7)10-13 µ civarındadır. Parafizler silindirik, tokmak şekilli ve uç kısımları koyu kahverengidir. *G.esculenta*'ya çok benzeyen bir türdür. Ancak boyları küçük olması sebebiyle farklı bir tür olarak kabul edilmiştir (Raitviir, 1965).

2.4 Moleküler Sistemik

1960 yılına kadar, sistemik karakter olarak daha çok morfolojik, anatomik ve davranışsal varyasyonlar kullanılıyordu. Ancak bu tarihten sonra biyolojik makromoleküller evrimsel ve sistemik çalışmalarda daha etkin rol almaya başlamışlardır. Proteinler, moleküler sistemik çalışmalarında ilk olarak kullanılan

makromoleküllerdir. Bu teknikte türler arası protein varyasyonlarına bakarak sistematik çalışmalar yapılmıştır. İlk uygulamalarda tür içinde ve türler arasında protein varyasyonunu açığa çıkarmak için protein elektroforezi ve histokimyasal boyama kullanılmıştır. Protein çalışmalarında izoenzim ve alloenzim elektroforezleri en sık kullanılan yaklaşımlardandır. Ancak yöntemin zor ve pahalı olması ayrıca daha fazla bilgi verici yeni yöntemlerin bulunmasıyla bu yöntemler daha az kullanılır hale gelmiştir. Aminoasitlerin kompozisyonu ve aminoasit dizisi de aynı zamanda farklı türleri kıyaslamak için kullanılmıştır ve etkili bir yöntemdir (Bremer, 1988).

Günümüzde ise sistematikte morfolojik, anatomik ve davranışsal karakterler hala geçerliliğini korumakla beraber moleküler filogenetik yaklaşımlar hızla yaygınlaşmaktadır (Kellogg, 1998). Bu çalışmalar DNA dizilerinin karşılaştırılmasıyla (Ro vd., 1997) ve filogenetik analiz metodlarının kullanılmasıyla (Podoplelova ve Ryzhakov, 2005) sistematığe katkı sağlamaya başlamıştır. Günümüzde DNA dizilerinin karşılaştırılması canlıların coğrafik orijinlerinin bulunmasından (Allan vd., 2004) filogenetik akrabalıklarını moleküler düzeyde ispatlamaya kadar (Cohen ve Weydmann, 2005; Ogden ve Whiting, 2005) birçok alanda kullanılmaktadır. Ayrıca bazı DNA dizilerinin filogenetik analizleri, organizmaların filogenetik akrabalıklarıyla çelişmeyen sonuçlar verdiği gözlemlenmiştir (Kellogg, 1998; Podoplelova ve Ryzhakov, 2005; Ro vd., 1997; Savolainen vd., 2000). DNA baz dizilerinin karşılaştırılması yoluyla filogenetik değerlendirmelerin yapılması özellikle morfolojik karakterlerin yetersiz olduğu zamanlarda oldukça faydalı bulunmuştur (Yokoyama vd., 2000).

Moleküler filogenetik çalışmalar mantarların orijinlerinin belirlenmesinde (Blackwell vd., 2006), hangi zaman diliminde diğer canlılar âleminden ayrıldığını tespit etmede (Taylor ve Berbee 2006) ve birbirleriyle akrabalık derecelerinin saptanmasında da başarıyla kullanılmıştır (James vd. 2006). Ayrıca mantarların kökenlerinin belirlenmesinde yapısal ve biyokimyasal karakterlerde kullanılmıştır (Celio vd. 2006).

Moleküler filogenetik çalışmalar özellikle sibling türlerin ayrılmasında ve yeni bulunan türlerin sistemattikteki kategorilerinin belirlenmesinde anlamlı bilgiler sunmaktadır. Geçmişte morfolojik karakterlere dayalı olan klasik sistemattikle yapılan sınıflandırma bazı hatalar içerebilmektedir. Bu durumun sebebi morfolojik

karakterlerin yetersiz oluşudur. Morfolojik karakterler (renk, koku, büyüklük vs.) türün bulunduğu ortama göre belirli sınırlar içerisinde değişebilmektedir. Ancak DNA'nın ortam şartlarına göre değişmesi gibi bir durum söz konusu değildir. DNA dizileri türe özel olması sebebiyle, her bir baz sistematikte karakter olarak kullanılabilir ve türlerin sistematik kategorilerinin belirlenmesinde daha güvenilir sonuçlar elde edilebilir.

Ancak bütün canlı gruplarında olduğu gibi bitkilerde ve mantarlarda da henüz, güvenle kullanılabilecek evrensel diğer bir deyişle standart bir DNA dizisi mevcut olmayıp daha çok taksonomik gruplara özel DNA dizileri (belirteçler) ya da birden fazla DNA dizisi kullanılmaktadır. Mesela angiosperm filogenisi için kloroplast DNA'sı (Graham ve Olmstead, 2000), mitokondriyal DNA (Qui vd., 1999) veya çok tekrarlı nükleer ribozomal DNA (Aceto vd., 1999) kullanılmaktadır. Bunlardan ITS bölgesi (ITS1+ITS2+5.8S geni) çekirdeğe ait ribozomal DNA'nın (nrDNA) en çok çeşitlilik gösteren bölümüdür (Schweizer vd., 2005) ve bitki filogenetiğinin yeniden yapılanmasında önemli bir lokus olarak bilinir. Ayrıca ITS dizilerinin kloroplast veya mitokondriyal DNA dizilerine göre, cins içinde veya yakın cinsler arasındaki filogeniyi araştırmada daha uygun olduğu tespit edilmiştir (Baldwin vd., 1995).

Bitkilerin filogenetik analizlerinde moleküler belirteç olarak daha çok nükleer ribozomal DNA'nın ITS bölgesi (Bellarosa vd., 2005; Froslev vd., 2005; Liu vd., 2002), kloroplast DNA'sı (Brauchler vd., 2005; Graham ve Olmstead, 2000; Lee ve Wen, 2004; Soltis vd., 1997), mitokondriyal DNA (Markova vd, 2007; Lymberakis vd, 2007)'sı ve ADH (Small ve Wendel, 2000), RPB2 ve PRK gibi nükleer genler kullanılmaktadır (Loo vd., 2006; Oxelman vd., 2004). Mantarlarda ise moleküler belirteç olarak yine daha çok nükleer ribozomal DNA'nın ITS bölgesi (Taylor ve Berbee, 2006), ayrıca rpb1, rpb2, tef1, (Hibbett, 2006) EF-1 α , ATP6, β - tubulin (Sugiyama vd., 2006) genlerinin baz dizileri ve mitokondriyal DNA (Moncalvo vd.,2006) dizileri kullanılmıştır.

2.4.1 Moleküler belirteçler

DNA'da meydana gelen kırılmalar, ters dönmeler, parça kopmaları hatta tek bir baz değişimi dahi polimorfizme sebep olur bu durum ise genleri, ifade ettikleri ürünleri, ürünlerin düzenlenmesini, biyokimyayı, gelişmeyi, morfolojiyi, davranışı

etkiler. DNA’da meydana gelen bu mutasyonlar canlıların fenotipik ve genotipik olarak farklılaşmanın temel sebebidir (Britten, 1986). Bu varyasyonları tespit amacıyla, sitolojik veriler, izoenzimler, tohum depo proteinleri gibi biyokimyasal işaretleyiciler ve restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi (RFLP), rasgele çoğaltılmış polimorfik DNA (RAPD-PZR), basit dizi tekrarları (SSR), çoğaltılmış parça uzunluk polimorfizmi (AFLP) gibi moleküler işaretleyiciler başarıyla kullanılmaktadır (Stuber,1992). Ayrıca tek zincir konformasyon polimorfizmleri (SSCP), minisatellitler (VNTR) ve dizi analizi yöntemi de (Gülbitti Onarıcı ve Sümer, 2003) kullanılmaktadır.

Biyokimyasal tekniklerden biri olan sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE) canlılar arasındaki protein düzeyinde farklılığı kolayca tespit etmeye olanak sağlamasından dolayı oldukça geniş bir kullanım alanına sahiptir. Tohum depo proteinlerinin tür içi ve türler arası genetik çeşitliliğin analizinde, genetik kaynakların korunması ve ıslah çalışmalarında, genom ilişkilerinin belirlenmesinde, mahsullerin geliştirilmesinde genetik işaretleyici olarak kullanılmaktadır. Elektroforezle elde edilen tohum depo protein profilleri pek çok türün taksonomik ve filogenetik problemlerini çözmekte kullanılmaktadır. Çünkü elde edilen bant desenleri her tür için özel ve doğrudan doğruya genotipe bağlıdır. SDS-PAGE’den başka türler arasındaki protein varyasyonlarını belirlemek amacıyla izozim ve allozim çalışmaları, ayrıca aminoasit dizi farklılıklarında kullanılmıştır.

Moleküler sistematik ve bitki genom haritalarının çıkartılmasında rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA polimeraz zincir reaksiyonu (RAPD-PZR) başarıyla kullanılmaktadır (Burr, 1994; Welsh ve McClelland, 1990). RAPD yöntemi, tek, kısa ve rastgele oligonükleotid primerler kullanarak DNA dizilerinin çoğaltılması esasına dayanır. Bu yöntem duyarlı, hızlı ve çok sayıda örneğe uygulanabilen bir tekniktir. Bu primerler genetik işaretleyici olarak ve özgün nükleotid dizi bilgilerine gerek duymadan polimorfizmi belirlemede kullanılabilir (Wough ve Powell, 1992).RAPD yönteminin RFLP ve izozimlere göre birçok avantajları vardır. Bu yöntem yoğun laboratuvar çalışmaları ve Southern transferler, filtre hibridizasyonları, otoradyografi gibi pahalı yöntemler gerektirmez. Herhangi bir genomik kütüphane oluşturulmasına gerek duymaz. RFLP analizlerinde olduğundan çok daha az miktarda genomik DNA’ ya ihtiyaç duyulur. RAPD yöntemi izozimlerden farklı olarak genom boyunca

sınırsız sayıda işaretleyici elde edilmesini sağlar. Ayrıca türler arası ve tür içinde, RFLP ve izozimlerin sağladığından çok daha fazla polimorfizm belirler (Whitkus vd., 1994).

Bir moleküler belirteç için istenilen özellikler şu şekilde sıralanabilir:

- 1- Polimorfik olmalı,
- 2- Kodominant olmalı,
- 3- Genom boyunca dağılım göstermeli,
- 4- Kolay uygulanabilir olmalı,
- 5- Kolay ve hızlı analiz edilebilmeli,
- 7- Tekrar edilebilmeli,
- 8- Çevre ve diğer lokuslardan etkilenmemeli,
- 9- Evrensel olmalı
- 10- Elde edilen veriler laboratuvarlar arasında kolayca değiştirilebilmelidir (Parlak, 2007).

Moleküler belirteçler temel olarak ikiye ayrılır. Bunlar protein ve DNA tabanlı belirteçlerdir. Protein tabanlı belirteçlerde sistematik çalışmalarda protein kullanılırken, DNA tabanlı belirteçler ise sistematik çalışmalarda DNA ve baz dizileri kullanılır.

2.4.1.1 Proteine dayalı belirteçler

Proteinler makromoleküller olup farklılıkları elektroforezle belirlenerek sistematik çalışmalarda kullanılmaktadır. Bu metod sistematikçiler arasında oldukça popülerdir (Crawford, 2000).

Protein elektroforezine dayalı metodlar protein bilgilerinin iki temel formu olan izoenzimler (izozimler) ve allozimler üzerine odaklanır. İzozimler aynı işi gören, fakat birbirinden aminoasit dizisi, substrat afinitesi veya düzenleme özellikleri bakımından farklılık gösteren bir enzimin çoklu formlarıdır. Farklı genler tarafından kodlanan proteinler farklı moleküler formlar içerirler (Lehninger, 1993; Nelson ve Elisens, 1999). Allozimler aynı gen tarafından oluşturulan farklı protein ürünleridir. Allozimler için izozimlerin bir alt kümesidir diyebiliriz (Buth, 1984). Bu proteinler şekil, büyüklük veya benzer faktörlerden dolayı jelde farklı şekilde göç ederler. Böylece her iki form da bitkilerde sistematik ve filogenetik çalışmalar için

kullanılabilir (Carey ve Ganders, 1987; Max vd., 1999). İzozim ve allozim çalışmaları sayesinde heterozigotlar ve homozigotlar belirlenebilir. Buradan elde edilecek sonuçlar populasyonların kıyaslanmasında bilgi verici olabilmektedir (Crawford ve Ornduff, 1989; Gottlieb vd., 1985). Elektrofrezden elde edilen genetik bilgiler doğrultusunda, genleri kıyaslanan örneklerin aynı veya farklı gen havuzlarında olup olmadığını belirlenebilir. Ayrıca farklılığın boyutu da belirlenebilir.

Farklı fenotiplere sahip normal ve anormal proteinler jelde farklı hareket edeceklerdir. Eğer bir protein molekülünde bir aminoasit yer değiştirmişse, bu değişim proteinin net yükünü etkileyeceğinden konfomasyonel değişime neden olabilir. Bu durum proteinlerin jelde farklı elektroforetik hızda ilerlemesine neden olur. Belirli bir enzimi kodlayan DNA bölgesindeki bazı mutasyonlar, özellikle nokta mutasyonları allozim alleli oluşturabilir. Bu yeni allel ilk başta popülasyonda çok düşük bir frekansta görülür. Ancak dölden döle aktarım esnasında bunların ifade oranları artabilir. Populasyonlarda yeni ve rastgele oluşan veya kaybolan alleleler bize bu populasyonlar içerisindeki varyasyonların düzeyi hakkında bilgi verir (Buth, 1984). Protein elektroforezi proteinlerin kimliği hakkında bilgi vermez ancak proteinlerin büyüklükleri hakkında bilgi verir. Aynı elektroforez koşulları altında beraber hareket eden proteinler büyük olasılıkla benzerdir.

Elektroforetik metotlar moleküler büyüklük, net yük, alt ünitelerinin sayısı, alt ünitelerinin moleküler büyüklükleri, moleküler şekilleri, izoelektrik noktaları veya bu faktörlerin bileşimleri ile ayrılmalarına sebep olur. Farklı tipte proteinlerle çalışmak için farklı elektroforetik metotlar geliştirilmiştir (Parlak 2007).

2.4.1.2 DNA'ya dayalı belirteçler

Sistematik çalışmalarında kullanılan ve temelinde DNA molekülündeki polimorfizmden yararlanan çeşitli moleküler yöntemler vardır. Bunlar;

2.4.1.2.1 DNA Hibridizasyonuna dayalı belirteçler

2.4.1.2.1.1 RFLP (Restriction fragment length polymorphism)

Restriksiyon enzimleri DNA'yı kesen enzimlerdir. Bu enzimler DNA'yı keserken DNA üzerinde tanıdıkları belli başlı diziler vardır. Bu dizilerde meydana gelecek değişiklikler DNA restriksiyonunun başarısızlığı ile sonuçlanır. DNA dizilerinin türe özel olması sebebiyle restriksiyon işlemi türden türe değişim gösterebilir. Bu sebeple restriksiyon enzimleri ile kesilen farklı türlere ait genomik DNA elektroforezde farklı bantlar verebilecektir (Resta vd., 1996; Xu vd., 2001). Restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi (RFLP), DNA üzerinde bulunan RE kesim bölgeleri nükleotitlerinde meydana gelen değişimler sonucu oluşan polimorfizme dayalı bir analiz yöntemidir. RE kesim bölgelerinin değişmesi türlerin kıyaslanması için oldukça kullanışlı bir bilgi sunar. Kesilen DNA parçaları agaroz veya poliakrilamid jel elektroforezinde büyüklük esasına göre ayrılır. Jeldeki örnekler uygun bir boyama tekniğiyle görünür hale getirilir. Genellikle jellerdeki DNA nitro-selüloz veya naylon membranlar üzerine transfer edilir. DNA parçaları, jelin alkali ortamda ısıtılmasıyla denature edilir ve nitro-selüloz zar üzerine transfer edilerek radyoaktif olarak işaretlenmiş DNA probunun bulunduğu solüsyona daldırılır. Parçalarla probun hibridizasyonu otoradyografi ile açığa çıkartılır.

Restriksiyon parça uzunluk analizleri (RFLP) günümüzde kara bitkilerinin evrimsel gelişiminde hem tür içinde hem de türler arasında, ayrıca moleküler sistematik çalışmalarda kullanılan popüler bir metottur. Tarım sektöründe şimdiye kadar üreticiler bitkileri birbirinden ayırmada daha çok fenotipik karakterleri kullanıyordu. Bu durum istenen türün seçilmesinde sıkıntılar oluşturabiliyordu. RFLP bağlantı haritalarının, RFLP belirteçleri ile oluşturulması sonucu bu işlem çok daha kolay hale gelmiştir (Tanksley vd., 1989). Çok kısa bir zamana kadar, kloroplast DNA'sı (cpDNA) ile yapılan RFLP çalışmaları taksonomi ve filogeni çalışmalarında kullanılsalar da, tür içi sınıflandırmada uygun olamayan genetik belirteçler olarak geçiyorlardı. 2001 yılı verilerine göre son beş yılda en az yirmi adet çalışma cpDNA-RFLP'nin filocoğrafya, hibrit bölgeler, ve angiospermler ile ilgili çalışmalarında güvenle kullanılabileceğini göstermiştir (Re'Mi vd., 2001). RFLP metodu ile genetik harita oluşturmak mümkündür. Bu sayede populasyon içinde veya populasyonlar arasında tespit edilen varyasyonlar filogeni oluşturmak

için kullanılabilir. RFLP tekniğinin avantajları; Güvenilirdir. Farklı laboratuvarlarda ve farklı araştırmacılar tarafından aynı sonuçlara ulaşılabilmektedir. RFLP belirteçleri kodominant özellikte oldukları için heterozigotların belirlenmesinde ve karakterizasyonlarında kullanılmaktadırlar. Orta düzeyde polimorfizm göstermektedirler. Dezavantajları; Analizleri pahalı, fazla zaman alıcı ve çok fazla iş gücü gerektirmektedir. Çoğu durumlarda yaygın olarak radyoaktif etiketleme yöntemi kullanılmaktadır. Çalışmalarda radyoaktif maddelerin kullanılması sağlık açısından sorun oluşturmakta ve kullanımını azaltmaktadır.

2.4.1.2.1.2 VNTR (Variable number of tandem repeat) (Mini satellites)

Mini-satellitler (VNTR) genellikle 9-100 baz çiftinden oluşur. Bu diziler genom boyunca birçok defa tekrar gösterirler. VNTR dizileri restriksiyon enzimleri ile kesilip, southern blot tekniği ile görüntülediği zaman, ortaya bir bant örneği çıkar ve bu profil türden türe farklılık gösterir. Bu oluşan örnek, bir tür için mutasyon olmamışsa her zaman aynıdır. Eğer ortada bir mutasyon varsa bu mutasyonlar arasındaki evrimsel mekanizmaları anlamak taksonlar ve nesiller arasındaki ilişki olasılığını belirlemek açısından oldukça önemlidir. Bu yöntem için oldukça az miktarda DNA yeterlidir ve oldukça fazla polimorfizm gösterir. Bu açıdan oldukça kullanışlıdır (Pearson vd., 2007).

2.4.1.2.2 PZR'ye dayalı metotlar

2.4.1.2.2.1 RAPD (Randomly amplified polymorphic DNA)

RAPD (Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA) tekniği, ilk defa 1990 yılında Williams ve arkadaşları tarafından uygulanan, polimeraz zincir reaksiyonunu (PZR) temel alan, rastgele seçilmiş primerlerin kullanıldığı bir metottur. Aynı yıllarda Welsh ve McClelland tarafından bulunan AP-PZR (Arbitrarily Primed PZR) ile birbirine çok benzerdirler ve terminolojide genellikle RAPDs olarak geçer. Çok kullanışlıdırlar çünkü bir organizmanın sahip olduğu birçok gen hakkında çabucak bilgi alınabilir. RAPDs'in kullanım amacı iki organizmanın yakınlık derecesinin belirlenmesidir. Pratikte bilinmeyen organizmanın daha önce karakterize edilen organizma ile kıyaslanıp tanımlanmasına yardımcı olur (Clark, 2005). Yöntemde 9-

10 bç uzunluğunda primer setleri kullanılır ve bu oligonükleotid özgün bölgelere rastgele bağlanarak çoğaltma yapar. Kullanılan primerler, evrensel primer setleridir. Primerler DNA üzerinde eşleniği olan kısma bağlanarak ilgili diziyi çoğaltır. Bu yöntemde çoğaltılan yeni dizilerin baz sırası önemli değildir. Önemli olan oluşan bantların sayısıdır. Elde edilen amplifikasyon ürünü agaroz jel elektroforezinde yürütülür ve EtBr boyaması ile UV'de gözlemlenir. Sonuç itibariyle görünen ve görünmeyen bantlar kıyaslanarak filogenetik akrabalık düzeyleri belirlenir. Çünkü oluşan her bant benzerliği ifade ederken farklı olan her bant farklılığı ifade eder. Bu durumun sebebi kullanılan her primerin DNA üzerinde kendine spesifik diziyeye bağlanmasıdır. Farklı bantların olması ise DNA'nın birbirinden farklı olduğunun kanıtı olacaktır. Ancak RAPD çalışmalarında işlem birkaç defa tekrar edilip kesin olan bantlara göre değerlendirme yapılmalıdır. Bu analizden elde edilen amplifikasyon ürünlerinin polimorfizm göstermesi genetik belirteç olarak kabul edilmesine sebep olmuştur. Bu teknik heterozigotluk veya homozigotluk hakkında bir bilgi vermez, uygulaması kolaydır (Babalola, 2003).

Radyoaktivite gerektirmemesi ve çok az miktarda DNA'nın yeterli olması gibi özelliklerinde dolayı gen haritalarının çıkartılmasında oldukça sık kullanılmaktadır (Malyshev ve Kartel, 1997). RAPDs yönteminin diğer yöntemlere göre çeşitli avantajları vardır. Yoğun laboratuvar çalışmaları ve Southern transferler, filtre hibridizasyonları, otoradyografi gibi pahalı ve radyoaktif maddelerin kullanıldığı deneyler içermemesidir. Az miktarda DNA deneylerin yapılabilmesi için yeterlidir. Her defasında ayrı primer dizayn etmeye gerek yoktur. Primer setleri evrenseldir. Çalışılan takson genleri hakkında bir ön bilgi gerektirmez. Ayrıca türler arası ve tür içinde, RFLP ve izozimlerden daha fazla polimorfizm gösterdiğinden daha fazla bilgi vericidir (Babaoğlu vd., 2004). Dezavantajı; tekniğinin reaksiyon koşulları oldukça hassas olması ve reaksiyonu etkileyen oldukça fazla sayıda parametre varlığıdır. Bu yüzden, bir bandın varlığı, deney birkaç defa tekrar edilip kesinleştirildikten sonra karşılaştırmada kullanılmalıdır. Ayrıca bu yöntemde heterozigotlar teşhis edilemez.

2.4.1.2.2.2 SSCP (Single strand conformation polymorphism)

Tek zincir konformasyon polimorfizmi (SSCP) analizinde hedef DNA işaretlendikten sonra yine işaretlenmiş nükleotidler kullanılarak ilgili gDNA veya

cDNA PZR ile çoğaltılır. PZR ürünleri poliakrilamid jel elektroforezi ile denatüre edilerek çözülür. DNA üzerinde olmuş olan mutasyonlar DNA'nın primer ve sekonder yapısının değişmesine sebep olur. Mutasyon içeren DNA molekülü tek baz bile farklı olsa normal diziden değişik bir yapı oluşturacağından farklı yerlerde bantlaşma gözlenecektir. DNA'nın bu özelliğinden yararlanarak DNA üzerinde oluşmuş olan mutasyonlar, bantların jel içerisinde farklı hızda hareket etmesiyle kolaylıkla belirlenebilecektir. Bu yöntemde yapılan bütün işlemler hızlı ve basittir. Mutasyonu içeren allel otoradyografi ve dizilerin teşhisi için tekrar çoğaltılarak daha ayrıntılı bir şekilde incelenebilir. Bu metot ile birkaç yüz baz çifti uzunluğundaki DNA zincirindeki tek bir bazlık değişim kolayca teşhis edilebilmektedir. Diğer yöntemler bu kadar ayırt edici değildir ancak 20 bç'lik zincirde meydana gelen bir baz değişimi teşhis edilebilmektedir (Hayashi, 1991). Bu yöntemin avantajı nokta mutasyonlarının kolaylıkla bulunabilmesine olanak sağlamasıdır. Bu yöntem sayesinde işlemler daha kısa zaman diliminde yapıldığı gibi maddi kayıpta daha azadır.

2.4.1.2.2.3 SSR (Simple sequence repeats, microsatellites)

Ökaryot genomunda bulunan basit dizi tekrarlarıdır. İşlevi tam olarak bilinmeyen ancak düzenleyici özelliğe sahip olduğu düşünülen 2–6 nükleotitten oluşan gruplara mikrosatellit denir. Oldukça polimorfik olduklarından bitkilerde yüksek oranda bilgi verirler. Mikrosatellit DNA tekrar sayısının kişiye özel olduğu düşünülmektedir (Schlötterer 2000). Bu durum sistematik çalışmalarda mikrosatellit DNA'ları daha kullanışlı hale getirmiştir. Yüksek oranda korunmuşlardır ve bu sayede PZR ile amplifikasyona müsaitlerdir. Bu özelliklerinin yanında ko-dominant yapıları ve Mendel kurallarına uymaları mikrosatellitleri aranılan moleküler belirteçler arasına sokmuştur (Okogbenin vd., 2006)

SSR primerlerinin üretiminde genel olarak 3 farklı yaklaşım tercih edilmektedir. Bunlar; I. Genomik DNA kütüphanelerinin SSR oligonükleotidleri ile hibridizasyonu yolu ile gözlemlenmesi, II. DNA veri bankalarında SSR'ların araştırılması, III. Akraba bitki türlerinde geliştirilmiş olan SSR için spesifik primerlerin kullanılmasıdır.

Tekrarlanan bir dizi klonlanır ve bu tekrarlanan diziyi çevreleyen nükleotidler belirlenir. Bu bölgelere uygun primerler yapılır. Basit dizi tekrarları kodominant belirteçler olup her bir lokusta çok sayıda allel bulunur. Dizi analizi gerektirir, Tekniğin dezavantajı oldukça fazla iş gücü gerektirmesi, uzamanlık isteyen zor ve pahalı bir yöntem olmasıdır. Ayrıca yeni belirteç geliştirilmesi için genomik DNA klonlarının tekrarlanan oligonükleotid içeren problarla hibridizasyon yolu ile bulunması, nükleotid dizilerinin belirlenmesi ve yan yana tekrarlanan yapıların başlangıç ve bitiş yerlerine özel primerlerin geliştirilmesi gerekmektedir (Parlak, 2007).

2.4.1.2.2.4 AFLP (Amplified fragment length polymorphism)

Çoğaltılmış parça uzunlukları polimorfizmi (AFLP) RAPDs tekniğinin dezavantajlarını gidermek için geliştirilmiştir. PZR ile RFLP tekniğinin kombinasyonudur. AFLP tekniği total genomik DNA'nın restriksiyon enzimleri ile kesilmesinden sonra restriksiyon fragmentlerinin seçici PZR amplifikasyonu temeline dayanır. İşlem 3 basamakta başarılıdır. Birinci basamakta total DNA restriksiyon enzimleri ile kesilir ve restriksiyon fragmentlerinin uç kısmına adaptör oligonükleotitler takılır. İkinci basamakta restriksiyon fragmentlerinin seçici amplifikasyonu yapılır. Bu işlem her iki uçtan DNA restriksiyon enzimlerinin tanıdığı diziden sonraki ilk nükleotide göre seçici çoğaltımın yapıldığı, ön üretim ve asıl üretimde ön üretimden elde edilen parçaların kullanımı ile kesim enzimi tanıma yerinden sonraki 2. ve 3. nükleotidler için seçici üretim yapılması ile gerçekleştirilir. Üçüncü basamakta ise çoğaltılan fragmentlerin jelde analizi yapılır. Bu metotta çok sayıda ve güvenilir bant elde edilmesine rağmen üretilen bantların sekans bilgisi hakkında bilgi elde edilemez. Tipik olarak 50-100 bant elde edilir ve poliakrilamid jelde denatüre edilerek analizi yapılır. Bu teknik DNA kaynağı ve kompleksliği önemli olmaksızın, yeni ve çok güçlü bir DNA parmak izi tekniğidir (Vos vd., 1995). Bu tekniğin önemli bir avantajı, kullanılan primer çiftinin 3' ucundaki seçici bazların değiştirilerek veya değişik kombinasyonlar kullanılarak her defasında yeni parçaların klonlanmasıdır. Sonuçta ürünler jelde yürütülerek görüntülenir ve polimorfizm elde edilir. Jel üzerinde elektroforez uygulanır. Böylece polimorfizm elde edilir. Kantitatif lokusların saptanmasına olanak sağlar. Ayrıca bu teknik ile heterozigot ve homozigot

bireyler arasındaki farklılık tespit edilebilmektedir. Ancak yüksek moleküler ağırlıklı ve saf DNA'ya ihtiyaç olması tekniğin dezavantajlarından (Gülşen ve Mutlu 2005). Başka bir dezavantajı ise çoğunlukla dominant belirteç vermesidir. Ancak son zamanlarda kodominant belirteç te verdiği bildirilmiştir. RAPD'den yavaş RFLP'den hızlı olup, masraf, işgücü ve güvenilirlik açısından RAPD ile RFLP arasındadır.

2.4.1.2.2.5 Dizi analizi yöntemi (Sequencing)

DNA dizi analizi biyolojide sistematik için yeni bir yaklaşımdır. Yeni olmasına rağmen filogenetik akrabalıkları belirlemek için en fazla kullanılan moleküler tekniklerden biridir (Alverson vd., 1999). DNA dizi analizi için iki ana metot vardır. Bunlar; Maxam Gilbert ve kimyasal metot ile Sanger dideoksi ve enzimatik metottur. İkinci metot en fazla kullanılan metottur. Her iki metotun temelinde de baz dizilerinin belirlenmesi vardır. Sanger metotunda birinci basamak olarak PZR yapılıır. Radyoaktif olarak işaretlenmiş primerin 3¹-hidroksil grubu yeni bir DNA zinciri oluşturmak için deoksinükleotid trifosfat (dNTP) ile reaksiyona girer ve nükleotidler arasında yeni fosfodiyester bağı oluşturulur. Dideoksinükleotid trifosfat (ddNTP) nükleotidlerden iki oksijen atomunun çıkarılması ile elde edilmiş yeni nükleotidler olup bu nükleotidler zincir oluşturmak için kullanıldığında kendisinden sonra gelecek nükleotidle 3¹- hidroksil grubu eksikliği sebebiyle bağ kurulamayacak olup yeni DNA sentezi duracaktır. Bu sebeple yeni sentezlenen DNA zinciri farklı konumlarda sonlanacaktır. PZR ürünleri poliakrilamid jelde denatüre edilerek birbirinden ayrılır ve otoradyografi ile görüntülenir (Gülbitti Onarıcı ve Sümer 2003).

DNA dizi analizi günümüzde otomatik olarak yapılabilen ve binlerce nükleotidlik dizi birkaç saat içerisinde belirlenebilmektedir. Avantajları; DNA dizilerindeki bilgilerin filogenetik analizlerde karakter olarak kullanılması fragment analizlerinden daha fazla (Hillis ve Dixon 1991) bilgi vericidir. Çünkü DNA canlının en fazla korunmuş materyalidir ve ortam şartlarından kolaylıkla etkilenmeyecektir. Ayrıca DNA dizi analizinde elde edilecek karakter sayısı oldukça fazladır. Dezavantajları; hem daha fazla işgücü hem de para gerektirmesidir (Lehninger vd. 1993). Ancak son yıllarda bu problemin üstesinden de gelinmiştir.

2.4.2 Moleküler filogenide kullanılan DNA çeşitleri

Moleküler sistematik çalışmalar, filogenetik akrabalıklar hakkında oldukça anlamlı bilgiler vermesi sebebiyle özellikle son yirmi yılda hızlı bir şekilde gelişmiştir. Ancak bütün canlıların moleküler filogenisinde kullanılan ortak bir DNA dizisi henüz mevcut değildir. Angiospermilerin moleküler filogenisi ile ilgili çalışmalar kloroplast DNA'sı (Graham ve Olmstead, 2000; Savolainen vd., 2000) mitokondriyal DNA (Qui ve Lee, 1999) ve yüksek oranda tekrarlı nükleer ribozomal DNA (Soltis vd., 1997) ile yapılan çalışmalarda anlamlı bilgiler elde edilirken, mantarlarda moleküler belirteç olarak yine daha çok nükleer ribozomal DNA'nın ITS bölgesi (Taylor ve Berbee, 2006), SSU, ayrıca rpb1, rpb2, tef1, (Hibbett, 2006) EF-1 α , ATP6, β - tubulin (Sugiyama vd., 2006) genlerinin baz dizileri ve mitokondriyal DNA (Moncalvo vd.,2006) dizilerinden anlamlı sonuçlar elde edilmiştir.

2.4.2.1 Mitokondriyal DNA

Mitokondriyal DNA (mtDNA) mitokondri içerisinde bulunan, halkasal DNA molekülüdür ve organizma genomunun küçük bir kısmını oluşturmaktadır. Mitokondri için gerekli olan protein ve enzimlerin kodlarını taşır. Mitokondriyal DNA son otuz yıldır hayvan moleküler filogenisinde kullanılan popüler belirteçlerden biridir. Mitokondri, endosimbiyotik teoriye göre ayrı bir canlı olup proto-ökaryot hücrenin simbiyontu olarak kabul edilmektedir. Yaklaşık 1.5-2 milyar yıl önce ortaya çıkmıştır ve ardından genlerinin büyük bir kısmını hücrenin çekirdeğine aktarmıştır. Nükleer DNA'yı kodlayan nükleer-sitosolik sistem mitokondriyal genleri şifreler ve mitokondriyal sistem de şifrelenen genlerin ifade edilmesini sağlar.

Mitokondriyal DNA anne tarafından kalıtılır. Replikasyonu yarı korunumludur. Mitokondriler kısmen otonomdur ve hücre bölünmesinden bağımsız olarak bölünebilirler. Sayısı hücrenin enerji ihtiyacına göre değişir. Bu sebeple kas hücrelerinde sayıları daha fazladır. Mitokondri sayısının birden fazla olması hücre için bir avantajdır, çünkü mitokondride meydana gelen bir mutasyon onun işlevini bozar bu durumda işlevi bozulan mitokondriden kaynaklanan eksikliği diğerleri doldurur. Hücredeki mitokondri sayısının artması, alternatif mitokondrilerin

bulunması sebebiyle mtDNA' da oluşacak mutasyon sıklığını arttırır. Ayrıca mtDNA'nın oluşan mutasyonlara karşı tamir mekanizması çok fazla gelişmemiştir. Bu durum aynı hücre içerisinde hem mutant hem de normal mtDNA bulunmasına sebep olur. mtDNA üzerinde oldukça önemli genler bulunmaktadır ve bu genler çok yüksek oranda korunmuş evrensel dizilere sahiptir. Bu sebeple mutasyonlar kodlama yapan dizilerde meydana gelirse, organizma için ölümcül olabilir. Moleküler filogenide kullanılan mtDNA dizileri ise kodlama yapmayan bölgede bulunurlar. mtDNA kontrol bölgesinde bulunan yüksek mutasyon oranı ve homoplasi güvenilir bir sınıflandırma ve doğru zamanlama yapmanın önünde bir engel gibi görülebilir. Dolayısıyla mtDNA'nın tamamının dizisinin çıkarılması filogenetik analizler için en iyi çözüm olacaktır (Torrioni vd., 2006) mtDNA'da özellikle cyt b, cyt c, CR genleri ve son zamanlarda da COX1 mtDNA dizisi moleküler sistematikte başarıyla kullanılmaktadır (Ratnasingham ve Hebert, 2007; Perdices vd., 2004)

Birkaç canlı grubundan mtDNA dizilerinin tamamının elde edilmesi bu genom için uygun evrensel primerlerin geliştirilmesine olanak sağlamıştır. Dizayn edilen bu primerler genomu bilinmeyen başka türlerin mtDNA dizilerine ulaşmamıza olanak sağlamıştır. Ayrıca yakın akraba türlerin ve populasyonların homolog genlerinin ve mtDNA dizilerinin karşılaştırılmasına olanak sağlamıştır.

Hayvan mitokondriyal DNA'sında iki set evrensel primer ribozomal genler için kullanılırken iki set evrensel primer de protein kodlayan genler için kullanılmıştır. Ribozomal genler için dizayn edilmiş olan primerler, tür ve tür altı kategoriler için yeterli derecede varyasyon içeren filogenetik açıdan kullanışlı olan mtDNA dizilerinin çoğaltılmasına olanak sağlar. mtDNA'ların boyutunun küçük olması ve yüksek oranda korunmuş yapısının olması populasyonlar, türler ve daha üst taksonomik seviyelerin evrimsel ilişkilerini belirlemede oldukça uygun DNA oldukları için tercih edilen belirteçlerden biridir (Su vd., 1999).

Mitokondriyal DNA dizilerinin genetik belirteç olarak tercih edilmesinin sebebi hücre içerisinde çok kopyalı olarak bulunması ve bu sebeple çoğaltılmasının kolay olması, özellikle hayvanlar arasında korunmuş diziler içermesi ve bu sebeple evrensel primerlerin dizayn edilmesi, çok az duplike olması, doğal populasyonlar arasında yüksek düzeyde varyasyon göstermesi, sebebiyle genetik yapısı araştırılan yeni bir

türün sistematik kategorisinin belirlenmesinin en uygun ve en ucuz yoludur (Galtier vd., 2009).

2.4.2.2 Kloroplast DNA'sı

Kloroplastlar plastidlerin ışııkta oluşun ve fotosentez yapabilen çeşididir. Plastidler içerisinde en fazla kloroplast DNA'sı üzerinde çalışma yapılmıştır. İlk defa 1960'lı yıllarda tespit edilmiştir. Halkasal bir DNA olup 120-160 kb uzunluğundadır ve üzerinde 60-80 gen taşımaktadır. cpDNA yarı korunumlu olarak kendini eşler ve anne tarafından kalıtılır. Çok fazla kodlanmayan bölge içermediği için nükleer genoma göre çok daha yavaş evrimleşmiştir (Soltis vd., 1997).

Yüksek bitkilerde cpDNA'nın aynı kloroplast içerisinde çok sayıda kopyası bulunabilir. Bununla birlikte bir bitki hücresinde birden fazla (20-100) kloroplast bulunabilir. cpDNA ile çekirdek DNA'sının sistemi birbirinden oldukça farklıdır. Ancak bitkilerde fotosentezden sorumlu genler hem çekirdek DNA'sı hem de ctDNA'sı üzerinde bulunmaktadır. cpDNA farklı türlerde farklı miktarlarda G+C içermektedir.

Kloroplast DNA'sı ile yapılan moleküler sistematik çalışmalar daha çok ribilose-1,5-bisphosphate carboxylase (rbcL rubisco) gibi çok iyi tanımlanmış genler üzerinde yapılmaktadır (Soltis vd. 1990). rbcL gen dizisi analizi bitki filogenisinde cins ve daha üst taksonomik seviyeler için iyi bir yardımcı kaynaktır. Ayrıca rpoC1 ve rpoC2 (Liston, 1992), trnK (Ohta vd., 1992), ATP (Leu vd., 1992), ve trnL (Mubumbila vd., 1993) genlerinin dizileri de sistematik amaçlı kullanılmışlardır. ndhF geninin dizisi ise sistematik çalışmalarda familyalar arasındaki ilişkiyi belirlemek için kullanılmıştır. cpDNA ile RFLP analizleri de yapılmıştır.

2.4.2.3 Çekirdek DNA'sı

Bölünmenin belirli evreleri hariç genelde kromozomal yapıda bulunur. Poliploidi olmazsa, herhangi bir türün DNA oranı bireyleri ve dokuları arasında hiç değişmeden nesiller boyunca sabit kalır. Ancak hücrenin bölünmeye hazırlandığı zaman diliminde interfazın S safhasında, oluşacak yavru hücrelere eşit miktarda genetik materyal verebilmek için, iki katına çıkar. Genom büyüklüğü farklı organizmalar

arasında çeşitlilik gösterir. Bu, çekirdek genomunun kayda değer sistematik ve filogenetik bilgi verebileceğini gösterir. Fakat bazı durumlarda bilgiyi analiz etmek zor olabilir. Ancak hayvanlar âleminde memeliler, kuşlar ve sürüngenler, bitkilerde ise açık tohumlularda türler arası genom farkı oldukça azdır. Buna rağmen angiospermlerde başarıyla kullanılmaktadır. (Özcan vd., 2001)

Çekirdek genlerin kalıtımı çift ataya aittir. Haploid genomdaki toplam DNA miktarına “C değeri” adı verilir. Bu değer farklı türler arasında büyük varyasyonlar gösterebilir. Toplam DNA'nın %5-10'undan daha azı proteinleri kodlamak için gereklidir. Çekirdek genomundaki bu fazlalığa C-değeri paradoksu adı verilir.

Çekirdek genomu içerisinde rRNA'ları kodlayan tekrarlı rDNA üniteleri moleküler sistematik çalışmalarında en fazla kullanılan DNA parçasıdır. Bu diziler populasyon içi ve populasyonlar arası polimorfizm gösteren ve kodlama yapan, birbirinden uzak taksonları karşılaştırmada kullanılabilir, yüksek oranda korunmuş dizileri içine alan çekirdek genomudur (Hillis ve Dixon, 1991). Ökaryotik rDNA üniteleri genom boyunca rastgele organize olmuştur ve 5000 kadar kopyası bulunabilir. Tekrarlayan her bir ünite 18S rDNA, 28 S rDNA, SSU (small subunit, küçük alt ünite), LSU (large subunit, büyük alt ünite) ve 5.8 S rDNA bölgelerinden oluşmaktadır. Kodlama yapan bölgeler ETS (external transcribed spacers, dış transkribe olan boşluk) ve NTS (non-transcribed spacer, transkribe olmayan boşluk) adı verilen iki boşlukla birbirinden ayrılırlar. 5.8 S rDNA geni ise ITS adı verilen iki boşluk arasında bulunur. Bunlar diziler ITS1 ve ITS2 (internal transcribed spacers, iç transkribe olan boşluk) dizileridir (Hwang ve Kim, 1999)

Çekirdek genomunda her DNA dizisinden bir tane bulunabileceği gibi, çok sayıda hatta milyonlarca bulunabilir. Genomda tek kopyası bulunan bu dizilere tek kopya veya eşsiz-kopya DNA dizileri denir. Çok sayıda kopyası bulunan DNA dizilerine tekrarlı DNA dizileri denir. Tek kopyalı ve tekrarlı dizilerin oranı genom kompleksliğini gösterir. Çünkü tek kopyalı diziler diğer tüm dizilerden farklıdır ve sayılarının çok olması genomun kompleks olduğunu işaret eder (Gülbütti-Onarıcı ve Sümer, 2002).

Filogenetik amaçlar için yapılan DNA-DNA hibridizasyon çalışmalarında, farklı türlerin DNA'ları belirtilen koşullarda hibridleşirler ve bu türler arasındaki benzerlikler araştırılır. Bu teknikte çekirdek genomdaki tek kopyalı ve tekrarlı DNA

dizileri kullanılabilir ve hibridizasyon zamanları birbirleriyle karşılaştırılabilir. DNA-DNA hibridizasyonu sırasında tek kopyalı diziler yavaşça birbirlerini bulurken tekrarlı diziler oldukça hızlıdır. Böylece yavaş reaksiyonlar tek kopyalı DNA'ların genomdaki sayısı ile karakteristiktir. Eğer tek kopyalı DNA'nın konsantrasyonu fazlaysa, hibridizasyon reaksiyonları tekrarlı dizilere oranla çok daha uzun bir sürede meydana gelir. Belirli tekrarlı dizileri kromozomlar üzerine yerleştirmek için kullanılan tekniklerden birisi *in situ* hibridizasyondur (Gülbitti Onarıcı ve Sümer, 2003). Bu metot radyoaktif olarak işaretlenmiş DNA parçalarının kromozomlardaki tek zincirli DNA ile hibridizasyonuna dayanır. Otoradyografi, işaretli parçaların kromozomlarda gözlenmesine olanak sağlar.

2.4.2.3.1 İç transkribe olan boşluklar (Internal transcribed spacers, ITS)

Çekirdeğe ait DNA parçasıdır. Kodlanmayan iki değişken bölgeden meydana gelen ITS bölgesi, oldukça korunmuş küçük alt birim (SSU) ile 5.8S alt birimi arasında (ITS1 bölgesi) ve de büyük alt birim (LSU), rRNA genleri ile 5.8S alt birimi arasındaki bölgede (ITS2) yer almaktadır. ITS-1 ve ITS-2 bölgeleri ribozomal transkripsiyonel ünitenin birer parçası olsa da bu diziler olgun ribozomların yapısına katılmazlar. ITS bölgesinin her iki tarafında da korunmuş diziler vardır böylece, evrensel primerler kullanılarak çoğaltılıp dizi analizleri yapılabilir. İç transkribe olan boşluk (ITS) sayısız sistematik çalışmada çok geniş bitki çeşidinde cins ve tür seviyesinde kullanılmıştır. ITS bölgesi 4 temel nedenle funguslarda moleküler karakterizasyon çalışmaları için özellikle kullanışlıdır (White vd., 1990; Bruns vd., 1991)

1. ITS bölgesi nisbeten küçüktür (500-800 bp) ve evrensel tek bir primer çifti ve bu primerlerin modifiye edilmiş formları kullanılarak PZR ile kolaylıkla çoğaltılabilir.
2. rDNA birimlerinin çok sayıda tekrarlarının olması nedeniyle, yoğunluğu çok düşük olan veya degrades olmuş DNA izolatlarından dahi ITS bölgesi kolaylıkla çoğaltılabilir.
3. Korunmuş bölgeler arasında bulunması sebebiyle ITS bölgesinin amplifikasyonu ve dizilenmesi için evrensel primerler kullanılabilir.

4. Farklı türler arasında ITS bölgesi yeterince değişken olabilir ve bundan dolayı ITS-RFLP restriksiyon verileri genetik uzaklığı tahmin etmek için kullanılabilir böylece filogenetik ve sistematik analizler için karakterler sağlayabilir.
5. Homolog olmayan kopyaları nokta mutasyonu ve/veya insersiyon / delesyon (indel) şeklinde bulunabilmekte ve bir türün bireyleri arasında küçük varyasyonlara sebep olabilmektedir.
6. Tür spesifik ITS problemleri, bir kromozomal kütüphane oluşturmaya gerek kalmaksızın hızlı bir şekilde PZR ile üretilebilir. Birçok araştırmacı dizilerin tekrarlayan birimler şeklinde olması ve türler arasında değişken, tür içinde benzer olma eğiliminde olmasından dolayı, türe özgü problemleri geliştirmek için dizileri ITS bölgesinden seçmektedir (Çebi Kılıçoğlu ve Özkoç, 2008).

ITS bölgeleri, nükleer ribozomal RNA'ların (nrRNAs) işlevlerinin düzenlenmesinde belirgin bir role sahiptirler. ITS-1'in (18S-5.8S) belirli bölgelerinde meydana gelen delesyonlar, rRNA'ların küçük ve büyük alt ünitelerinin olgunlaşmasını engellediği belirlenmişken, ITS-2 (5.8S -26S) bölgesindeki belirli delesyonlar ve nokta mutasyonları rRNA'nın büyük alt ünitesinin gelişmesini engellediği gözlenmiştir. Bu durum, bu bölgelerin her ne kadar translasyona uğramasa bile rRNA'lar için önemli bir bölge olduğunun kanıtıdır.

Bu bölgeye özgü primerler fungal rRNA amplifikasyonu için orijinal olarak dizayn edilmiştir ve mantar (*Saccharomyces*), böcek (*Drosophila*), ve bitki (*Oryza sativa* ve *Hordeum vulgare*) dizilerinden köken almıştır (White vd., 1990). ITS-1 ve ITS-2 bölgeleri farklı oranda polimorfizm göstermektedir. Ayrıca iki bölgenin birbirinden ayrı kullanıldığı filogenetik çalışmalar farklı sonuçlar vermektedir. Bu yüzden ITS-1 ve ITS-2 bölgelerinden elde edilen bilgilerin birleştirilmesi ile açığa çıkan sonuçlar daha doğru, sağlam ve tam ağaçlar ortaya çıkarmaktadır (Baldwin vd., 1995).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Örneklerin toplanması ve saklanması

3.1.1.1 Arazi çalışmaları

3.1.1.1.1 Çalışma bölgesinin iklimsel özellikleri

Çalışma bölgesi Ege bölgesinde olup, Akdeniz iklimi görülmektedir. Bu bağlamda yazları sıcak ve kurak olup kışları ılık ve yağışlıdır. Yağışlar genellikle yağmur şeklindedir ve ülkemizin en fazla yağış alan illerinden biridir. İlin hem Akdeniz hem de Ege denizinde kıyıları vardır. Yüzölçümünün % 75'e yakını orman ve fundalıklarla kaplıdır. Ormanların büyük kısmını kozalaklı ağaçlar oluştururken, kıyılarıdaki yamaçlar makilerle örtülüdür. Ormanlarda çoğunlukla kızılçam, karaçam, fıstıkçami, sedir, ardıç ve sığla ağaçları bulunur (Atalay, 1994). Muğla ilinin 1975-2008 yılı arası iklimsel verileri tablo 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.1 Muğla ili 1975-2008 yılları arası ortalama iklimsel veriler (Anonim, 2010)

MUĞLA	Ocak	Şubat	Mart	Nisan	Mayıs	Haziran	Temmuz	Ağustos	Eylül	Ekim	Kasım	Aralık
Ort. Sic. (°C)	5.5	5.8	8.5	12.5	17.7	23.0	26.4	26.0	21.6	16.1	10.2	6.8
Ort. E. Y. Sic. (°C)	10.1	10.7	14.3	18.6	24.4	29.8	33.5	33.4	29.2	23.3	16.2	11.2
Ort.E. D. Sic. (°C)	1.5	1.6	3.5	7.0	11.4	16.3	19.8	19.6	15.1	10.3	5.4	3.0
Ort. Güneşlenme Süresi (saat)	4.1	5.0	6.1	7.1	8.5	10.2	10.7	10.7	9.6	7.4	5.1	3.7
Ortalama Yağışlı Gün Sayısı	13.2	12.3	10.6	9.9	7.6	3.5	1.8	1.5	2.7	5.9	9.8	13.9
Ortalama Yağış Miktarı (kg/m ²)	215.8	165.9	122.4	73.0	49.2	24.0	7.0	8.1	16.6	59.7	164.1	239.6
Uzun Yıllar İçinde Gerçekleşen En Yüksek ve En Düşük Değerler (1975 - 2009)												
En Yüksek Sıcaklık (°C)	18.8	21.2	26.8	30.3	35.7	40.8	42.1	41.0	38.8	34.5	27.6	20.8
En Düşük Sıcaklık (°C)	-7.8	-9.9	-8.5	-3.6	1.0	6.7	11.3	13.2	5.6	0.2	-4.8	-6.8

Arazi çalışmaları Muğla ve ilçelerini kapsayan 4 farklı lokaliteden yapılmıştır. Örnekler, doğal büyüme ortamı olan konifer ormanlardan toplanmıştır. Arazi çalışması yapılan lokalitelerde kuzugöbeği (*Morchella*) mantarının da bulunduğu tespit edilmiştir. Örneklerin, çam yapraklarının arasına gizlendiği dikkat çeken

noktalardan biridir. Arazi çalışması yapılan lokaliteler ve tarihleri aşağıda belirtilmiştir.

- Yaraş köyü : 13 Nisan 2010, 18 örnek
- Yılanlı dağı : 17 Nisan 2010, 15 örnek, 25 Nisan 2010, 31 örnek, 20 Nisan 2010, 23 örnek
- Ula : 2 nisan 2010, 23 örnek, 18 Nisan 2010, 27 örnek
- Fethiye : 7 Nisan 2010, 35 örnek

Belirtilen lokalitelerden toplanan örneklerin her biri ayrı ayrı etiketlenerek, fotoğraflanmıştır. Ayrıca mantarların yetiştikleri ortam şartları, yükseklikleri, yetiştirme periyotları, büyüklüğü, mantarın dış ve iç yüzeyinin düz veya pürüzlü olması, et rengi, et kalınlığı, kıvrıkların sıklığı ve derinliği, üzerinde kütikula benzeri yapıların olup olmaması, parlaklığı, himenyum tipi, sap şekli ve boyutları, daha sonra yapılacak olan tür teşhis çalışmaları için ayrıntılı bir şekilde kaydedilmiştir. Laboratuvar ortamına getirilen örnekler kurutulup saklanmıştır.

3.1.1.2 Mikroskop çalışmaları

Araziden toplanan her bir örneğin ayrı ayrı spor çalışması yapılmıştır. Spor çalışmaları binoküler mikroskop ve % 5'lik KOH kullanılarak yapılmıştır. Spor çalışmalarında KOH kullanımının görüntü kalitesini artırdığı rapor edilmiştir. Sporların enleri ve boyları mikrometrik oküler ile ölçülerek 15-20 ölçümün en küçük ve en yüksek değeri arasındaki aralık belirlenmiş ve sporların ortalama büyüklüğü tespit edilmiştir. Ayrıca her bir örneğin spor şekli, oryantasyonu, çeper kalınlığı ve rengi tespit edilerek teşhiste kullanmak üzere kayıt altına alınmıştır. Sonrasında incelenen her örneğin sporunun fotoğrafı çekilmiştir.

Ayrıca mantarlardan alınan kesitlerle mantarların hif yapıları, parafizleri ve her bir mantarın sahip olduğu askuslarının şekli, eni ve boyu, kimyasal ayraçlara cevap verip vermediği tespit edilmiştir.

Çalışmalarda tür teşhisinde Kempton (1973), Phillips (2006), Breitenbach ve Kranzlin (1984), Hansen ve Knudsen (2000), Dennis (1981) ve Castellano vd.

(2003), Wood (1971), Vooren ve Moreau (2009), McKnight (1971) gibi kaynaklardan yararlanılmıştır.

3.1.2 Moleküler sistematik çalışmaları

3.1.2.1 Kullanılan cam ve plastik malzemeler

Deneylerde kullanılan ısıya karşı dayanıklı cam ve plastik malzemeler ve çözeltiler topluca deneylere başlamadan önce 121 °C 1 atmosfer basınç altında otoklavlanarak steril hale getirilmiştir. İhtiyaca göre bu malzemelerden tekrar otoklavlanarak kullanılmıştır. Isıya karşı dayanıklı olmayan malzemeler kontaminasyonu önlemek amacıyla bir defa kullanılarak atılmıştır.

3.1.2.2 Çalışmada kullanılan kimyasallar

Çalışmada kullanılan tüm kimyasallar Merck, Applichem ve Sigma Aldrich'ten yerli kuruluşlar aracılığıyla temin edilmiştir.

3.1.2.3 PZR'de (Polimeraz zincir reaksiyonu) kullanılan kimyasallar

PZR'da kullanılan kimyasallar Fermentas firması tarafından sağlanmış olup miktarları ve derişimleri tablo 3.2'de gösterilmektedir.

Tablo 3.2 PZR'de kullanılan kimyasallar ve derişimleri

Steril distile su	13 µL
Taq buffer	2.5 µL
MgCl ₂ (25 mM)	1.5 µL
DMSO	1.5 µL
Primer Forward (5 pmol/µL)	2.5 µL
Primer Reverse (5 pmol/µL)	2.5 µL
dNTP (10mM)	0.5 µL
Taq DNA Polimeraz	0.5 µL
Kalıp DNA	0.5 µL

3.1.2.4 PZR’de kullanılan primerler ve özellikleri

PZR reaksiyonlarında kullanılan primerler Integrated DNA Technologies (A.B.D.) firmasından temin edildi. Primerler laboratuara gelir gelmez veya -20 °C buzdolabından çıkarıldıktan sonra yaklaşık 15 sn 12.000 rpm’de satrifüj yapılarak liyofilize halde olan primerler tüpün dibinde toplandı ve 1 ml dH₂O içerisinde çözülerek stok primerler hazırlandı. Her bir primerin son konsantrasyonu 5 pmol olacak şekilde sulandırıldı. Çalışmada kullanılan primerlerin DNA dizileri, erime sıcaklıkları (T_m) tablo 3.3’de verilmiştir.

Tablo 3.3 PZR’de Kullanılan Primerler ve T_m değerleri

Primer	Nükleotid Dizisi(5’-3’)	T _m Değeri
ITS-4	5' TCCTCCGCTTATTGATATGC 3'	52.1 °C
ITS-5m	5' GGAAGGAGAAGTCGTAACAAG 3'	55.0 °C

3.1.2.5 Agaroz jel elektroforezinde kullanılan kimyasallar

Agaroz jel elektroforezinde kullanılan malzemeler tablo 3.4’te belirtilmiştir.

Tablo 3.4 Agaroz Jel Elektroforezinde Kullanılan Çözeltiler ve Özellikleri

Çözelti	Kompozisyonu (1L için)
TBE (5X)	54 gr Tris-Base 27.5 gr Borik Asit 20 ml 0.5 M EDTA (pH:8)
Yükleme boyası	6X mass Ruler Fermentas Cat no:R 0621
DNA Belirteç	1 Kb Gene Ruler Ladder Plus Fermentas Cat no: Sm 1333

3.2 Yöntem

3.2.1 Genomik DNA izolasyonunda kullanılan malzemeler ve yöntemi

Genomik DNA izolasyonu için gerekli kimyasallar Fermantas firmasından temin edilmiş olup izolasyon işlemi sırasında kitte önerilen protokol biraz değiştirilerek

takip edilmiştir. Bu protokole göre genomik DNA izolasyonu aşağıdaki şekilde yapılmıştır.

- 1- Önceden toplanarak etiketlenip kurutulan mantarlardan 100 mg'lik parça alınarak havan içerisinde sıvı azotla toz haline gelinceye kadar ezildi ve 1.5 ml' lik eppendorf tüpe aktarılır.
- 2- 600 µl izolasyon tamponu eklenerek toz haline gelmiş mantar, DNA izolasyon tamponu içerisinde çözülür.
- 3- Üzerine izolasyon tamponu eklenen örnekler 5 dk. vortekslenir veya alt-üst edilir.
- 4- 500 µl fenol/kloroform/ izoamil alkol eklenerek 5dk. alt üst edilir.
- 5- 12.000 rpm'de 5 dk. santrifüj yapılır.
- 6- Süpernatant yeni bir eppendorf tüpe alınarak süpernatant hacminin 1/10 kadar NaAc eklenir ve tüpler alt üst edilir.
- 7- Süpernatant hacmi kadar izopropanol eklenir.
- 8- 1 dk. 12.000 rpm'de santrifüj yapılır.
- 9- Tüm çözelti döküldü ve sadece pellet kalır.
- 10- Pellet 500 µl TE'de çözülür.
- 11- 5 µl RNase A eklenir, alt üst edilir.
- 12- 37 °C'de 30 dk. inkübe edilir.
- 13- 50 µl NaAc eklenip, alt üst edilir.
- 14- % 90'lık 1ml. Etil alkol eklenip, alt üst edilir.
- 15- - 80 °C'de 10 dk. bekletilir.
- 16- 13.000 rpm'de 10 dk. santrifüj yapılır.
- 17- Alkol dökülerek uzaklaştırılır.
- 18- % 70'lik etil alkol 1ml etil alkol eklenir ve DNA'nın çözülmesi sağlanır.
- 19- 12.000 rpm'de 2 dk. santrifüj yapılır.
- 20- Etil alkol uzaklaştırılır ve DNA kurumaya bırakılır.
- 21- DNA 200 µl saf su veya 50 µl TE ile çözülür.

DNA izolasyon işlemlerinin tamamı buz üzerinde gerçekleştirilir. İzole edilen genomik DNA'nın varlığı agaroz jel elektroforezi ile tespit edildikten sonra, kullanılacağı zamana kadar -20 °C'de derin dondurucuda muhafaza edilir.

3.2.2 Agaroz jel elektroforezi

Genomik DNA izolasyonu ve PZR sonuçlarının gözlenmesi için % 0,8'lik agaroz jel hazırlandı. Bunun için 0,4 gr agaroz tartıldı ve 50 ml 0,5 X TBE taponu içinde, mikrodalga fırında kaynatılarak çözüldü. Karışım 60 °C'ye kadar soğutulmuş ve içerisine 4 µl EtBr (Etidyum Bromid) ilave edildi. Önceden tarakları ve kaseti saf su ile temizlenmiş ve +4 °C buzdolabında kurutulmuş olan jel kasetine döküldü ve polimerleşmesi beklendi. Jel polimerleştikten sonra kasetten taraklar çekilerek çıkartıldı. Hazırlanan jel elektroforez tankına yerleştirilip üzeri kaplanıncaya kadar 0.5 X TBE tamponu ile dolduruldu. EtBr DNA'nın jel içerisinde ultraviyole ışık altında görünmesine yardımcı olur. Bu işlem 5µl DNA ve 1µl yükleme boyası karıştırılarak jelde oluşturulan kuyucuklara otomatik pipet yardımı ile yüklenmesi ile başlanır. İlk kuyucuğa moleküler büyüklüğü belli olan bir DNA standardı yüklendi. Örnekler 90 voltta yaklaşık 40 dk. yürütüldü ve elektroforez sonuçları UV transilluminatörde gözlemlendi ve fotoğrafları çekildi.

3.2.3 PZR deneyleri (Polimeraz zincir reaksiyonu)

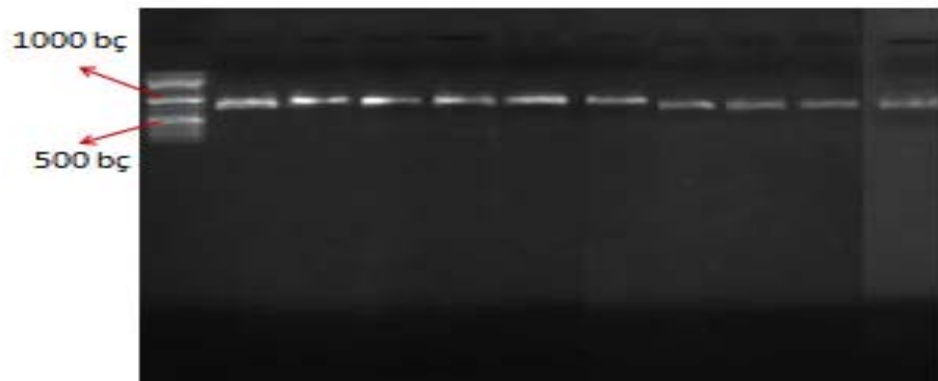
PZR'de toplam reaksiyon hacmi 25 µL olacak şekilde ayarlandı. Bu işlem için her bir PZR tüpüne aşağıdaki bileşenler konuldu. Reaksiyonda ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'), ITS5m (5'-GGAAGGAGAAGTCGTAACAAGG-3') primerleri kullanıldı. Karışım hazırlanırken kullanılan malzemeler aşağıdaki sıra takip edilerek eklendi. PZR'de kullanılacak malzemeler çalışma esnasında buz üzerinde muhafaza edildi.

PZR tüpüne konan bileşenlerin iyice karışması için çok kısa bir süre (1-2 saniye) santrifüjleme yapıldı. Tüpler PZR aletine yerleştirildi. Uygun program seçilerek reaksiyon başlatıldı (Tablo 3.5).

Tablo 3.5 PZR reaksiyonlarında kullanılan program

Ön ısıtma	95 °C	5 dk	1 devir
1. basamak	94 °C	45 sn	40 devir
2. basamak	50 °C	45 sn	
3. basamak	72 °C	2 dk	
4. basamak	72 °C	10 dk	1 devir
5. basamak	4 °C	25 saat	1 devir

PZR reaksiyonlarının sonucunu öğrenmek ve sonuçları çıkan örnekleri değerlendirmek amacıyla PZR ürünlerini % 0.8 lik agaroz jelde 90 voltta 40 dk. yürüttük. Jelde yürütülen örnekler fotoğraflanmıştır (şekil 3.1). Konsantrasyonu uygun düzeyde olan örnekler eppendorf tüpleri içerisine yerleştirilip kapakları güzelce parafilmledikten sonra, PZR'de kullanılan ITS-4, ve ITS-5m primerleri (White vd., 1990) ile birlikte dizi analizi için Refgen'e (Ankara) gönderildi. Primerler her bir örnek için 8 µl olacak şekilde ayarlandı. Bu primerler kullanılarak diziler her iki taraftan da okundu.



Şekil 3.1 PZR Sonuçları jel fotoğrafı

Elde edilen dizi analizi verileri, Windows 95/98/NT/2000/XP için yazılmış olan BioEdit biyolojik dizi sıralama editörü ile kontrol edildi. Sol (5', forward) ve sağ (3' revers) primerler ile okunan diziler eşleştirilerek kontigler oluşturuldu. Her bir örnek için ayrı ayrı oluşturulan bu kontiglerin hepsi bir araya getirilerek genel kontig oluşturuldu. Genel kontigden yararlanarak polimorfik olan bazlar tespit edildi ve doğruluğu ispatlandı. Elde edilen ITS bölgesi nükleotid dizilerinden, PAUP4.0 programı yardımıyla filogenetik ağaçlar oluşturuldu.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Gyromitra cinsi sistematik olarak sorunlu taksonları içermektedir. Çünkü bu cins içerisinde yer alan türlerde morfolojik ve anatomik karakterler türleri birbirinden ayıracak kadar farklılaşmamıştır. Dünya üzerinde bu cinse ait olduğu düşünülen fakat sistematik karakterlerin yeterli olmaması sebebiyle tüm mikologlar tarafından kabul görmeyen 69 kadar *Gyromitra* türü vardır. Bu durum bu grubun sistematik kargaşasının giderilmesinde başka yöntemlerin kullanılması zorunluluğunu doğurmuştur. Bu sebeple morfolojik ve anatomik karakterlerden tür teşhisinden çok birbirine benzer grupların oluşturulmasında faydalanılmıştır. Böylelikle çalışmaların temelini doğrudan tür teşhisi yapma değil farklı grupları ortaya çıkarma işlemi oluşturmuştur.

4.1 Makroskobik ve Mikroskobik Çalışmalar Sonucunda Elde Edilen Veriler

Yapılan makroskobik çalışmalarda gruplama işlemi sistematik karakter olarak mantarın iç ve dış kısmının, sapının rengi, koku, büyüklük, sap uzunluğu ve şekli, şapkanın iç ve dış kısmının düz veya pürüzsüz olması, şapka üzerindeki kıvrımların sayısı ve derinliği, kıvrımların diziliş şekli, şapka üzerinde bulunan tüysü yapılar, parlak bir tabakanın olup olmaması gibi özellikler kullanılmıştır. Kullanılan bu karakterlere göre toplanan örnekler başlıca 10 gruba ayrılmıştır bu gruplar;

1. Grup: Örnekler 8-12 x 4-5 boyutlarındadır. Sap kalın ve uzun olup 5-6 x 1-2 cm'dir. Mantarın taze formunda askokarp kıtır kıtır oldukça gevrek bir görünüm sergilemektedir. Şapka kahverengi renklidir. Diğer örneklerden en bariz farkı kalın ve uzun bir sap taşımalarıdır. Sporlar 19-26 x 9.6-12 µm'dir. Sporlar hafif yeşilimsi renktedir ve hifler septalıdır. Gruptaki örnekler ülkemiz için yeni bir kayıt olan *Gyromitra longipes*'dir. Ancak ikinci grupta yer alan örnekten sapının kalın olması sebebiyle farklı bir morfolojik görüntü sergilemektedir (Huhtinen ve Ruotsalainen, 2004; Vooren ve Moreau, 2009), (Resim 1 a ve b).
2. Grup: Örnekler 7-10 x 3-3.5 cm boyutlarındadır. Askokarp kahverengi renklidir. Sap unumsu renkte olup boyutları 4-6.5 x 1-1.5 cm'dir. Bu mantarı diğer gruplardan ayıran en önemli özellik sap kısmının uzun olmasıdır. Ayrıca

şapka, sap oranı diğer örneklerden oldukça farklıdır. Kısım kısım yanık gibi bir görüntü vermektedir. Şapka gevrek şekilli bir görüntü oluşturmaktadır. Sporlar $16.7-25 \times 9.6-12 \mu\text{m}$ 'dir. Bu gruptaki örneklerde ülkemiz için yeni bir kayıt olan *Gyromitra longipes*'dir.

3. Grup: Gruptaki örnekler $4-5 \times 2.5-3.5 \text{ cm}$ boyutlarındadır. Sap $2-3 \times 0.75-1 \text{ cm}$ 'dir. Mantarın üst kısmında homojen bir renk dağılımı yoktur. Renk, aynı mantar üzerinde koyu kahverengiden açık kahverengiye kadar farklı tonlarında benek benektir. Sanki kısım kısım yanık gibi bir görüntü vermektedir. Sporlar $16.7-21.6 \times 9.6-10.8 \mu\text{m}$ 'dir. Hifler septalıdır. Gruptaki örnekler hem morfolojik hem de mikroskobik olarak oldukça farklı bir görüntü sergilemektedir. Yeni bir tür olabileceği ve daha ayrıntılı çalışmalar yapılması gerektiği düşünülmektedir. *Gyromitra sp.* 1 olarak isimlendirilmiştir (Resim 2 a ve b).
4. Grup: Bu grupta olan mantarlar $5-6 \times 3-4 \text{ cm}$ boyutlarındadır. Sap $2-2.5 \times 1-1.5 \text{ cm}$ olup unumsu renklidir. Diğer örneklerden en önemli farklılığı mantarın şapka kısmı üzerinde tüy şeklinde yapıların olmasıdır. Mantarın koyu kahverengi renkte iken kahverenginin açık tonlarını da içeren benekli bir yapı oluşturmaktadır. Bu gruptaki mantarlar iki farklı tipte spor içermektedir. Her iki tip sporun uç kısmında da yeşilimsi renkte yağ damlacıkları bulunmaktadır. Sporlar $16.7-27 \times 9.6-13.2 \mu\text{m}$ boyutlarındadır. Hifler septalıdır. Gruptaki örnekler mevcut teşhis anahtarları ile belirlenememektedir. Yeni bir tür olabileceği ve daha ayrıntılı çalışmalar yapılması gerektiği düşünülmektedir. DNA dizisi diğer örneklerden farklı bir diziliş sergilemektedir ve *Gyromitra sp.* 2 olarak isimlendirilmiştir (Resim 3 a ve b).
5. Grup: Örnekler $6-9 \times 3.5-4.5 \text{ cm}$ boyutlarındadır. Sap $3.5-5 \times 0.5-1 \text{ cm}$ civarında olup beyaz renklidir. Mantarı diğerlerinden ayıran en önemli özelliklerden biri, kurduğunda mantar üzerinde bariz bir beyaz spor tabakasının oluşmasıdır. Ayrıca kuru örneklerin üst kısmı pul pul dökülmektedir. Sporlar $21.6-26.4 \times 10-13 \mu\text{m}$ 'dir. Hifler septalıdır. Gruptaki mantarlar *Gyromitra esculenta var. fragilis*'tir (Allı vd., 2007), (Resim 4 a ve b).

6. Grup: Örnekler 5-6 x 4-5 cm boyutlarındadır. Sap 3-4 x 0.5-0.6 cm ve kirli beyazdır. Sap üzeri nokta nokta beneklidir. Şapka kırmızı- kahverengi renklidir. Şapka sap ile herhangi bir bağlantı oluşturmamaktadır. Diğer örneklerden ayrıldığı en belirgin nokta mantarın iç yüzeyinin pürüzsüz olması, etli kısmın çok ince, kolayca kırılabilir tarzda olması ve sapın şapka ile tam bir bağlantı oluşturmamasıdır. Sporlar 19-25 x 9-12 μm 'dir. Hifler septalıdır. Gruptaki örnekler ülkemiz için yeni bir kayıt olan *Gyromitra tasmanica*'dır (Vooren ve Moreau, 2009), (Resim 5 a ve b).
7. Örnekler 5-7 x 5-6 cm boyutlarındadır. Sap 3-4.5 x 0.5-0.6 cm'dir ve unumsu renktedir. Sap genelde birkaç kökün birleşmesiyle oluşmuştur. Şapka üzeri çok sayıda ve yüzeysel kıvrım içermektedir. Bu özellikler mantarı diğer gruplardan ayırt etmeye yarayan en belirgin farktır. Mantar kırmızı- kahverengi renklidir. Sporlar 17-24 x 9.6-10.8 μm 'dir. Hifler septalıdır. Gruptaki mantarlar *Gyromitra esculenta var. esculenta*'dır (Allı vd., 2007), (Resim 6 a ve b).
8. Grup: Mantar 7-12 x 4-6 cm boyutlarındadır. Askokarp sarımsı kahverengi renktedir. Sap 4-6 x 1-1.5 cm ve beyaz renklidir. Diğerlerinden en bariz farkı kıvrımların daha az ama daha kalın ve derin olmasıdır. Sporlar (20) 21-26 x 9.5-12 μm 'dir. Hifler septalıdır. Gruptaki mantarlar *Gyromitra gigas*'tır (McKnight, 1971), (Resim 7 a ve b).
9. Grup: Mantar 7-10 x 4-6 cm boyutlarındadır. Sap 3-5 x 0.5-1.5 cm ve beyaz renklidir. Mantar açık sarı, kahverengi renktedir. Sporlar 15-22 x 9-10 μm 'dir. Diğer gruptaki örneklerden en belirgin farkı kıvrımların daha çok ama daha ince ve yüzeysel olması ve sarımsı renkte olmasıdır. Örnek *Gyromitra esculenta var. fulva*'dır. (Vooren ve Moreau, 2009), (Resim 8 a ve b).
10. Grup: Mantar 4-7 x 3-5 cm boyutlarındadır. Sap 3-5 x 0.5-0.8 cm ve beyaz renklidir. Şapka sarımsı kahverengidir. Diğer örneklerden en bariz farklı kıvrımların örülmüş saç gibi güzel bir desen şeklinde görünüyor olmasıdır. Sporlar 16.7-20 (21.6) x 7.2-9.6 μm 'dir. Hifler septalıdır. Gruptaki örneklerde *Gyromitra esculenta var. fulva* olup diğer örmekten desen şeklinde kıvrım içeren askokarp içermesi ile farklı bir dış görünüş sergilemektedir.

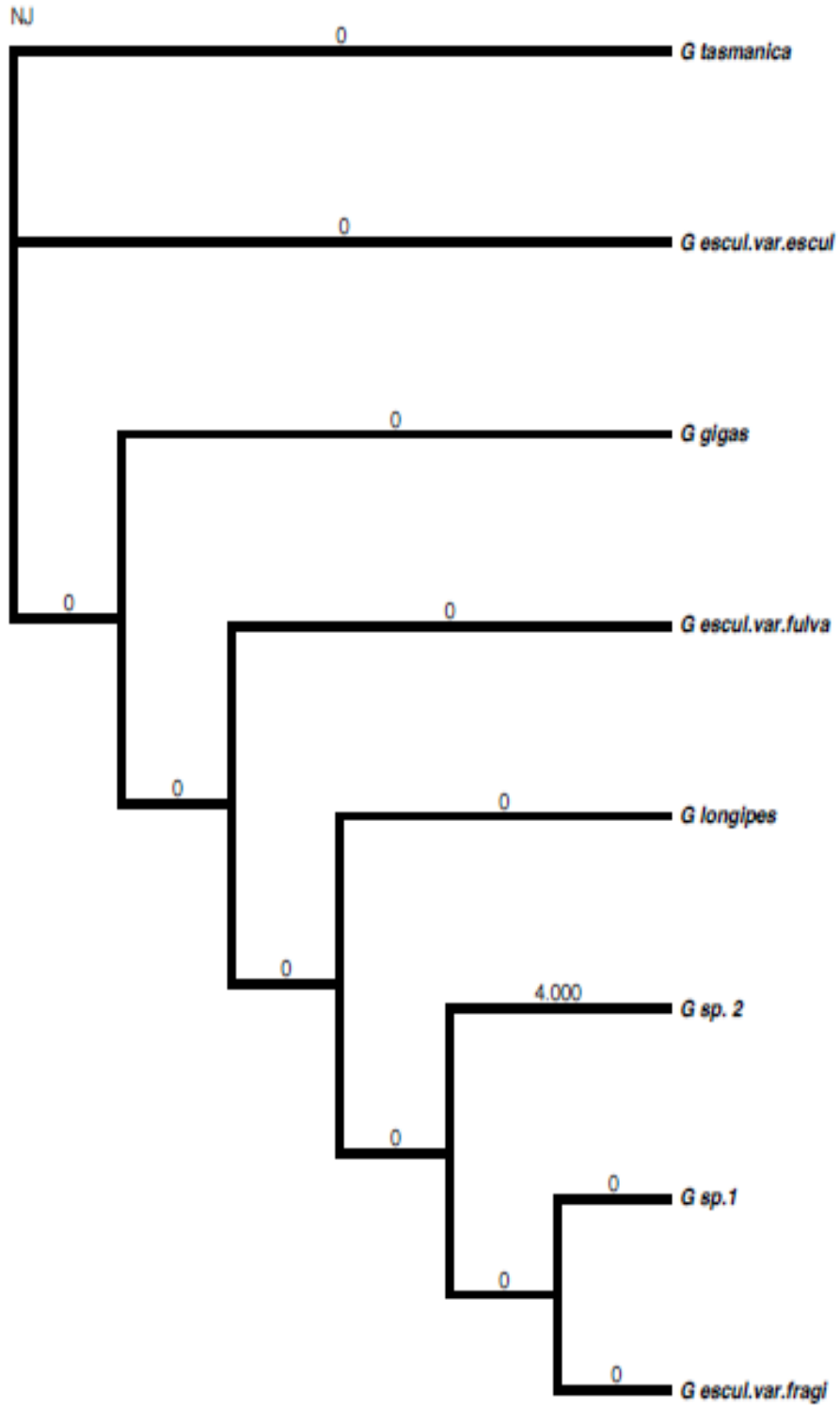
Bu sınıflandırma sistemi mikroskopik çalışmalar sonucu elde edilen askus, parafiz, spor, himenyum gibi sınıflandırmada kullanılan karakterlerden elde edilen verilerde yapılan gruplandırmayı desteklemektedir. Spor çalışmalarında *Gyromitra* cinsi için karakteristik olan ve iki ucunda yağ damlacığı olan sporlar görülmüştür. Ancak bazı örneklerin sporlarında yağ damlacıklarının bulunmadığı gözlemlenmiştir. Ayrıca melzer ve amonyum hidroksitin *Gyromitra* tür tayininde uygun kimyasallar olmadığına karar verilmiştir. Çünkü *Gyromitra* türleri bu kimyasallarla tepkimeye girmemektedir.

4.2 Moleküler Sistemik Çalışmaları Sonucu Elde Edilen Veriler

Tespit edilen 10 farklı grubun DNA izolasyonları yapılmıştır. DNA izolasyonu yapılan her bir örneğin ITS4 ve ITS5M primerleri ile PZR'si yapılmıştır. rDNA bölgesi dizileri elde edilmiştir. Elde edilen bu dizilerin karşılaştırılarak birbirinden farklı (polimorfik) olan bazıları tespit edilmiştir. Buna göre 10 farklı gruptan 830 bç uzunluğunda üç farklı DNA elde edilmiştir. Belirlenen taksonların 830 bç uzunluğundaki dizisi genbank'ta araştırılmıştır.

Buna göre 1, 2, 6, 7, 8, 9, 10 numaralı gruplar aynı tür olarak görülmekte ve DNA dizileri *G. esculenta* ile % 99 oranında benzerlik göstermektedir. 3 ve 5 numaralı gruplar aynı ancak diğerlerinden farklı bir tür olarak görülmekte ve *G. esculenta* ile % 99 oranında birbirine benzemektedir. Son olarak 4 numaralı grup tek başına ayrı bir tür olarak görülmekte ve *Gyromitra esculenta* ile % 98 oranında benzerlik göstermektedir. Yani rDNA dizilerine göre 1, 2, 6, 7, 8, 9, 10 numaralı gruplar aynı tür 3, 5 numaralı gruplar aynı tür son olarak 4 numaralı grup tek başına ayrı bir tür olarak görülmektedir.

Elde edilen moleküler verilerin filogenetik analiz programı olan PAUP'ta değerlendirilmesi sonucunda iki adet soy ağacı elde edilmiştir. Bu soy ağaçları Neighbour Joining Analiz metodu (Şekil 4.1) ve UPGMA analiz metodu ile (Şekil 4.2) ile elde edilmiştir. Ayrıca yine moleküler verilerden yararlanarak değerlendirilen *Gyromitra* örneklerinin genetik uzaklık haritası tablo 4.1 de verilmiştir.



Şekil 4.1 PAUP'ta Neighbour joining analiz metodu ile oluşan soy ağacı

Tablo 4.1 Çalışmadaki *Gyromitra* türleri genetik uzaklık haritası

Patristic distance matrix

Below diagonal: Adjusted character distances

Above diagonal: Patristic distances

	1	2	3	4	5	6	7	8
1 <i>G. esculenta</i> var. <i>esculenta</i>	-	0	0	0	4	0	0	0
2 <i>Gyromitra</i> <i>gigas</i>	0	-	0	0	4	0	0	0
3 <i>G. esculenta</i> var. <i>fulva</i>	0	0	-	0	4	0	0	0
4 <i>Gyromitra</i> <i>longipes</i>	0	0	0	-	4	0	0	0
5 <i>Gyromitra</i> <i>sp2</i>	4	4	4	4	-	4	4	4
6 <i>Gyromitra</i> <i>sp.1</i>	0	0	0	0	4	-	0	0
7 <i>G. esculenta</i> var. <i>fragilis</i>	0	0	0	0	4	0	-	0
8 <i>Gyromitra</i> <i>tasmanica</i>	0	0	0	0	4	0	0	-

5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Muğla yöresinden toplanan *Gyromitra* türleri üzerinde yapılan morfolojik ve moleküler çalışmalar sonrasında toplamda 6 takson tanımlanmıştır. Bu taksonlar *Gyromitra gigas*, *G. longipes*, *G. tasmanica*, *G. esculenta* var. *esculenta*, *G. esculenta* var. *fragilis* ve *G. esculenta* var. *fulva*'dır. Bu taksonlardan *G. longipes*, *G. tasmanica* ve *G. esculenta* var. *fulva* ilk defa bu çalışma ile ortaya çıkarılmış ülkemiz için yeni kayıt türlerdir. İki adet ise henüz tanımlanamayan tür vardır. Bu türler mevcut teşhis anahtarlarında bulunan tanımlamalara uymamaktadır. Dolayısıyla bunların yeni tür olabileceğinden şüphelenilmektedir. Bu durumun ortaya çıkarılabilmesi için ayrıntılı çalışmalar yapılması gerekmektedir. Tablo 5.1'de çalışmalar sonucu elde edilen türlerin morfolojik ve moleküler özellikleri verilmiştir.

Tablo 5.1 Teşhis edilen türler ve deskripsiyonları

Tür	Deskripsiyonu	ITS bölgesi Genbank araştırma sonuçları
<i>G. longipes</i>	Tür, 8-12 x 4-5 boyutlarındadır. Sap kalın ve uzun olup 5-6 x 1-2 cm'dir. Mantarın taze formunda askokarp kıtır kıtır oldukça gevrek bir görünüm sergilemektedir. Şapka kahverengi renklidir. Diğer örneklerden en bariz farkı uzun bir sap ve sapa oranla daha küçük bir şapka taşımasıdır. Sporlar 19-26 x 9.6-12 µm'dir.	% 99 oranında <i>Gyromitra esculenta</i> ile benzerlik göstermektedir.
<i>Gyromitra sp. 1</i>	Tür, 4-5 x 2.5-3.5 cm boyutlarındadır. Sap 2-3 x 0.75-1 cm'dir. Mantarın üst kısmında homojen bir renk dağılımı yoktur. Renk, aynı mantar üzerinde koyu kahverengiden açık kahverengiye kadar farklı tonlarında benek benektir. Sanki kısım kısım yanık gibi bir görüntü vermektedir. Sporlar 16.7-21.6 x 9.6-10.8 µm'dir.	% 99 oranında <i>Gyromitra esculenta</i> ile benzerlik göstermektedir.
<i>Gyromitra sp. 2</i>	Tür, 5-6 x 3-4 cm boyutlarındadır. Sap 2-2.5 x 1-1.5 cm olup unumsu renklidir. Diğer örneklerden en önemli farklılığı mantarın şapka kısmı üzerinde tüy şeklinde yapıların olmasıdır. Sporlar 16.7-27 x 9.6-13.2 µm boyutlarındadır.	% 98 oranında <i>Gyromitra esculenta</i> ile benzerlik göstermektedir.
<i>G. esculenta</i> var. <i>fragilis</i>	Tür, 6-9 x 3.5-4.5 cm boyutlarındadır. Sap 3.5-5 x 0.5-1 cm civarında olup beyaz renklidir. Mantarı diğerlerinden ayıran en önemli özelliklerden biri, kurduğunda mantar üzerinde bariz bir beyaz spor tabakasının oluşmasıdır. Ayrıca kuru örneklerin üst kısmı pul pul dökülmektedir. Sporlar 21.6-26.4 x 10-13 µm'dir.	% 99 oranında <i>Gyromitra esculenta</i> ile benzerlik göstermektedir.

<i>G. tasmanica</i>	Tür, 5-6 x 4-5 cm boyutlarındadır. Sap 3-4 x 0.5-0.6 cm ve kirli beyazdır. Sap üzeri nokta nokta beneklidir. Şapka kırmızı-kahverengi renklidir. Şapka sap ile herhangi bir bağlantı oluşturmamaktadır. Sporlar 19-25 x 9-12 µm'dir.	% 99 oranında <i>Gyromitra esculenta</i> ile benzerlik göstermektedir.
<i>G.esculenta var. esculenta</i>	Tür, 5-7 x 5-6 cm boyutlarındadır. Sap 3-4.5 x 0.5-0.6 cm'dir ve unumsu renktedir. Sap genelde birkaç kökün birleşmesiyle oluşmuştur. Şapka üzeri çok sayıda ve yüzeysel kıvrım içermektedir. Mantar kırmızı-kahverengi renklidir. Sporlar 17-24 x 9.6-10.8 µm'dir.	% 99 oranında <i>Gyromitra esculenta</i> ile benzerlik göstermektedir.
<i>Gyromitra gigas</i>	Tür, 7-12 x 4-6 cm boyutlarındadır. Askokarp sarımsı kahverengi renktedir. Sap 4-6 x 1-1.5 cm ve beyaz renklidir. Diğerlerinden en bariz farkı kıvrımların daha az ama daha kalın ve derin olmasıdır. Sporlar (20) 21-26 x 9.5-12 µm'dir.	% 99 oranında <i>Gyromitra esculenta</i> ile benzerlik göstermektedir.
<i>G. esculenta var. fulva</i>	Tür, 7-10 x 4-6 cm boyutlarındadır. Sap 3-5 x 0.5-1.5 cm ve beyaz renklidir. Mantar açık sarı, kahverengi renktedir. Sporlar 15-22 x 9-10 µm'dir. Diğer gruptaki örneklerden en belirgin farkı kıvrımların daha çok ama daha ince ve yüzeysel olması ve sarımsı renkte olmasıdır.	% 99 oranında <i>Gyromitra esculenta</i> ile benzerlik göstermektedir.

Bununla birlikte moleküler sistematik çalışmalar sonucu çekirdek DNA'sına ait rDNA tekrarlı ünitelerinde yer alan ITS dizilerinin çok üst düzeyde polimorfizm göstermediği gözlemlenmiştir. Dolayısıyla polimorfik olan diziler *Gyromitra* türlerinin sistematik problemini çözecek, türleri birbirinden ayıracak düzeyde farklılaşmamıştır. *Gyromitra* cinsi moleküler sistematik çalışmalarına göre *G. longipes*, *G. tasmanica*, *G.esculenta var. esculenta*, *Gyromitra gigas* ve *G. esculenta var. fulva* taksonlarının ITS bölgesi tamamen birbirinin aynısı çıkmıştır. Teşhis edilemeyen ve farklı tür olabileceğinden şüphelenilen *Gyromitra sp. 2* türü diğerlerinden çok daha farklı baz dizisine sahiptir. Ayrıca *Gyromitra sp.1* ve *G. esculenta var. fragilis* taksonları da tamamen aynı baz dizisine sahiptir. Ancak aynı baz dizisine sahip örnekler arasında morfolojik olarak oldukça büyük farklar vardır. Bu bölgenin çok üst düzeyde polimorfizm göstermemesi sebebiyle örnekler için oluşturulan soy ağaçlarında ve genetik uzaklık haritalarında anlamlı sonuçlar elde edilememiştir.

Moleküler sistematik araştırmalardan elde edilen verilerin morfolojik karakterlerden elde edilen bilgileri tam olarak desteklemediği ortadadır. Bunun sebebi kullanılan DNA belirtecin bu cins içerisinde yer alan türleri birbirinden

ayırarak kadar farklılaşmamış olması veya mantar morfolojisinin çevrenin etkisiyle değişebilir özellikte olmasıdır. Dolayısıyla farklı gibi görülen örnekler aslında aynı türdür ama morfolojik özellikleri çevrenin etkisiyle değişebilmektedir. *Gyromitra* cinsi içerisinde yer alan türlerde de morfolojik özelliklerin belirli sınırlar çerçevesinde değiştiği bilinen bir gerçektir. Ancak buna rağmen tüm dünyada başarıyla kullanılan ve çoğu zaman anlamlı bilgiler veren rDNA bölgelerinin *Gyromitra* cinsi için uygun bir moleküler belirteç olmadığı sonucuna ulaşılmıştır. Çünkü bu bölge türleri birbirinden ayıracak kadar polimorfik değildir. *Gyromitra* cinsindeki taksonomik problemlerin tam olarak çözülebilmesi için cinsin moleküler sistematik çalışmalarında DNA'nın farklı kısımları belirteç olarak kullanılmasının gerekli olduğu belirlenmiştir.

KAYNAKLAR

- Abatay, M., 1984. Ormanlarımızda Yetişen Yenen Mantarlar Üretim Tekniği ve Değerlendirilmesi, *Ormancılık Enstitüsü Yayınları*, Dergi Serisi: 50, Teknik Raporlar Serisi, No: 18: 40p.
- Abatay, M., 1985. *Doğu Karadeniz Yöresinde Odunsu Bitkilere Arız Olan Mantar Türleri Üzerine Araştırmalar*, Ormancılık Araştırma Enstitüsü Yayınları Teknik Bül., Seri No: 114-118
- Abatay, M., 1985. Orta ve Doğu Karadeniz Bölgesinde Bulunan Odun Tahripçisi Mantarlar. *IV. Türkiye Fitopatoloji Kongresi*, 8-10 Ekim 1985, İzmir, Bildiriler: 12-13
- Abatay, M., 1988. Değişik Ekolojilerde Odunda Gelişebilen Yenilebilir Fungus Türleri Üzerine Araştırmalar. *V. Türkiye Fitopatoloji Kongresi*, 18-21 Ekim 1988, Antalya. Bildiriler: 33- 35
- Abatay, M., 1988. Türkiye'nin Yenilebilir Bazı Fungus Türleri Üzerine Araştırmalar. *I. Orman Tali Ürünleri Sempozyumu*, 14-16 Haziran 1988, Ankara, Bildiriler: 32-36
- Abbott, S.P., Currah, R.S. 1997. The Helvellaceae: Systematic Revision and Occurance Northern and Northwestern North America. *Mycotaxon*, 62: 1-125
- Aceto, S., Caputo, P., Cozzolino, S., Gaudio, L., and Moretti, A. 1999. Phylogeny and Evolution of *Orchis* and Allied Genera Based on Its DNA Variation: Morphological Gaps and Molecular Continuity. *Mol. Phyl. and Evol.*, 13,(1): 67-76
- Afyon, A. 1994. Türkiye'nin Makroskobik Mantar Florası İçin Yeni Kayıtlar. *Tr. J. of Bot.*, 18: 169-173
- Afyon, A. 1996. Isparta Yöresinde Belirlenen Bazı Makroskobik Mantarlar. *Tr. J. of Botany*, 20: 161-164
- Afyon, A. 1996. Isparta Yöresinde Belirlenen Bazı Makroskobik Mantarlar. *Tr.J. of Botany*, 20: 161-164a
- Afyon, A. 1996. Konya (Meram-Selçuklu) Civarında Belirlenen Bazı Makroskobik Mantarlar. *T. J. of Botany*, 20: 259-262
- Afyon, A. 1996. Macrofungi of Beyşehir Disrict (Konya). *Tr. J. of Botany*, 20: 527-530
- Afyon, A. 1997. Macrofungi of Seydişehir Disrict (Konya). *Tr. J. of Botany*, 21: 173-176
- Afyon, A. 1997. Mycoflora of Derbent Disrict (Konya). *T. J. of Botany*, 21: 217-220
- Afyon, A. 1997. New Records for Turkish Mycoflora from Beyşehir in The Konya Province. *T. J. of Botany*, 21: 109-113

- Afyon, A. 1997. New Records of Turkish Macrofungi in Derbent Country, Konya Province. *T. J. of Botany*, 21: 115-117
- Afyon, A. 1997. Two New Records for the Fungi Flora of Turkey. *T. J. of Botany*, 21: 107-108
- Afyon, A., 1994. Isparta Yöresinin Yenen Mantarları. *XII. Ulusal Biyoloji Kongresi*, 6-8 Temmuz 1994, Bildiri Özetleri: 145-150
- Afyon, A., Konuk, M. 2002. Zonguldak Yöresi Makrofungusları Üzerine bir Araştırma. *Ot Sistematik Botanik Dergisi*, 9,(1): 121-128
- Afyon, A., Yağız, D., Konuk, M. 2004. Macrofungi, of Sinop Province. *T. J. of Botany*, 28: 351-360
- Akata, I., *Ankara-Kızılcahamam Soğuksu Milli Parkı Makrofungus Florası*, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, 2004.
- Aktaş, S., *Ahırlı, Yalılıyüyük İlçeleri ve Bozkır (Konya) İlçesinin Kuzey Bölgesinde Yetişen Makrofunguslar Üzerine Taksonomik Araştırmalar*, Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi, 2001.
- Alexopoulos, C.J., Mims, C.W., Blackwell, M., 1996. *Introductory Mycology*, John Wiley and sons Press, New York, 869p.
- Allan, G.J., Francisco-Ortega, J., Santos-Guerra, A., Boerner, E., Zimmer, E.A. 2004. Molecular Phylogenetic Evidence for the Geographic Origin and Classification of Canary Island Lotus (Fabaceae:Loteae). *Mol. Phyl. and Evol.*, 32,(1): 123-138
- Allı, H., Işıloğlu, M. 2000. The Parasite Macrofungi of Muğla Province, Turkey. *Ot Sistematik Botanik Dergisi*, 7,(1): 249-255
- Allı, H., Işıloğlu, M. 2007. Türkiye Makrofunguslarına Aydın Yöresinden Yeni Kayıtlar. *Ekoloji*, 16, (64): 63-73
- Allı, H., Işıloğlu, M., Solak, M.H. 2007. Macrofungi of Aydın province, Turkey. *Mycotaxon*, 99: 163-165
- Allı, H., Işıloğlu, M., Yılmaz, F., 2006. Aydın Yöresinin Zehirli Mantarları. 18. Ulusal Biyoloji Kongresi, 26-30 Haziran 2006, Aydın. Bildiriler: 109
- Altan, Y., Gücin, F., Babaç, M.T. 1986. Gülveren Köyü (Erzurum-Şenkaya) Florasına Ait Gözlemler. *Journal of the Faculty of Sciences*, Series B, 8: 21-38
- Alverson, W.S., Whitlock, B.A., Nyffeler, R., Bayer, C., Baum, D.A. 1999. Phylogeny of the Core Malvales: Evidence from ndhF Sequence data. *Am J Bot.*, 86,(10): 1474-1486

- Amane, M., Lumaret, R., Hany, V., Ouazzani, N., Debain, C., Vivier, G., Deguilloux, M.F. 1999. Chloroplast-DNA Variation in Cultivated and Wild Olive (*Olea Europaea* L.). *Theor Appl. Genet.*, 99: 133-139
- Andersson, C., Koponen, A., Slania, P., 1993. *Hydrazones in the False Morel, Report to the Nordic Council of Ministers*, National Food Administration, Uppsala, Sweden, 1p.
- Andrarry, C., Bourrier, M.J., Privat, G., 1984. Microdosage Spectrofluorimetrique sur Couche Mince de la Monomethylhydrazine Chez *Gyromitra esculenta*. *J. Chromatogr.*, 287: 419-424
- Andrarry, C., Privat, G. 1985. Variations of Monomethylhydrazine Content in *Gyromitra esculenta*. *Mycologia*, 77,(2): 259-264
- Angiolillo, A., Mencuccini, M., Baldoni, L., 1999. Olive Genetic Diversity Assessed Using Amplified Fragment Length Polymorphisms. *Theor Appl Genet*, 98: 411-421
- Anonim, 2010. <http://www.dmi.gov.tr/veridegerlendirme/il-ve-ilceler-istatistik.aspx?m=MUGLA>
- Arora, D., 1986. *Mushrooms Demystified: a Comprehensive Guide to the Fleshy Fungi* (2nd ed.), Ten Speed Press., Berkeley, 801p.
- Arshadi, M., Nilsson, C., Magnusson, B. 2006. Gas Chromatograph-Mass Spectrometry Determination of the Pentafluorobenzoyl Derivate of Methylhydrazine in False Morel (*Gyromitra esculenta*) as a Monitor for the Content of the Toxin Gyromitrin. *Journal of Chromatography*, 1125: 229-233
- Asan, A. ve Gücin, F., 1990. Istranca Dağlarında (Trakya) Belirlenen Bazı Makrofunguslar. *X. Ulusal Biyoloji Kongresi*, 18-20 Temmuz 1990, Erzurum, Botanik bildirileri 2: 155-162
- Aslantaş, İ., *Sivas Yöresi Şapkaklı Mantarları Üzerine Bir Araştırma*, Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi, 1999.
- Asma, D., Kahraman, S., Cing, S., Yeşilada, Ö., 2007. Ölü Fungal Biyokütle ile Tekstil Boyalarının Giderimi. *VII. Ulusal Ekoloji Kongresi*, 10-13 Eylül 2007, Malatya. Bildiriler: 268
- Aşkun, T., Işıloğlu, M. 1997. Macrofungi of Balya(Balıkesir) County. *Tr.J. of Botany*, 21: 279-284
- Atalay, İ., 1994. *Türkiye Coğrafyası*. Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, 496p.
- Aytar, P., Çabuk, A., 2008. *Trametes versicolor* ile Linyit Kömüründen Kükürt Giderimi. *19. Ulusal Biyoloji Kongresi*, 23-27 Haziran 2008, Trabzon. Bildiriler: 264
- Babalola, O.O. 2003. Molecular Techniques: An Overview of Methods for the Detection of Bacteria. *African Journal of Biotechnology*, 2,(12): 710-713

- Babaoğlu, S., Açık, L., Çelebi, A., Adıgüzel, N. 2004. Molecular Analysis of Turkish Alyssum L. (Brassicaceae) Species by Rapd-PZR and Sds-Page Methods. *G.Ü. Fen Bilimleri Dergisi*, 17,(3): 25-33
- Back, K.C., Pinkerton, M.K. 1967. *Toxicology and Pathology of Repeated Doses of Monomethyl-hydrazine in monkeys*. Aerospace Medical Research Laboratories, Ohio, 66p.
- Baldwin, B.G. 1992. Phylogenetic Utility of the Internal Transcribed Spacers of Nuclear Ribosomal DNA in Plants: An Example from the Compositae. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 1,(1): 3-16
- Baldwin, B.G., Sanderson, M.J., Porter, J.M., Wojciechowski, M.F., Donoghue, M.J. 1995. The ITS Region of Nuclear Ribosomal DNA: A Valuable Source of Evidence on Angiosperm Phylogeny. *Ann. Mo. Bot. Gard.*, 82: 247-277
- Baser, K. H. C., Sezik, E., Tümen, G. 1991. Composition of Essential Oil of Ziziphora Clinopodioides Lam. *J. Essent. Oil Res.*, 3: 191-192
- Baydar, S. ve Sesli, E. 1994. Trabzon İli Akçaabat Yöresinde Belirlenen Makromantarlar. *T. J. of Botany*, 18: 99-101
- Bellarosa, R., Simeone, M.C., Papini, A., Schirone, B. 2005. Utility of ITS Sequence Data for Phylogenetic Reconstruction of Italian Quercus Spp. *Mol. Phyl. and Evol.*, 34,(2): 355-3
- Benjamin, D.R., 1995. *Mushrooms: Poisons and Panaceas. A Handbook for Naturalists, Mycologists, and Physicians*, WH Freeman and Co., New York, 282p.
- Berger, K. J., Guss, D. A. 2005. Mycotoxins Revisited: part II. *J Emerg Med.*, 28: 175-83.
- Blackwell, M., Hibbett, D.S., Taylor, J.W., Spatafora, J.W. 2006. Research Coordination Networks: A Phylogeny for Kingdom Fungi (Deep Hypha). *Mycologia*, 98,(6): 829-837
- Blackwell, W.H., 1988, *Poisonous and Medicinal Plants*, Prentice Hall, New Jersey, 157p.
- Bowman, B.H., Taylor, J.W., Brownlee, A.G., Lee, J., Lu, S-D., White, T.J. 1995. Molecular Evolution of the Fungi: Relationship Of the Basidiomycetes, Ascomycetes and Chytridiomycetes. *Mol. Biol. Evol.*, 9: 285-296
- Brauchler, C.M., H. Abele, T. Heubl, G. 2005. Polyphyly of the Genus *Micromeria* (Lamiaceae)-Evidence from CpDNA Sequence Data. *Taxon*, 54,(3): 639-650
- Braun, R., Greef, U., Netter, K.J. 1980. Identifications for Nitrosamide Formation from the Mushroom Poison Gyromitrin by Rat Liver Microsomes. *Xenobiotica*, 10: 557-564

- Breitenbach, J., Kranzlin, F., 1984. *Fungi of Switzerland vol: 1 Ascomycetes*, Verlag mykologia, Luzern., 50p.
- Bremer, K. 1988. The Limits of Amino Acid Sequence Data in Angiosperm Phylogenetic Reconstruction. *Evolution*, 42,(4): 795-803
- Bresinsky, A., Besl, H., 1990, *A Colour Atlas of Poisonous Fungi*, Wolfe Publishing Ltd, London, 1p.
- Britten, R.J. 1986. Rates of DNA Sequence Evolution Differ between Taxonomic Groups. *Science*, 23: 1393-1398
- Bruns, T.D., Vilgays, T.J., Taylor, J.W. 1991. Fungal Molecular Systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 22: 525-564.
- Burk, W.R. 1983. Puffball Usages Among North American Indians. *J. Ethnobiology*, 3: 55-62
- Burr, B., Phillips, R.L., Vasil, I.K., 1994. *DNA-Based Markers in Plants*, Kluwer Academic Publishers, Netherlands, 1, 35p.
- Buth, D.G. 1984. The Application of Electrophoretic Data in Systematic Studies. *Annu. Rev. Ecol. Syst*, 15: 501-22
- Carey, K., Ganders, F.R. 1987. Patterns of Isoenzyme Variation in Plecritis (Valerianaceae). *Syst Bot.*, 12,(1): 125-132
- Castellano, M.A., Cázares. E., Fondrick, B., Dreisbach, T, 2003. *Part 6, Handbook to Additional Fungal Species of Special Concern in the Northwest Forest Plan (General Technical Report PNW-GTR-572)*, Forest Service, Pacific Northwest Research Station, Portland, OR: USDA, 71p.
- Cathum, S., Atamaniouk, V., Ananieva, L., Ladanowski, C., Whittaker, H. 1998. Gas Chromatography-Mass Spectrometric Determination of Unsymdimethylhydrazine in Soil and Water by Derivatization with Aromatic Aldehydes. *Canadian Journal of Chemical Engineering*, 76,(3): 680-685
- Celio G.J., Padamsee, M., Dentinger, B.T.M., Bauer, R., McLaughlin, D.J. 2006. Assembling the Fungal Tree of life: Constructing the Structural and Biochemical Database. *Mycologia*, 98,(6): 850-859
- Chang, S.T., Miles, P.G., 1989. *Edible Mushrooms and their Cultivation*. CRC pres., Boca Raton, 17p.
- Clark, D.P., 2005. *Molecular biology: Understanding the Genetic Revolution*, Elsevier Academic Press., China, 643p.
- Cohen, B.L., Weydmann, A. 2005. Molecular Evidence That Phoronids are a Subtaxon of Brachiopods (Brachiopoda: Phoronata) and That Genetic Divergence of

Metazoan Phyla Began Long before the Early Cambrian. *Organisms Diversity & Evolution*, 5,(4): 253-273

Crawford, D.J., Ornduff, R. 1989. Enzyme Electrophoresis and Evolutionary Relationships among Three Species of *Lasthenia* (Astraceae:Heliantheae). *Am. J. Bot.*, 76,(2): 289-296

Çebi Kılıçoğlu, M., Özkoç, İ. 2008. Fungal Sistematikteki Moleküler Gelişmeler. *OMÜ Zir. Fak. Dergisi*, 23,(1): 65-72

Dayle, E., Saar, N.O.P., Sørensen, P.D., Melvin, D. R. 2001. Angiosperm DNA Contamination by Endophytic Fungi: Detection and Methods of Avoidance. *Plant Molecular Biology Reporter*, 19: 249–260

Dearness, J. 1924. Gyromitra poisoning. *Mycologia*, 16: 199-206

Demir, M.S., Yamaç, M. 2008. Antimicrobial Activities of Basidiocarp, Submerged Mycelium and Exopolysaccharide of Some Native Basidiomycetes Strains. *Journal of Applied Biological Sciences*, 2, (3) : 89-93.

Demirel, K. 1996. Van Yöresi Makrofungusları. *T. J. of Botany*, 20: 163-169

Demirel, K. 1997. New Records for the Mycoflora of Turkey. *Ot Sistematik Botanik Dergisi*, 4,(1): 49-52

Demirel, K. 1997. Two New Records for the Mycoflora of Turkey”, *T. J.I of Botany*, 21: 103-105

Demirel, K., Kaya, A. ve Uzun, Y. 2003. Macrufungi of Erzurum province. *T. J. of Botany*, 27: 29-36

Demirel, K., Uzun, Y. 1996. Van Gölü Çevresinde Belirlenen Bazı Odun Tahripçisi Makromantarlar. *Ekoloji Çevre Dergisi*, 21: 32-35

Demirel, K., Uzun, Y. 1999. Sarıkamış (Kars) İlçesinden Türkiye Mantar Florası İçin Yeni Kayıtlar. *Ot Sistematik Botanik Dergisi*, 6,(1): 83-88

Demirel, K., Uzun, Y. 2004. Two New Records of Phallales for the Mycoflora of Turkey. *T. J. of Botany*, 28: 213-214

Demirel, K., Uzun, Y., Kaya, A. 2002. Macrufungi of Ağrı Province. *T. J. of Botany*, 26: 291-295

Dennis, R.W.G., 1981. *British Ascomycetes*, Strauss-Cramer GmbH, Vaduz, 7p.

Doğan, H. H., Öztürk, C., Kaşık, G. 2000. Two New Records for the Macrufungi Flora of Turkey. *Selçuk Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi*, 17: 7-10

Doğan, H. H., Güner, M., Öztürk, C. 2001. Two New Ascomycetes Genus For The Fungal Flora of Turkey. *Ot Sistematik Botanik Dergisi*, 8,(1): 13-18

Doğan, H.H., Işıloğlu, M. 2002. A New and Interesting Ascomycete Genus (*Pithya* Fuckel) Record for the Fungi Flora of Turkey. *T. J. of Botany*, 26: 403-404

Doğan, H.H., Karadelev, M., 2006. Ecology and Distrubution of two Parasitic Fungal Species (*Pyrofomes demidoffii* and *Antrodia Juniperina*) on Sccale-leaf Juniper tree in Turkey, *Cyrptogamie Mycologie*, 27,(1): 35-43

Doğan, H.H., Öztürk, C., Kaşık, G., Aktaş, S. 2005. A Checklist of Aphyllophorales of Turkey. *Pak. J. Bot.*, 37,(2): 459-485

Duman, R., Taner, H., Doğan, H.H. 2007. Bazı Makrofungusların Antimikrobiyal Aktiviteleri. *Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Dergisi*, 7, (1): 55-65.

Durukan, N., *Denizli Çal Yöresi Makrofungusları Üzerinde Taksonomik Bir Araştırma*, Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi, 2000.

Erkal, C., *Kapıdağ Yarımadası (Erdek) Ve Çevresinin Makrofungusları Üzerine Taksonomik Araştırmalar*, Yüksek lisans tezi, Balıkesir Üniversitesi, 1996.

Ersel, Yılmaz, F., Solak, M.H. 2004. Contributions to the Macrofungi of İzmir Province. *T. J. of Botany*, 28: 487-490

Ertugay, N., Bayhan, Y.K. 2008. Biosorption of Cr (VI) from Aqueous Solutions by Biomass of *Agaricus bisporus*. *Journal of Hazardous Materials*, 154: 432-439

Fries, E. M., 1849. *Summa veg. Scand., Section Post*, Stockholm, 346p.

Fritsch K., 1973. *Beitrag zur Flora von Constantinopel I. Kryptogamen*”, Denkschriften der Kais. Akad. D. Wiss. Mathem. Naturw. Klasse, Bd. L XVII, 219p

Froslev, T.G., Matheny, P.B., Hibbett, D.S. 2005. Lower Level Relationships in the Mushroom Genus *Cortinarius* (Basidiomycota, Agaricales): A Comparison of Rpb1, Rpb2, and ITS Phylogenies. *Mol. Phyl. and Evol.*, 37,(2): 602-618

Furue, H. 1985. Clinick Evolution of Schizophyllan (SPG) in Gastric Cancer-Randomized Controlled Studies. *İnt. J. Immunopharmacol.* 7,(23): 333-339

Galtier, N., Nabholz, B., Gle’ min, S., Hurst, G. D. D. 2009. Mitochondrial DNA as a Marker of Molecular Diversity: A Reappraisal. *Molecular Ecology*, 18: 4541–4550

Gezer, K., Gökler, İ., Işıloğlu, M. 2000. Türkiye Mikoflorası için Antalya Yöresinden yeni kayıtlar. *Çevre Kor.*, 10,(3): 17-19

Gezer, T., *Denizli İli Sınırları İçinde Yetişen Bazı Makrofunguslar Üzerine Taksonomik Araştırma*, Yüksek Lisans tezi, *Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, 1992.

Goel, S., Raina, S.N., Ogihara, Y. 2002. Molecular Evolution and Phylogenetic Implications of Internal Transcribed Spacer Sequences of Nuclear Ribosomal DNA in the Phaseolus-Vigna Complex", *Mol. Phyl. and Evol.*, 22,(1): 1-19

- Gottlieb, L.D., Warwick, S.I., Ford, V.S. 1985. Morphological and Electrophoretic Divergence between *Layia discoidea* and *L. Glandulosa*. *Syst. Bot.*, 10,(4): 484-495
- Graham, S.W., Olmstead, R.G. 2000. Systematics - Utility of 17 Chloroplast Genes for Inferring the Phylogeny of the Basal Angiosperms. *American journal of botany*, 87: 1712-1730
- Griffin, D.H., 1981. *Fungal Physiology*, John wiley and Sons, New York. 58p.
- Gui-Zhi, W., Koichiro, T. 1997. Plasmon Analyses of Triticum (Wheat) and Aegilops: PZR–Single-Strand Conformational Polymorphism (PZR-Sscp) Analyses of Organellar DNAs", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94: 14570–14577
- Gücin, F. 1987. Macrofungi of Pötürge (Malatya) in Eastern Anatolia. *The Journal of Fırat University*, 2, (1): 19-26
- Gücin, F., 1983. Elazığ Yöresinde Yenlen Doğa mantarları ve Yurdumuz Makromantar Florası Yeni Kayıt Olanlar, *Türkiye İkinci Yemeklik Mantar Kongresi*, 10-12 Ekim 1983, Bildiriler: 13-14
- Gücin, F., 1988. Doğu Anadolu'daki Bazı İllerimiz ve Çevresinde Tespit Edilen Odun Tahripçisi Makrofunguslar. *I. Uluslararası Çevre Koruma Sempozyumu Çevre Kirliliği ve Kontrolü*, 1988, Antalya, Bildiriler: 335-353
- Gücin, F., 1991. Fırat Havzasında Belirlenen Bazı Tıbbi ve Zehirli Mantarlar. *Fırat Havzası Tıbbi ve Endüstriyel Bitkiler Sempozyumu*, 1991, Elazığ, Bildiriler: 63-82
- Gücin, F., Elazığ İli Sınırları İçinde Yetişen Bazı Makrofunguslar Üzerine Taksonomik bir Araştırma, Doktora Tezi, *Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, 1983
- Gücin, F., Işıloğlu, M. 1995. Some New Ascomycetes Genera Records for the Fungi flora of Turkey. *T. J. of Botany*, 19: 485-487
- Gücin, F., Işıloğlu, M., Solak, M. H. Ergül, C., 1995. *Kuzeybatı Anadolu Mantarlarının (Yenlen, Zehirli ve Odun Tahripçisi Olanlarının) Belirlenmesi*, Tübitak Projesi No: TBAG-1132
- Gücin, F., Işıloğlu, M., Solak, M.H., 1995. Macrofungi of Kozak Plateau (West Anatolia). *XII. Congress of European Mycologists*, 1995, Abstracts: 22
- Gücin, F., Işıloğlu, M., Solak, M.H., 1995. Ecological Observation on West Anatolian Macrofungi. *IV. Güneybatı Asya Bitki Hayatı Sempozyumu*, 1995, Abstracts: 133
- Gücin, F., Işıloğlu, M., Solak, M.H., 1995. Mushrooms of Uludağ (Bursa-Turkey). *IV. Güneybatı Asya Bitki Hayatı Sempozyumu*, 1995, Abstracts: 97
- Gücin, F., Öner, M. 1982. Manisa İli Dahilinde Yetişen Makrofunguslar. *Doğa Bilim Dergisi*, 6,(3): 91-96

- Gülbitti Onarıcı, S., Sümer, S. 2003. Protein and DNA in Systematic Biology. *T. J. Of Biology*, 27: 47-55
- Gülşen, O., Mutlu, N. 2005. Bitki Biliminde Kullanılan Genetik Markırlar ve Kullanım Alanları. *Alatarım*, 2005, 4,(2): 27-37
- Günay, A., 1995. *Mantar Yetiştiriciliği*, İlke Kitap Yayınevi, Ankara, No: 22, 8p
- Gürsoy, N., Sarıkürkçü, C., Cengiz, M., Solak, M.H. 2009. Antioxidant Activities, Metal Contents, Total Phenolics and Flavonoids of Seven *Morchella* species, *Food and Chemical Toxicology*, 47: 2381-2388.
- Hall, T.A., 1999. *Bioedit: A User-Friendly Biological Sequence Alignment Editor and Analyses Program for Windows 95/98/Nt*, Oxford university press., Raleigh, 95p.
- Handel-Mazzetti, H. F., 1909. *Ergebnisse Einer Botanischen Reise in das Pontische Randgebirge in Sandschak Trapezunt*, Annalen des K.K. Naturhistorisch Hofmuseum Bd XXIII. Fungi, 101p.
- Hansen, K., Pfister D. 2006. Systematics of the Pezizomycetes—the Operculate Discomycetes. *Mycologia*, 98, (6): 1029-1040.
- Hansen, L., Knudsen, H., 2000. *Nordic Macromycetes Vol.1 Ascomycetes*, Nordsvamp co. Botanical museum, Copenhagen, 79p.
- Hawksworth, D.L. 1991, The Fungal Dimension of Biodiversity, Magnitude, Significance and Conservation. *Mycological Research*, 6:641-655
- Hayashi, K. 1991. PCR-SSCP: A Simple and Sensetive Method for Detection of Mutations in the Genomic DNA. *Genome Res.*,1: 34-38
- Helfer, S. 2008. Mycota of South-West Asia. *Turk J. Bot.*, 32: 481-484.
- Hibbett, D.S. 2006. A Phylogenetic Overview of the Agaricomycotina. *Mycologia*, 98,(6): 917-925
- Hillis, D.M., Dixon, M.T. 1991. Ribosomal DNA: Molecular Evolution and Phylogenetic Inference. *Molecular evolution*, 66,(4): 411-453.
- Hobbs, C.,1995. *Medicinal Mushrooms*, Botanica Press, Summertown, Tennessee,535p.
- Huhtinen, S., Ruotsalainen, J., 2004. Notes on the Taxonomy and Occurrence of some Species of *Gyromitra* in Finland. *Karstenia*, 44: 25–34
- Hwang U-W., Kim, W., 1999. General Properties and Phylogenetic Utilities of Nuclear Ribosomal DNA and mitochondrial DNA commonly used in molecular Systematics. *Korean J. Parasitol.*, 37,(4): 215–228.

- Işıloğlu, M. 1994. A New Record for the Fungus Flora of Turkey. *T. J. of Botany*, 18: 451-452
- Işıloğlu, M. 1997. Macrofungi of Sarıçiçek Yaylası (Malatya). *T. J. of Botany*, 21: 63-65
- Işıloğlu, M., Adana ve İlçeleri İl Sınırları İçinde Yetişen Önemli Yenen ve Zehirli Mantarlar Üzerinde Taksonomik Araştırmalar, Doktora tezi. *İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, 1992.
- Işıloğlu, M., Gücin, F. 1995, *Auriscalpaceae* Türkiye için Yeni bir Familya. *T. J. of Botany*, 19: 321-324
- Işıloğlu, M., Gücin, F., Mat, A. 1995. Kasım 1994'te İstanbul'da Meydana Gelen Mantar Zehirlenmeleri. *Ekoloji Çevre Dergisi*, 14: 22-28
- Işıloğlu, M., Malatya İli ve Çevresinde Yetişen Yenen ve Zehirli Mantarlar Üzerinde Taksonomik Araştırmalar, Yüksek Lisans Tezi, *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, 1987
- Işıloğlu, M., Öder, N. 1995. Contributions to the Macrofungi of Mediterreanean Turkey. *T. J. of Botany*, 19: 603- 609
- Işıloğlu, M., Öder, N. 1995. Malatya Yöresinin Makrofungusları. *T. J. of Botany*, 19: 321-324
- Işıloğlu, M., Watling, R. 1991. Poissioning by *Lepiota helveola* Bres. in South Turkey. *Edinb. Journal of Botany*, 48,(1): 91-100
- Işıloğlu, M., Watling, R. 1992. Macromycetes of Mediterreanean Turkey. *Edinburg Journal of Botany*, 49,(1): 99-121
- James, T.Y., Letcher, P.M., Longcore, J.E., Mozley-Standridge S.E., Powell, M.J., Griffith, G.W., Vilgalys, R. 2006. A molecular Phylogeny of the Flagellated Fungi (Chytridiomycota) and Description of a New Phylum (Blastocladiomycota). *Mycologia*, 98,(6): 860-871
- James, T.Y., Porter, D., Leander, C.A., Vilgalys, R., Longcore, J.E. 2000. Molecular Phylogenetics of the Chytridiomycota Supports the Utility of Ultrastructural Data in Chytrid Systematic. *Can J. Bot.*, 78: 336-350
- Kalyoncu, F., Oskay, M., Kalmış, E. 2010. Bazı Yabani Makrofungus Misellerinin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi, *Mantar Dergisi*, 1, (1): 1-8
- Karamanoğlu, K., Öder, N. 1972. Uşak ve Çorum'da İki Mantar Zehirlenmesi. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 25,(6) : 1419-1432
- Karamanoğlu, K., Öder, N. 1973. Bursa İli ve Çevresinde Yetişen Bazı Şapkalı Mantarlar. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Mecmuası*, Ankara, 3: 13-33

- Kasamatsu, T. 1982. The Radiation of Sensitizing Effect of PSK in the Treatment for the cervical Cancer Patients. *Excerpta Medica*, 1: 463-466
- Kaşık, G. 1994. Konya İlinde Ağaçlarda yetişen Bazı Makrofungusların Taksonomisi üzerinde bir Araştırma. *T. J. of Botany*, 18: 23-27
- Kaşık, G., Doğan, H.H., Öztürk, C., Aktaş, S. 2004. New Records in *Coprinaceae* and *Bolbitiaceae* from Mut (Mersin) District. *T. J. of Botany*, 28: 449-455
- Kaşık, G., Öztürk, C. 1995. Aksaray İlinde Tespit Edilen Yenen Zehirli Yenmez Durumda Olan Bazı Makromantarlar. *T. J. of Botany*, 19: 401-403
- Kaşık, G., Öztürk, C. 1998. İstanbul'da Görülen Mantar Zehirlenmelerinden Sonra Tespit Edilen Makrofunguslar. *Selçuk Üniversitesi Fen-Ebd. Fak. Fen Dergisi*, 15: 41-46
- Kaşık, G., Öztürk, C., Türkoğlu, A., Doğan, H. H. 2003. Macrofungi of Yahyalı (Kayseri) Province. *T. J. of Botany*, 27: 453-462
- Kaya, A. 2000. Two New Genus Records for the Mycoflora of Turkey. *T. J. of Botany*, 24: 285-288
- Kaya, A. 2001. Contributions to the Macrofungi Flora of Bitlis Province. *T. J. of Botany*, 25: 379-383
- Kaya, A., Demirel K. 2000. New Additions to Turkish Entolomataceae. *Hacettepe Bulletin of Naturel Sciences and Engineering, Series A*, 28: 39-43
- Kaya, A., *Muş ve Bitlis Yörelerinde Yetişen Yenen ve Zehirli Makrofunguslar Üzerinde Taksonomik bir Araştırma*, Doktora Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, 1999.
- Kellogg, E.A. 1998. Who's Related to Whom? Recent Results from Molecular Systematic Studies. *Current Opinion in Plant Biology*, 1,(2): 149-158
- Kemptom, P.E., Wells, V.L. 1973. Studies on the Fleshy Fungi of Alaska. 5. Notes on *Gyromitra*. *Mycologia*, 65,(2): 396-400
- Kotlaba, F. 1976. Contributions to the Knowledge of the Turkish Macromycetes. *Ceska Mycologie*, 30: 156-159
- Köstekçi, H., *Türkmenbaba Dağı (Eskişehir) Makrofungusları Üzerine Taksonomik Araştırmalar*, Yüksek Lisans Tezi, Osman Gazi Üniversitesi, 2004.
- Kuiper, J.M., Zabeau, M. 1995. Aflp: A New Technique for DNA Fingerprinting. *Nucleic Acids Research*, 23,(21): 4407-4414
- Kuru, F., Yeşilada, Ö., 2008. *Funalia trogii* İle Katı Substrat Fermantasyonu Sürecinde Lakkaz Üretimi. 19. *Ulusal Biyoloji Kongresi*, 23-27 Haziran 2008, Trabzon. Bildiriler: 282

- Lamaison, J.L., Polese, J.M., 2005. *The Great Encyclopedia of Mushrooms*, Könemann, 230p.
- Lee, C., Wen, J. 2004. Phylogeny of *Panax* Using Chloroplast Trnc-Trnd Intergenic Region and the Utility of Trnc-Trnd in Interspecific Studies of Plants. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 31,(3): 894-903
- Lehninger, A.L., Nelson, D.L., Cox, M., 1993. *Principles of Biochemistry, Second Edition*, Worth Publishers, New York, G-8p
- Leu, S., Schlesinger, J., Michaels, A., Shavit, N. 1992. Complete DNA Sequence of the *Chlamydomonas reinhardtii* Chloroplast *atpA* gene. *Plant Mol. Biol.*, **18**: 613–616.
- Liston, A. 1992. Variation in the Chloroplast Genes *rpoC1* and *rpoC2* of the Genus *Astragalus* (Fabaceae): Evidence from Restriction Sitemapping of a PCR-amplified Fragment. *American Journal of Botany* 79: 953–961.
- Liddell, H. G., Scott R., 1980. *A Greek-English Lexicon* (Abridged ed.), Oxford University Press., Oxford, 16: 4-199
- Lincoff, H.G., 1988, *The Audubon Society Field Guide to North American Mushrooms*, Chanticleer Press Inc. New York, 3p.
- List, P.H., Luft, P. 1967. Gyromitrin das Gift der Frühjahrslorchel *Gyromitra* (*Helvella*) *esculenta* Fr. *Tetrahedron Letter*, 1893-1894
- Liu, J.Q., Gao, T.G., Chen, Z.D., Lu, A.M. 2002. Molecular Phylogeny and Biogeography of the Qinghai-Tibet Plateau Endemic *Nannoglottis* (Asteraceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 23,(3): 307-325
- Lohwag, K. 1957. Türkiye'nin Mantar Florası Hakkında Araştırma” (çeviren: H. Ünlügil). *İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, Seri A, 7, (1): 129-137
- Lohwag, K. 1959. Kavaklarda Odun Tahripçisi Mantarlar (Çeviren: Selik, M.). *İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, Seri A, 9,(1): 7-10
- Lohwag, K. 1964. Belgrad Ormanından Mikolojik Notlar, (çeviren: Selik, M.). *İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, Seri B,14,(2): 128-135
- Lohwag, K. 1965. Ankara ve Çevresindeki Ağaçlara Arız Olan Mantar Türleri” (çeviren: Karaca I., Göbelez M.). *Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yıllığı*, Fasikül 4: 246-249
- Loo, A.H.B., Dransfield, J., Chase, M.W., Baker, W.J. 2006. Low-Copy Nuclear DNA, Phylogeny and the Evolution of Dichogamy in the Betel Nut Palms and Their Relatives (Arecinae; Arecaceae). *Mol. Phyl. and Evol.*, 39,(3): 598-618

Lymberakis, P., Poulakakis, N., Manthalou, G., Tsigenopoulos, C.S., Magoulas, A., Mylonas, M. 2007. Mitochondrial Phylogeography of Rana (Pelophylax) Populations in the Eastern Mediterranean Region. *Mol. Phyl. and Evol.*, 44(1): 115-125

Magnusson, B. 2000. Swedish Patent, No: 9803128-9 B

Maire, M., 1904. *Etude des Champignons Récoltés en Asie Mineure*, Bull. Société des Sciences de Nancy, 3 ième Série,7: 165p.

Malyshev, S.C., Kartel, N. A. 1997. Molecular Markers in Mapping of Plant genome. *Belarus Mol. Biol.*, 31: 163-171.

Markova, S., Dufresne, F., Rees, D.J., Cerny, M., Kotlik, P. 2007. Cryptic Intercontinental Colonization in Water Fleas *Daphnia Pulicaria* Inferred from Phylogenetic Analysis of Mitochondrial DNA Variation. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 44,(1): 42-52

Mat, A., 2000. *Türkiye’de Mantar Zehirlenmeleri ve Zehirli Mantarlar*, Nobel Tıp kitabevleri, (2): 116p.

Max, K.N., Mouchaty, S.K., Schwaegerle, K.E. 1999. Allozyme and Morphological Variation in Two Subspecies of *Dryas octopetala* (Rosaceae) in Alaska. *Am. J. Bot.*, 86,(11): 1637-1644

McKenny, M., Stuntz, D. E., 1987. *The New Savory Wild Mushroom. 3rd ed.*, University of Washington Press, Seattle, 205p.

McKnight, K. H. 1971. *The Great Basin Naturalist Vol 31: On Two Species of False Morels [gyromitra) in utah*. Brigham Young University press., Utah, 47p.

Mendil, D., Uluözü, Ö. D., Tüzen, M., Hasdemir, E., Sarı, H. 2005. Trace Metal Levels in Mushroom Samples from Ordu-Turkey. *Food Chemistry*, 91: 463-467

Michelot, D., Toth, B. 1991. Poisoning by *Gyromitra esculenta*—a review. *J. App. Toxicol.*, 11: 235-43

Mingliang, X.L., Schuyler S.K. 2000. Aflp-Based Detection of DNA Methylation. *Plant Molecular Biology Reporter*, 18: 361–368

Moncalvo, J.M., Nilsson, R.H., Koster, B., Dunham, S.M., Bernauer, T., Matheny, P.B., Porter, T.M., Margaritescu, S., Wei, M., Danel, E., Langer, G.-E., Larsson, E.-K.H. 2006. The Cantharelloid Clade: Dealing with Incongruent Gene Trees and Phylogenetic Reconstruction Methods. *Mycologia*, 98,(6): 937-948

Money, T., Qu, L.J., Roy P. Moore, D.G. 1996. AFLP-Based mRNA Fingerprinting. *Nucleic Acids Research*, 24,(13): 2616–2617

Morse, E.E. 1945. Some Western Discomycetes *Gyromitra esculenta*, *Helvella lacunosa*. *Mycologia*,37: 414-424

- Motomi Ito, T.Y., Robert, M. K., Watanabe, K., Oshita S., Daniel, J.Y., Crawford, J. 2000. Molecular Phylogeny of Eupatorieae (Asteraceae) Estimated from Cpdna Rflp and Its Implication for the Polyploid Origin Hypothesis of the Tribe. *Journal of Plant Research*, 113: 91-96
- Mubumbila, M.A.V., Carelse, O., Kempf, J. 1993. Solution by Asymmetric Polymerase Chain Reaction and Partial Sequencing of the Common Bean Chloroplast trnL (UAA) Gene and Pseudogene. *Phytochemical Analysis*, 4,(3): 145-148
- Nagahama, T., Sato, H., Shimazu, M., Sugiyama, J. 1995. Phylogenetic Divergence of the Entomophthoralean Fungi: Evidence from Nuclear 18S Ribosomal RNA Gene Sequence. *Mycologia*, 87: 203-209
- Nagel, D., Walcave, L., Toth, B., Kupper, R. 1977. Formation of Monomethylhydrazine from Acetaldehyde-N-methyl-formylhydrazone, a Component of *Gyromitra esculenta*. *Cancer res.*, 37: 3458-3460
- Nanba, H. 1993. Antitümör Activity of Orally Administered "D Fraction" from Maitake Mushroom (*Grifola frondosa*). *J.Naturopathic Med.*, 4:10-15
- Nelson, A.D., Elisens, W. 1999. Polyploid Evolution and Biogeography in Chelone (Scrophulariaceae): Morphological and Isozyme Evidence. *Am. J. Bot.*, 86,(10): 1487-1501
- Niemala, T., Uotiola, P. 1977. Lignicolous Macrofungi from Turkey and Iran. *Karstenia*,17: 33-39
- O'Donnell, K., Cigelnik E., Weber, N. S., Trappe, J. M. 1997. Phylogenetic Relationships among Ascomycetous Truffles and the True and False Morels Inferred from 18S and 28S Ribosomal DNA Sequence analysis. *Mycologia*, 1997; 89, (1): 48-65
- Ogden, T. H., Whiting, M. F. 2005. Phylogeny of Ephemeroptera (Mayflies) Based on Molecular Evidence. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 37,(3): 625-643
- Ohta, N., Nagashima, H., Kawano, S., Kuroiva, T. 1992. Isolation of the Chloroplast DNA and the Sequence of the *trnK* Gene from *Cyanidium caldarium* Strain RK-1. *Plant Cell Physiol.*, 33,(5): 657-661.
- Okogbenin, E., Fregene, M. 2006. Development of SSR Markers for the Cassava Molecular Genetic Map. *Euphytica*, 147: 433-440
- Oxelman, B., Yoshikawa, N., McConaughy, B.L., Luo, J., Denton, A.L., and Hall, B.D. 2004. Rpb2 Gene Phylogeny in Flowering Plants, with Particular Emphasis on Asterids. *Mol. Phyl. and Evol.*, 32,(2): 462-479
- Öder, N. 1976. İç Ege ve Batı Karadeniz Bölgelerinin Bazı Önemli Yeniden Mantar Türleri. *Türkiye 1. Yemeklik Mantar Kongresi*, 7-10 Augustos 1976, Yalova. Bildiriler: 13-15

Öder, N. 1982. Kastamonu Çevresinde Yetişen Bazı Şapkalı Mantarlar. *Selçuk Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Dergisi*, Seri B, 2: 39-40

Öder, N. 1986. Karadeniz Bölgesinde (Sinop-Artvin illeri arası) Yetişen Önemli Bazı Zehirli Mantarlar Üzerinde Taksonomik Araştırmalar. *Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Dergisi*, 5: 87-104

Öder, N. 1988. Karadeniz Bölgesinde (Sinop-Artvin illeri arası) Yetişen Halkın Tanıdığı Bazı Önemli Yenen Mantarlar Üzerinde Taksonomik Araştırmalar. *Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Dergisi*, 8: 215-257

Öder, N. 1988. Konya Merkez ve Bazı İlçelerinde Yetişen Önemli Yenen ve Zehirli Mantarlar Üzerinde Taksonomik Araştırmalar. *Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Dergisi*, 8: 237-257

Öder, N., 1977. *Bazı Zehirli Mantarlar ve Mantar Zehirlenmelerinde İlk Yardım*, Şafak Matbaası, Ankara, 90p.

Öder, N., 1978. Orta ve Doğu Karadeniz Bölgesi Yenen ve Zehirli Mantarları Üzerinde Taksonomik Araştırmalar, TÜBİTAK, Proje no: TBGA 267, Ankara, 1-59 (1978).

Öder, N., *Bolu İli ve Çevresinde Yetişen Zehirli ve Yenen Şapkalı Mantarlar Üzerinde Taksonomik Araştırmalar*, Doktora Tezi. *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, 1972

Öner, M., A. 1972. Contribution to the Knowledge of Common Turkish Higher Fungi. *Mycopathologia et Mycologia Applicata*, 47, (4): 369-373

Öner, M., Dizbay, M., Uçar, F., Karaboz, İ. 1984. Güneybatı Anadolu ve Konya İline Ait Bazı Parazitik Funguslar. *Doğa Bilim Dergisi*, A2: 3-8

Öner, M., Gezer, K. 2004. A Contribution to Macrofungi of Western Part of Turkey. *Journal food science*, 27: 17-18

Özcan, S., Gürel, E., Baboğlu, M., 2001. *Bitki Biyoteknolojisi*, S.Ü. Yayınevi, Konya, 30p.

Öztürk, S. Ercisli, S. 2007. Antibacterial Activity and Chemical Constitutions of *Ziziphora Clinopodioides*. *Food Control*, 18,(5): 535-540

Öztürk C. 2002. Türkiye Makrofungus Florası İçin İki Yeni Kayıt. *Ot Sistematik Botanik Dergisi*, 9,(1): 117-120

Öztürk, A., Arık, İ. H., Demirel, K. 1990. İnegöl (Bursa) Çevresinde Yetişen Zehirli ve Yenen Mantarlar Üzerinde Sistematik, Morfolojik ve Ekolojik İncelemeler. *Fen Bilimleri Dergisi*, 1,(1): 27-38

Öztürk, C., Kaşık G., 2000. *Kültür Mantarı (Agaricus bisporus) Yetiştiriciliği*, Marifet Matbaa ve Kağıtçılık , Konya, 15p.

Öztürk, C., Kaşık, G., Doğan, H.H., Aktaş, S. 2003. Macrofungi of Alanya District. *T. J. of Botany*, 27: 303-312

Parlak, S., *Marmara Bölgesinde Yetiştirilen bazı Zeytin (Olea europaea) Kültivarlarının Moleküler Sistematik Analizi*, Yüksek lisans tezi, Balıkesir üniversitesi, 2007.

Parlak, Y. ve Gücin, F. 1993. The Determination of Mushrooms and Plant Parasitic Fungi around Çıldır Lake in Turkey. *Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 5,(2): 89-92

Pearson, T., U'Ren, J.M., Schupp, J.M., Allan, G.J., Foster, P.G., Mayo, M.J., Gal, D., Choy, J.L., Daugherty, R.L., Kachur, S., Clark Friedman, C.L., Leadem, B., Georgia, S., Hornstra, H., vogler, A.J., Wagner, D.M., Keim, P., Currie, B.J. 2007. Vntr Analysis of Selected Outbreaks of Burkholderia Pseudomallei in Australia. *Infection, Genetics and Evolution*, 7: 416-423

Pekşen, A., Karaca, G. 2003. Macrofungi of Samsun Province. *T. J. of Botany*, 27: 173-184

Perdices A., Cunha, C., Coelho, M.M. 2004. Phylogenetic structure of *Zacco platypus* (Teleostei, Cyprinidae) Populations on the upper and middle Chang Jiang (¼Yangtze) Drainage Inferred from Cytochrome b Sequences. *Mol. Phyl. and Evol.*, 31: 192-203

Perneel, M., Tambong, J.T., Adiobo, A., Floren, C., Saborio, F., Levesque, A., Hofte, M. 2006. Intraspecific Variability of *Pythium myriotylum* Isolated from Cocoyam and Other Host Crops. *Mycological Research*, 110,(5): 583-593

Persoon, C. H., 1800. *Comm. Schaeff. Icon. Pict.* 64p.

Phillips, R., 2006. *Mushrooms*, Macmillan press., London, 358p.

Pilat, A. 1932. Additamenta and floram Asiae Minoris Hymenomycetum", Pars Secunda: Agaricineae. *Bull. Soc. Myc.*, 48, (3-4): 283-302

Pilat, A. 1937. Additamenta and Floram Asiae Minoris Hymenomycetum et Gasteromycetum. *Bull. Soc. Bot.*, 53,(3-4): 253-264.

Podoplelova, Y., Ryzhakov, G. 2005. Phylogenetic Analysis of the Order Nymphaeales Based on the Nucleotide Sequences of the Chloroplast Its2-4 Region. *Plant Science*, 169,(3): 606-611

Pritchard, N. H., Bradt, T. P., 1984. *Biology of Nonvascular Plants*, Times Mirror/Mosby Colloge publishing, Toronto, 236p.

Pyssalo, H., Niskanen, A. 1977. On the Occurrence of N-methyl-N-formylhydrazones in Fresh and Processed False Morel, *Gyromitra esculenta*. *J Agric Food Chem*, 25: 644-647

Pyysalo, H. 1975. Some New Toxic Compounds in False Morels, *Gyromitra esculenta*. *Naturwissenschaften*, 62: 395-400

Qui, Y.L., Lee, J.H., Bernasconi-Quadroni, F., Soltis, D.E., Soltis, P.S., Zanis, M., Zimmer, E.A., Chen, Z.D., Savolainen, V., Chase, M.W. 1999. The Earliest Angiosperms, Evidence from Mitochondrial, Plastid and Nuclear Genoms. *Nature*, 402: 404-407

Raitviir, A., 1965. Taxonomical Notes on the Genus *Gyromitra*. *Eesti NSV Teaduste Akadeemia Toimetised, Bioloogiline Seeria*, 14: 320-324

Ratnasingham, S , Hebert, P. D., 2007. The Barcode of Life Data System (<http://www.barcodinglife.org>). *Molecular Ecology Notes*, 7: 355–364.

Re' Mi, A., Wattier, A.L.D., Barbara A. W., Maggs, C.A. 2001. Cpdna-Rflp in *Ceramium* (Rhodophyta): Intraspecific Polymorphism and Species-Level Phylogeny. *American journal of botany*, 88,(7): 1209-1213

Redecker, D., Raab, P. 2006. Phylogeny of the Glomeromycota (Arbuscular mycorrhizal fungi): Recent Developments and New Gene Markers. *Mycologia*, 98,(6): 885-895

Resta, P., Zhang, H., Dubcovsky, B., Dvorak, J. 1996. The Origins of the Genomes of *Triticum biunciale*, *T. ovatum*, *T. neglectum*, *T. columnare* and *T. rectum* (Poaceae) Based on Variation in Repeated Nucleotide Sequences. *Am. J. Bot.*, 83,(12): 1556-1565

Rigler, L., 1852. *Die Turkei und Deren Bewohner*, Bd:I: Wien, Germany, 111p.

Ro, K. E., Keener, C. S., McPheron, B. A. 1997. Molecular Phylogenetic Study of the Ranunculaceae: Utility of the Nuclear 26s Ribosomal DNA in Inferring Intrafamilial Relationships. *Mol. Phyl. and Evol.*, 8,(2): 117-127

Rumack, B.H., Salzman, E., 1978. Mushroom poisoning; Diagnosis and Treatment CRC pres. Inc., Florida, 263p.

Rutschmann, M.A., Buser, H.R. 1991. Determination of Daminozide and Dimethylhydrazine Residues in Swiss Apple Juice Concentrates Using Gas Chromatography-mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39,(1): 176-181

Savolainen, V., Chase, M. W., Hoot, S. B., Morton, C. M., Bayer, C., Fay, M. F., De Bruijn, A. Y., Sullivan, S., Qui Y. L. 2000. Phylogenetics of Flowering Plants Based on Combined Analysis of Plastid Atpb and Rbcl Gene Sequences. *Systematic biology*, 49: 306-362

Schlötterer, C. 2000. Evolutionary Dynamics of Microsatellite DNA. *Chromosoma*, 109: 365-371

Schmidlin-Meszaros, J. 1974. Gyromitrin in Trockenlorcheln (*Gyromitra esculenta* sicc.). Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. 65: 453-465

Schonwald, S., 2004. *Mushrooms in: Dart RC (Ed). Medical Toxicology. 3rd ed*, Lippincot Williams & Wilkins, New York

Schweizer, M., Pawlowski, J., Duijnste, I.A.P., Kouwenhoven, T.J., van der Zwaan, G.J. 2005. Molecular Phylogeny of the Foraminiferal Genus *Uvigerina* Based on Ribosomal DNA Sequences. *Marine Micropaleontology*, 57, (3-4): 51-67

Selik, M. 1957. Güneybatı Anadolu'da Odun Tahrip Eden Bazı Mantarlar ve Bilhassa *Schizophyllum commune* Fr. *İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, (çeviren: Selik, M.). Seri A, 9,(1): 7-10

Selik, M. 1965. Belgrad Ormanında Bulunan Yeniden Mantarlar. *İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, Seri A,15,(2) : 48-55

Selik, M. 1973. Doğu Karadeniz Bölgesi, Özellikle Trabzon Civarında Odun Tahripçisi Mantarlar. *İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, Seri A, 23,(2) : 33-38

Selik, M., Sümer, S. 1982. Some New Additions to Turkey Fungus Flora. *İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, Seri A, 32, (2): 28-32

Selik, M., Aksu, S. 1967. İstanbul'un Park ve Korularındaki Yerli ve Yabancı Ağaç Türlerine Arız Olan Odun Tahrip Eden Mantarlar. *İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, Seri A, 17,(1) : 90-95

Sesli, E. 1993. Trabzon İli Maçka Yöresi Makrofungusları. *T. J. of Botany*, 17,(3): 179-182

Sesli, E. 1995. *Tulostoma brumale* Pers. : Pers. Gasteromycetes'lerden Türkiye için Yeni bir Kayıt. *T. J. of Botany*, 19: 599-600

Sesli, E. 1996. Two New Records in Agaricales for Turkey. *T. J. of Botany*, 20: 469-472

Sesli, E. 1998. Four Interesting Records of Pezizales of the Macrofungi Flora of Turkey. *T. J. of Botany*, 22: 289-293

Sesli, E. 1998. Ten New Records of Macrofungi for Turkey. *T. J. of Botany*, 22: 43-50

Sesli, E., Denchev, C. M. 2005. Checklist of Myxomycetes and Macromycetes in Turkey. *Mycologia Balcanica*, 2: 119-160

Sesli, E., Denchev, D.C. 2008. Checklists of the Myxomycetes, larger Ascomycetes, and larger Basidiomycetes in Turkey. *Mycotaxon*, 106: 65-67.

Sesli, E., *Trabzon Yöresinde Yetişen Makromantarlar Üzerinde Taksonomik Bir Araştırma*, Doktora tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, 1994.

Sesli, E., Türkekul, İ. 2000. Three New Records for the Turkish Mycoflora. *T. J. of Botany*, 24: 259-262

Sesli, E., Wright J.E., Turkekul, İ. 2000. The Genus *Tulostoma* Pers. : Pers. (Gasteromycetes) in Turkey. *T. J. of Botany*, 24: 269-272

Simpson, D.P., 1979. *Cassell's Latin Dictionary (5th ed.)*, Cassell. London, 883p.

Slanina, P., Cekan, E., Halen, B., Bergman, K., Samuelsson, R. 1993. Toxicological Studies of the False Morel (*Gyromitra esculenta*): Embryotoxicity of Monomethylhydrazine in the Rat. *Food Addit. Contam.*, 10,(4):391-398

Small, R.L., Wendel, J.F. 2000. Phylogeny, Duplication, and Intraspecific Variation of Adh Sequences in New World Diploid Cottons (*Gossypium* L., Malvaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 16,(1): 73-84

Solak, M.H., Yılmaz Ersel, F., Işıloğlu, M. 2004. Five New Record of *Morchella* Genus for Turkey. *Mycology an Phytopathology*, 38: 60-66

Solak, M.H., Yılmaz-Ersel, F., Kalmış, E., Kalyoncu, F. 2005. Morphological and Anatomical Characterization of *Morchella exima* f. *schizocostata* jct. Recorded for the First Time in Turkey. *Acta Edilus Fungi*, 12: 92-94

Solak, H., Işıloğlu, M., Kalmış, E., Allı, H., 2007. *Macrofungi of Turkey*, Üniversiteliler Ofset, İzmir, 1: 86p.

Solak, M.H. 1998. A New Ascomycete Genus (*Cyathipoda* Boud.) Records for the Fungi Flora of Turkey. *T. J. of Botany*, 22: 347-348

Solak, M.H. ve Gücin, F., 1990. Bursa Yöresinden Bazı Makrofunguslar. *X. Ulusal Biyoloji Kongresi*, 18-20 Temmuz 1990, Botanik Bildirileri 2: 163-171

Solak, M.H., Gücin, F., 1992. Bursa'nın Yeniden Mantarları. *Türkiye IV. Yemeklik Mantar Kongresi*, 1992, *Tarım Araştırmaları Destekleme ve Geliştirme Vakfı Bildiri Kitabı*, 1: 61-68

Solak, M.H., Gücin, F., Işıloğlu, M., Pacioni G. 2003. A New Record of *Geopora cooperi* F. *Cooperi* From West Asia. *Pak. J. Bot.*, 35,(4): 473-475

Solak, M.H., Işıloğlu, M., Gücin, F., Gökler, İ. 1999. Macrofungi of İzmir Province. *T. J. of Botany*, 23: 383-390

Solak, M.H., Kalmış, E., Işıloğlu, M. 2001. New Records for the Fungi, Flora of Turkey. *Bio-Science Research Bulletin*, 17,(2): 99-103

- Solak, M.H., Yılmaz Ersel, F., Allı, H., Işıloğlu, M. 2004. A New Record of *Morchella* Species from West Anatolia. *Bulletion of Pure and Applied Sciences*, 23: 31-33
- Solak, M.H., Yılmaz, F. 2003. Muğla Yöresinden Türkiye Makromikotasına Yeni Kayıtlar. *Ekoloji Dergisi*, 12,(48): 10-12
- Soltis, D.E., Soltis, P.S., Clegg, M.T., Durbin, M. 1990. rbcL Sequence Divergence and Phylogenetic Relationships in Saxifragaceae sensu lato. *Evolution*, 87: 4640-4644
- Soltis, D.E., Soltis, P.S., Nicrent, D.L., Johnson, L.A., Hahn, W.J., Hoot, S.B., Sweere, J.A., Kuzoff, R.K., Kron, K.A., Chase, M.W., Swensen, S.M., Zimmer, E.A., Chaw, S.M., Gillespie, L.J., Kress, W.J., Sytsma, K.J. 1997. Angiosperm Phylogeny Inferred from 18 S Ribosomal DNA Sequences. *Ann. Miissouri Bot. Garden*, 84: 381-461
- Spoerke, D. G., Rumack, B. H., 1994. *Handbook of Mushroom Poisoning. Diagnosis and Treatment*, CRC Press, Boca Raton, 279-87p.
- Spooner, B.2003. The Larger Cup In Britain. *Field miycology*, 4,(2): 25-36
- Stuber, W.C. 1992. Biochemical and Molecular Markers in Plant Breeding. *Plant Breeding News*, 9: 36-31
- Su, B., Wang, Y-X, Lan, H., Wang, W., Zhang, Y. 1999. Phylogenetic Study of Complete Cytochrome B Genes in Musk Deer (Genus *Moschus*) Using Museum Samples. *Mol. Phyl. and Evol.*, 12,(3): 241-249
- Sugiyama, J., Hosaka, K., Suh, S-Q. 2006. Early Diverging Ascomycota: Phylogenetic Divergence and Related Evolutionary Enigmas. *Mycologia*, 98,(6): 996-1005
- Sümer, S. 1976. Belgrad Ormanından Kesilmiş Odunlara Arız Olan Önemli Odun Tahripçisi Mantarlar Üzerinde Araştırmalar. *İstanbul Üniversitesi Orman fakültesi Dergisi*, Seri A, 26,(1): 175-235
- Sümer, S. 1977. Belgrad Ormanındaki Ağaçlarda Çürüklük Doğuran Önemli Mantarlar. *İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Yayınları*, İstanbul, 239-244
- Sümer, S. 1989. Some New Records for the Fungal Flora of Turkey. *Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, Sayı 6: 121-124
- Sümer, S., 1982. *Batı Karadeniz Bölgesi, özellikle Bolu Çevresinde Bulunan Odun Tahripçisi Mantarlar*, İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Yayınları, İstanbul, 297p.
- Sümer, S., 1982. *Türkiye'nin Yeneni Mantarları*, Ersu Matbaacılık, İstanbul, 102p.

Tamer, A. Ü. Altan, Y. ve Gücin, F., 1990. Elazığ Hazar Dağı Bitkilerinde Belirlenen Parazit Funguslar. *X. Ulusal Biyoloji Kongresi*, 18-20 Temmuz 1990, Botanik Bildirileri 2: 173-181

Tamer, A. Ü. Altan, Y., Gücin, F. 1990. Doğu Anadolu Florasında Belirlenen Bazı Parazit Funguslar. *Tr. J. Botany*, 14: 83-86

Tamer, Ü., Gücin, F., Solak, H., 2008. *Mikolojiye Giriş*, Manisa, 150p.

Tanksley, S.D., Young, N.D., Peterson, A.H., Bonierbale, M.W. 1989. RFLP Mapping in Plant Breeding: New Tools for an Old Science. *Nature Biotechnology*, 7: 257-264

Taylor J.W., Berbee, M. 2006. Dating Divergences in the Fungal Tree of Life: Review and New Analyses. *Mycologia*, 98,(6): 838-849

Tchihatcheff, P., 1860. *Asie Mineure III, Botanique, II*: Paris, 670p.

Tokita, F., Shibukava, N., Yasumoto, T., Kaneda, T. 1972. Isolation and Chemical Structure of the Plasmocholesterol Reducing Substance from Shiitake Mushroom. *Mushroom Science*, 8: 783-788

Toprak E., *Niğde İl Sınırları İçerisinde Yetişen Makrofunguslar Üzerinde Taksonomik Araştırmalar*, Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi, 1995.

Toritsu, M., Hayashi, Y., Ishimitsu, T., Fujimura, T., Iwasaki, K., Katano, M, Yamamoto, H., Kimura, Y., Takesue, M., Kondo, M. 1990. Significant Prolongation of Disease-free Period Gained by Oral Polysaccharide K (PSK) Administration after Curative Surgical Operation of Colorectal Cancer. *Cancer Immunol Immunother.*, 31,(5): 261-268.

Torrioni, A., Achilli, A., Macaulay, V., Richards, M., Bandelt, H-J. 2006. Harvesting the Fruit of the Human mtDNA tree. *Trends Genet*, 22: 339-345.

Toth, B., Patil, K., Pyysalo, H., Stessman, C., Gannett, P. 1992. Cancer Induction in Mice by Feeding The Raw False Morel Mushroom *Gyromitra esculenta*. *Cancer research*, 52: 2279-2284

Türkoğlu, A., Işıloğlu, M., Allı, H., Karakuş, T. 2009. A False Morel, *Gyromitra esculenta* (Pers.) Fr. (Ascomycetes), Poisoning in Turkey. *International Journal Of Medicinal Mushrooms*, 11(1): 101-102

Ünyayar, A., Demirbilek, M., Türkoğlu, M., Çelik, A., Mazmanci, M.A., Erkut, E. A., Ünyayar, S. Çekiç, Ö., Ataçağ, H. 2007. Evaluation of Cytotoxic and Mutagenic Effects of *Coriolus versicolor* and *Funalia trogii* Extracts on Mammalian cells. *Drug and Chemical Toxicology*, 29: 69-83.

Vooren, N.V., Moreau, P-A. 2009. Essai Taxinomique Sur le Genre *Gyromitra* Fr. *Sensu Lato* (Pezizales) 1. Le genre *Gyromitra* Fr., Sous-Genre *Gyromitra*. *Ascomycete.org*, 1,(1) p: 7-14.

- Vooren, N.V., Moreau, P-A. 2009. Essai Taxinomique Sur le Genre *Gyromitra* Fr. *Sensu Lato* (Pezizales) 1. Le Genre *Gyromitra* Fr., Sous-Genre *Gyromitra*. *Ascomycete.org*, 1,(4) p: 3-10.
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., Lee, T. V. D., Hornes, M., Friters, A., Pot, J., Paleman, J., Kuiper, M., Zabeau, M. 1995. AFLP: A New Technique for DNA Fingerprinting. *Nucl. Acids Res.*, 23,(21): 4407-4414
- Wagner, H., Proksch, A. 1985. Immünostümülatory Drugs of Fungi and Higher Plants. *Economic and Medicinal Plant Research*, New York.
- Wang, Y. C. 1985. Mycology in China With Emphasis on Review of the Ancient Literature. *Acta Mycol. Sin.*, 4: 133-140
- Wasser, S.P., Weis, A.L. 1999. Medicinal Properties of Substances Occuring in Higher Basidiomycetes Mushrooms: Current Perspectives. *Int. J. Med. Mushrooms*, 1: 31-62
- Watling, R. Işıloğlu, M. 1991. *Torrendia pulchella* Bres. A. New and Interesting Record from Turkey. *T. J. of Botany*, 15,(3): 297-299
- Watling, R., Gregory, N.M. 1977. Larger fungi from Turkey. İran and Neighbouring Countries. *Karstenia*, 17: 59-72
- Watling, R., Gücin, F., Işıloğlu, M. 1995. *Batarraea phalloides* Its History, Biology and Extension to its Distribution. *Nova Hedwigia*, 60: 13-18
- Wattier, R. M., Barbara A. W., Maggs, C.A. 2001. Cpdna-Rflp in Ceramium (Rhodophyta): Intraspecific Polymorphism and Species-Level Phylogeny. *American journal of botany*, 88,(7): 1209-1213
- Welsh, J., McClelland, M. 1990. Fingerprinting Genomes Using PCR with Arbitrary Primers. *Nucleic Acids Research*, 18: 7213-7218
- White, M.M., James, T.Y., O'Donnell, K., Cafaro, M.J., Tanabe, Y., Sugiyama, J. 2006. Phylogeny of the Zygomycota Based on Nuclear Ribosomal Sequence data. *Mycologia*, 98,(6): 872-884
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S., Taylor. J., 1990. *Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics*, Academic Press, san Diego, 315p.
- Whitkus, R., Doebley, J., Wendel, J.F., 1994. *DNA- Based Markers in Plants*, Kluwer Academic Publishers, Netherlands, 40p.
- Williams, J.G.K., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A. 1990. DNA Polymorphisms Amplified by Arbitrary Primers are Useful as Genetic Markers. *Nucleic Acids Research*, 18: 6531-6535

Wood, S.L., 1971. *The Great Basin Naturalist*, Brigham Young University Press, Utah, 113p.

Wough, R., Powell, W. 1992. Using Rapd Markers for Crop Improvement. *Tibtech*, 101: 186-191

Wright, A., Pyysalo, H., Niskanen, A. 1978. Quantitative Evaluation of the Metabolic Formation of Methylhydrazine from Acetaldehyde N-methyl-N-formylhydrazone, the Main Poisonous Compound of *Gyromitra esculenta*. *Toxicol. Letter*, 2: 261-265.

Xu, D.H., Abe, J., Kanazawa, A., Gai, J.Y., Shimamoto, Y. 2001. Identification Sequence Variations by PCR-RFLP and Its Application to the Evaluation of cpDNA Diversity in Wild and Cultivated Soybeans. *Theor Appl Genet.*, 102: 683-688

Yalınkılıç M. K., Kalay H.Z., Tüfekçiöğlü A., Karagül R., Sesli E., 1992. *Morchella* sp. Mantarlarının Orman Tali Ürünü Olarak Önemi ve Trabzonda Lokal Bir Yayılış Alanındaki *Morchella* Türlerinin İncelenmesi. *Ulusal Orman Ürünleri Endüstri Kongresi*, 22-25 Eylül 1992, Bildiri Metinleri: 177-198

Yamaç, Yıldız, D., Sarıkürkcü, C., Çelikkollu, M., Solak, M.H. 2007. Heavy Metals in some Edible Mushrooms from Central Anatolia, Turkey. *Food Chemistry*, 103: 263-267

Yıldız, A., Ertekin, A. S. 1996. Bazidyomiset Makrofunguslarından Türkiye için iki yeni kayıt. *Ot Sistematik Botanik Dergisi*, 3,(1): 55-58

Yıldız, A., Ertekin, A. S. 1997. Contributions to the Macrofungual Flora of Diyarbakır. *T. J. of Botany*, 21: 119-122

Yılmaz Ersel, F., Solak, M.H. 2005. A New Record and Checklist of *Hydnellum* for Turkey. *G. Ü. Journal of Science*, 18,(2): 183-185

Yılmaz Ersel, F., Solak, M.H. 2005. *Russula* Species and A New Record of Turkey. *Ekoloji*, 14,(55): 32-36

Yılmaz Ersel, F., Solak, M.H., Işıloğlu, M. 2005. A New Genus Record for Turkish Macromycota. *Dumlupınar Üniv. Fen Bilimleri Dergisi*, 8: 207-209

Yılmaz Ersel, F., Solak, M.H., Işıloğlu, M., Yabancı, M., 2004. Türkiyenin Ramaria Türleri. 17. *Ulusal biyoloji kongresi*, 21-24 Haziran 2004. Adana. Bildiriler: 18

Yılmaz, F., Öder, N., Işıloğlu, M. 1997. The Macrofungi of the Soma (Manisa) and Savaştepe (Balıkesir) Disricts. *T. J. of Botany*, 21: 221-230

Yokoyama, J., Suzuki, M., Iwatsuki, K., Hasebe, M. 2000. Molecular Phylogeny of Coriaria, with Special Emphasis on the Disjunct Distribution. *Mol. P. and Evol.*, 14,(1): 11-19

Zhang, D. 1999. Physical Mapping of Ribosomal RNA Genes in Peonies (*Paeonia*, Paeoniaceae) by Fluorescent in Situ Hybridization: Implications for Phylogeny and Concerted Evolution. *American journal of botany*, 86: 735-740

Zhu, X.Y., Yu, H.Y. 1990. Immunosuppressive effect of Cultured *Cordyceps sinensis* on cellular immun response. *Chinese Journal of Modern Developments in Traditional Medicine*, 10: 485-487

Zwara, J. 1932. Contribution A'la des Russules de l'Asie Mineure. *Bull. Soc. Bot.*, 48: 253-258

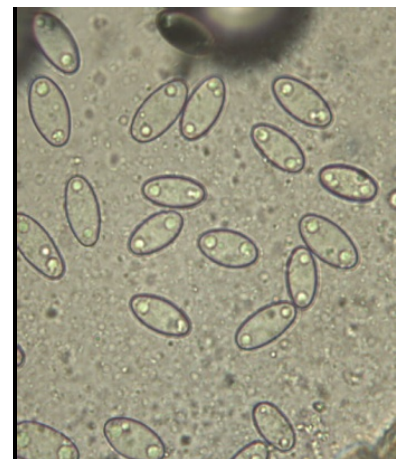
EKLER

Resim 1 a. *Gyromitra longipes*

b. Spor (10x40)

Resim 2 a. *Gyromitra sp.1*

b. Spor (10x60)

Resim 3 a. *Gyromitra sp.2*

b. Spor (10x40)



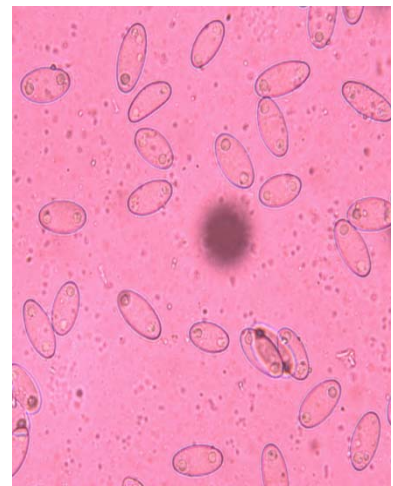
Resim 4 a. *Gyromitra esculenta* var. *fragilis*



b. Spor (10x60)



Resim 5 a. *Gyromitra tasmanica*



b.Spor (10x40)



Resim 6 a. *Gyromitra esculenta* var. *esculenta*



b. Spor (10x80)



Resim 7 a. *Gyromitra gigas*



b. Spor (10x40)



Resim 8 a. *Gyromitra esculenta* var. *fulva*



b. Spor (10x40)

ÖZGEÇMİŞ

06.06.1984 yılında Sivas Yıldızeli ilçesi Karalar köyünde doğan yazar, Karalar ilkokulunu bitirdikten sonra Ortaokulu Divriği Atatürk yatılı ilköğretim bölge okulunda tamamlamıştır. 2002 yılında Sivas Selçuk Anadolu lisesini bitirdikten sonra Balıkesir üniversitesi Necatibey Eğitim Fakültesi Biyoloji Öğretmenliği Anabilim Dalı'nda lisans eğitimini tamamlayarak 2007 yılında mezun olmuştur. Yine 2007 yılında Balıkesir Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Anabilimdalı'nda yüksek lisansa başlamış olup Şubat 2009'da kaydını Muğla Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Anabilimdalı'na aldırılmıştır. Yüksek lisans eğitimine Muğla Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Anabilimdalı'da devam etmektedir.