

**ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
2012-YL-029**

**AYDIN YÖRESİNDEKİ KURU İNCİRLERDEN (*Ficus carica* L.) *Aspergillus* spp.'NİN MORFOLOJİK VE  
GENETİK KARAKTERİZASYONU**

**Yasemin SERTEL**

**Tez Danışmanı:  
Doç. Dr. H. Halil BIYIK**

**II. Danışman  
Prof. Dr. Fevzi BARDAKÇI**

**AYDIN**



**ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE**  
**AYDIN**

Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Yasemin SERTEL tarafından hazırlanan “Aydın yöresindeki kuru incirlerden (*Ficus carica* L.) *Aspergillus* spp’nin morfolojik ve genetik karakterizasyonu” başlıklı tez, 28.08.2012 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

	Ünvanı, Adı Soyadı	Kurumu	İmzası
Başkan :	Prof. Dr. Mustafa ATEŞ	Ege Uni.	.....
Üye:	Doç. Dr. H.Halil BIYIK	ADÜ	.....
Üye:	Doç. Dr. Alev Ustan HALİKİ	Ege Uni.	.....
Üye:	Doç. Dr. Süheyla TÜRKYILMAZ	ADÜ	.....
Üye:	Yrd. Doç. Dr. Gamze Başbülbul ÖZDEMİR	ADÜ	.....

Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu Yüksek Lisans tezi, Enstitü Yönetim Kurulunun ..... Sayılı kararıyla ..... tarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Cengiz ÖZARSLAN

Enstitü Müdürü



**ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE**  
**AYDIN**

Bu tezde sunulan tüm bilgi ve sonuçların, bilimsel yöntemlerle yürütülen gerçek deney ve gözlemler çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce, sonuç ve bilgilere bilimsel etik kuralların gereği olarak eksiksiz şekilde uygun atıf yaptığımı ve kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

13/08/2012

Yasemin SERTEL



**ÖZET****AYDIN YÖRESİNDEKİ KURU İNCİRLERDEN (*Ficus Carica* L.)  
*Aspergillus* spp.'NİN MORFOLOJİK VE GENETİK  
KARAKTERİZASYONU**

Yasemin SERTEL

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. H. Halil BIYIK

II. Danışman: Prof. Dr. Fevzi BARDAKÇI

2012, 98 sayfa

*Aspergillus*, hem toksijeniteleri, gıdalarda bozunmalara sebep olmaları, çevresel koşullara adaptasyon yeteneklerinin yüksek olması hem de endüstride kullanımlarının yaygın olmasından dolayı ipliksi fungusların en önemli cinslerinden biridir. Türkiye’de incirde aflatoksin ve okratoksin üretme potansiyeli olan Flavi ve Niger Grubu türlerinin populasyon yapısını belirlemeye yönelik bir çalışma yapılmamıştır. Bu nedenle bu araştırmada, Aydın’ daki kuru incirlerden izole edilen kontamine filamentli küf florasının ortaya konması ve bu floradaki potasyel aflatoksinejik ve okratoksijenik *Aspergillus* suşları arasındaki genetik çeşitliliğin ve populasyon yapısının mikrosatellit belirteçleri kullanılarak belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla Ekim-Aralık (2010) aylarında kuru incir örnekleri Aydın’daki 37 farklı köyden toplanmıştır. Kuru incir örneklerinin 360 nm UV ışını altında inceleme sonucunda 3 ilçeden toplanan örneklerde (Nazilli, Köşk ve İncirliova) aflatoksin varlığı tespit edilmiştir. İzolasyon sonucunda toplam 99 izolat içerisinde 10 cinse ait (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Acremonium*, *Mortierella*, *Rhizopus*, *Trichoderma* ve *Trichophyton*) 15 farklı tür elde edilmiştir. İzolatların % 72’sini *Aspergillus* cinsine ait türler oluşturmaktadır. Aydın’da yaygın olduğu görülen *Aspergillus flavus* ve *A. niger* izolatlarından genomik DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. *A. flavus* (n=15) ve *A. niger* (n=46) populasyonlarının genetik yapısını belirlemek için toplam 14 farklı lokus çalışılmıştır. Elde edilen verilerin istatistik analizleri Genepop, FSTAT ve Genealex programları kullanılarak yapılmıştır. Sonuçta Aydın’daki *A. flavus* ve *A.niger* populasyonlarında istatistik olarak anlamlı genetik yapılanma olduğu belirlenmiştir.

**Anahtar sözcükler:** *Aspergillus*, kuru incir, mikrosatellit, Aydın.





**ABSTRACT****MORPHOLOGICAL AND GENETIC CHARACTERIZATION OF  
*Aspergillus* spp. FROM DRIED FIGS (*Ficus carica* L.) IN THE VICINITY  
OF AYDIN**

Yasemin SERTEL

M.Sc. Thesis, Department of Biology  
Supervisor: Assist. Doç. Dr. H. Halil BIYIK  
Co-Supervisor: Prof. Dr. Fevzi BARDAKCI  
2012, 98 Pages

*Aspergillus* genus is one of the most important fungus in filamentous fungi due to their toxigenity, causing degradation on foods, have high adaptation ability to environmental conditions and also common usage in industry. No studies are available to exhibit population structure of Flavi and Niger Group species with the potential to produce aflatoxin and ochratoxin. Therefore, the aim of this study is to exhibit the flora of filamentous fungi from contaminated dried figs in Aydin province and to determine the genetic diversity and population structure of potential aflatoxigenic and ochratoxigenic *Aspergillus* strains using microsatellite markers. For this purpose, dried figs samples were collected from 37 different villages (in October-December, 2010) in Aydin province. The presence of aflatoxin was determined in 3 towns (Nazilli, Köşk and Incirliova) as a result of 360 nm UV treatment of dried figs samples. As a consequence of our study, we have obtained 15 different microfungi species belonging to 10 different genera (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Acremonium*, *Mortierella*, *Rhizopus*, *Trichoderma* and *Trichophyton*) among total of 99 isolates. 72% of the isolates constitute the species belonging to the genus *Aspergillus*. Genomic DNA isolation was performed from common isolates of *Aspergillus flavus* and *A.niger* in Aydin. A total of fourteen loci was studied to determine structure of *A. flavus* (n=15) and *A niger* (n=45) populations using microsatellite markers. Statistical analyses of obtained data have been performed using by Genepop, FSTAT and Genealex Programmes. In conclusion, populations of *A .flavus* ve *A.niger* showed statistically significant genetic structuring through Aydin province.

**Key words:** *Aspergillus*, dried figs, microsatellite, Aydin.



## ÖNSÖZ

Gerek tez çalışmam gerekse yaptığımız diğer bütün çalışmalarda hiç istisnasız bana sınırsız zamanını ayıran, her zaman tüm inancı ve desteği ile yanımda olduğunu hissettiren çok değerli tez danışman hocam Doç. Dr. H. Halil BIYIK'a içtenlikle sonsuz teşekkür ederim.

Tez çalışmamın amaçları doğrultusunda önerileri ve fikirlerine çok önem verdiğim ve benden desteğini esirgemeyen ikinci danışman hocam Prof. Dr. Fevzi BARDAKÇI'ya çok teşekkür ederim.

Ayrıca en başından beri tüm çalışmalarımda gerek manevi desteği gerekse fikirleri ile benden yardımını hiçbir zaman esirgemeyen değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Gamze BAŞBÜLBÜL ÖZDEMİR'e teşekkürlerimi borç bilirim.

Laboratuvar çalışmalarım boyunca hiçbir zaman beni yalnız bırakmayan ve her zaman destek olan Merve YAVUZ'a, Melihcan ÖZTEBER'e, Esra DEMİR'e, moleküler çalışmalarım esnasında bana yol gösteren, zamanını ve bilgisini esirgemeyen Dr. Can YILMAZ'a çok teşekkür ederim. Ayrıca laboratuvarında bana manevi destek olan Dr. Esin POYRAZOĞLU'na teşekkür ederim. Tezimin en zorlu zamanında benden desteğini ve sabrını esirgemeyen Çiçek GÜMÜŞ'e ve Gurbet ASLAN'a çok teşekkür ederim.

Bu çalışmanın gerçekleşmesi için maddi kaynak sağlayan Adnan Menderes Üniversitesi Rektörlüğü'ne (Proje no: ADÜ-BAP-FEF-1107) ve TÜBİTAK'a (Proje no: 111T620) teşekkür ederim.

Herkes bir yana hayatım boyunca hiçbir zaman fedakarlığını, sevgisini ve sonsuz emeğini benden esirgemeyen çok kıymetli Annem Ayşin SÜBYECİ'ye ve canım ablam Aylin KILIÇASLAN'a sonsuz teşekkür ederim.

Ayrıca çalışmalarımda bana cesaret ve güç veren manevi desteğini hiç eksik etmeyen babam Çetin SERTEL'e teşekkürü borç bilirim.



## İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI .....	iii
BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI.....	v
ÖZET.....	vii
ABSTRACT.....	ix
ÖNSÖZ .....	xi
İÇİNDEKİLER .....	xiii
SİMGELER DİZİNİ.....	xv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xvii
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xix
1. GİRİŞ .....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ .....	13
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	21
3.1. MATERYAL.....	21
3.1.1 Kuru İncir Örnekleri ve Lokaliteleri .....	21
3.1.2 Kullanılan Besiyerleri ve Çözeltiler.....	23
3.2. YÖNTEM.....	27
3.2.1. Kuru İncirlerde Aflatoksin Tayini.....	27
3.2.2. Kuru İncirlerden Toplam Küf İzolasyonu ve Sayım.....	27
3.2.3 İzole Edilen Küflerin Morfolojik Tanılanması.....	27
3.2.4. Aspergillus flavus ve A. niger İzolatlarından Genomik DNA İzolasyonu...28	
3.2.4.1. Toplam Genomik DNA'nın Kalitatif ve Kantitatif Tayini.....	29
3.2.5 PCR (Polimerase Chain Reaction).....	30
3.2.5.1. A. flavus için AF Mikrosatellit Primerleri ile PCR.....	30
3.2.5.2. A. niger için AF Mikrosatellit Primerleri ile PCR .....	32
3.2.6 Mikrosatellit Veri Analizi .....	34

4. BULGULAR .....	35
4.1. Kuru İncir Örneklerinde UV ile Aflatoksin Tayini ve Küf Florasının Belirlenmesi .....	35
4.2. Mikrosatellit .....	45
4.2.1. A. flavus .....	45
4.2. A. niger .....	60
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	74
KAYNAKLAR.....	87
ÖZGEÇMİŞ.....	97

## SİMGELER DİZİNİ

$\mu$ l	Mikrolitre
AF	Aflatoksin
AFTOL	Assembling the Fungal Tree of Life
AMOVA	Moleküler Varyans Analizi
$a_w$	Su aktivitesi
Bp	Baz çifti
DNA	Deoksiribonukleik Asit
dNTP	Deoxyribonucleotide Triphosphate
EDTA	Ethylenediamine Tetra Acetic Acid
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
FAO	Birleşmiş Milletler Gıda ve Ziraat Örgütü
Fst	Genetik Uzaklık
FTS	Fizyolojik tuzlu su
$H_B$	Beklenen Heterozigotluk
$H_G$	Gözlenen Heterozigotluk
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
IARC	Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı
MEA	Malt ekstrakt agar
Nm	Nanometre
OD	Optik dansite
OTA	Okratoksin A
p	Önemlilik Derecesi
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RAPD	Rastgele amplifiye edilmiş polimorfik DNA
RBCA	Rose Bengal Kloramfenikol Agar
RIA	Radio Immuno Assay
SDS	Sodyum Dodesil Sülfat
SK	Sulandırma katsayısı
TBE	Tris-Borik Asit EDTA
UPGMA	Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean
UV	Ultraviyole ışını
VCG	Vejetatif uyum grubu
WHO	Dünya Sağlık Örgütü





## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.2. AF10 lokusunun grafik görüntüsü .....	22
Şekil 4.1. UV ışığı altında incir örnekleri .....	33
Şekil 4.2. Kuru incirden izole edilen küf florasının spor ve hif yapısı.....	35
Şekil 4.3. Kuru incirden izole edilen bazı izolatların binoküler mikroskop altındaki görüntüleri.....	40
Şekil 4.4. İlçelere göre AF 10 lokusunun allel ve allel sıklıkları dağılımı .....	43
Şekil 4.5. İlçelere göre AF 31 lokusunun allel ve allel sıklıkları dağılımı .....	49
Şekil 4.6. İlçelere göre AF 34 lokusunun allel ve allel sıklıkları dağılımı .....	49
Şekil 4.7. İlçelere göre AF 43 lokusunun allel ve allel sıklıkları dağılımı .....	49
Şekil 4.8. İlçelere göre AF 48 lokusunun allel ve allel sıklıkları dağılımı .....	50
Şekil 4.9. İlçelere göre AF 53 lokusunun allel ve allel sıklıkları dağılımı .....	51
Şekil 4.10. İlçelere göre AF 63 lokusunun allel ve allel sıklıkları dağılımı .....	51
Şekil 4.11. İlçelere göre AF 64 lokusunun allel ve allel sıklıkları dağılımı .....	52
Şekil 4.12. Yüksekliğe göre AF 10 lokusunun allel ve allel sıklıkları dağılımı.....	52
Şekil 4.13. Yüksekliğe göre AF 31 lokusunun allel ve allel sıklıkları dağılımı.....	52
Şekil 4.14. Yüksekliğe göre AF 34 lokusunun allel ve allel sıklıkları dağılımı.....	53
Şekil 4.15. Yüksekliğe göre AF 43 lokusunun allel ve allel sıklıkları dağılımı.....	53
Şekil 4.16. Yüksekliğe göre AF 48 lokusunun allel ve allel sıklıkları dağılımı.....	53
Şekil 4.17. Yüksekliğe göre AF 53 lokusunun allel ve allel sıklıkları dağılımı.....	54
Şekil 4.18. Yüksekliğe göre AF 63 lokusunun allel ve allel sıklıkları dağılımı.....	54
Şekil 4.20. A.flavus populasyonlarının ilçelere göre UPGMA uzaklık ağacı.....	58
Şekil 4.21. İlçelere göre A. flavus populasyonlarının Fst değerlerine göre yapılan AMOVA varyans analizi .....	59
Şekil4.22. Yüksekliğe göre A. flavus populasyonlarının Fst değerlerine göre yapılan AMOVA varyans analizi.....	62
Şekil 4.23. İlçelere göre ACNM1 lokusunun allel ve allel sıklıkları dağılımı .....	62

Şekil 4.24. İlçelere göre ACNM2 lokusunun allel ve allel sıklıkları dağılımı .....	63
Şekil 4.25. İlçelere göre ACNM3 lokusunun allel ve allel sıklıkları dağılımı .....	63
Şekil 4.26. İlçelere göre ACNM5 lokusunun allel ve allel sıklıkları dağılımı .....	63
Şekil 4.27. İlçelere göre ACNM6 lokusunun allel ve allel sıklıkları dağılımı. ....	64
Şekil 4.28. İlçelere göre ACNM7 lokusunun allel ve allel sıklıkları dağılımı .....	64
Şekil 4.29. Yüksekliğe göre ACNM1 lokusunun allel ve allel sıklıkları dağılımı. 64	
Şekil 4.30. Yüksekliğe göre ACNM2 lokusunun allel ve allel sıklıkları dağılımı. 65	
Şekil 4.31. Yüksekliğe göre ACNM3 lokusunun allel ve allel sıklıkları dağılımı. 65	
Şekil 4.32. Yüksekliğe göre ACNM5 lokusunun allel ve allel sıklıkları dağılımı. 65	
Şekil 4.33. Yüksekliğe göre ACNM6 lokusunun allel ve allel sıklıkları dağılımı. 66	
Şekil 4.34. Yüksekliğe göre ACNM7 lokusunun allel ve allel sıklıkları dağılımı. 66	
Şekil 4.35. A.niger populasyonlarının ilçelere göre UPGMA uzaklık ağacı .....	70
Şekil 4.36. İlçelere göre A. niger populasyonlarının Fst değerlerine göre yapılan AMOVA varyans analizi .....	71
Şekil 4.37. Yüksekliğe göre A.niger populasyonlarının Fst değerlerine göre yapılan AMOVA varyans analizi .....	72

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Çeşitli ürünlerdeki mikotoksinleri üreten türler, ürettikleri metabolitler ve etkileri.....	4
Çizelge 1.2. Gıdalardaki Maksimum Aflatoksin Seviyeleri.....	6
Çizelge 1.3. Gıda ve yemlerde görülen başlıca mikotoksin üretici cinsler ve ürettikleri mikotoksinler .....	8
Çizelge 3.1. Örnek toplama lokaliteleri .....	21
Çizelge 3.2. <i>A. flavus</i> için mikrosatellit analizinde kullanılan oligonükleotid dizi, boya ve uzunlukları.....	31
Çizelge 3.3. <i>A. flavus</i> için PCR Reaksiyon karışımı.....	32
Çizelge 3.4. <i>A. niger</i> için mikrosatellit analizinde kullanılan oligonükleotid dizi, boya ve uzunlukları .....	33
Çizelge 3.5. <i>A. niger</i> için PCR Reaksiyon karışımı .....	32
Çizelge 4.1. Elde edilen küf izolatları ve aflatoksin varlığı .....	36
Çizelge 4.2. <i>A. flavus</i> için kullanılan AF primerlerinin optimizasyon sonuçları .45	
Çizelge 4.3. <i>A. flavus</i> için çalışılan mikrosatellit allellerinin dağılımı.....	46
Çizelge 4.4. Populasyonlara özgü lokusların allelleri ve frekansları.....	47
Çizelge 4.5. Populasyonların Hardy-Weinberg dengesine dayalı alell sıklığı anlamlığı .....	55
Çizelge 4.6. İncelenen bütün populasyonlardaki allelik zenginlik (AR), beklenen ve gözlenen heterozigot değerleri Fis ve Fst, haplotip çeşitliliği değerleri.....	56
Çizelge 4.7. İncelenen populasyonların genetik yapılarının Fst değerlerine göre ikiyeşerli olarak karşılaştırılması .....	58
Çizelge 4.8. <i>A. niger</i> için kullanılan ACNM primerlerinin optimizasyon sonuçları .....	60
Çizelge 4.9. <i>A. niger</i> için çalışılan mikrosatellit allellerinin dağılımı.....	60
Çizelge 4.10. Populasyonlara özgü lokusların allelleri ve frekansları.....	61
Çizelge 4.11 Populasyonların Hardy-Weinberg dengesine dayalı alell sıklığı anlamlığı .....	66
Çizelge 4.12 İncelenen bütün populasyonlardaki allelik zenginlik (AR), beklenen ve gözlenen heterozigot değerleri Fis ve Fst, haplotip çeşitliliği değerleri.....	68
Çizelge 4.13 İncelenen populasyonların genetik yapılarının Fst değerlerine göre ikiyeşerli olarak karşılaştırılması.....	70
Çizelge 4.14 Gruplar arası varyans analizi .....	72

- Çizelge 4.15. İlçelere ve yüksekliğe bağlı yapılan incelemede saptanan NA (allel sayısı),  $H_G$  (gözlenen heterozigotluk),  $H_B$  (beklenen heterozigotluk) ve h (haploid gen çeşitliliği) değerleri.....76
- Çizelge 4.16. İlçelere ve yüksekliğe bağlı yapılan incelemede saptanan NA (allel sayısı),  $H_G$  (gözlenen heterozigotluk),  $H_B$  (beklenen heterozigotluk) ve h (haploid gen çeşitliliği) değerleri.....81

## 1. GİRİŞ

Canlıların hayatlarını sürdürebilmeleri için gerek duydukları en önemli enerji kaynağı şüphesiz ki gıdalardır. Dünyada olduğu gibi ülkemizde de gıda güvenliğinin ve gıdalardaki kontamine küflerin doğru yöntemlerle belirlenmesi oldukça önemlidir. Günümüzde artan mikroorganizma kontaminasyonu dolayısı ile gıda kontrollerinin stabil koşullarda, kesin ve hızlı sonuçlar verecek şekilde belirlenmesi gerekmektedir. Gıda maddelerinin insan sağlığını olumsuz yönde etkilemeyecek şekilde üretilmesi ve gıdalar ile ilgili standartların sürekli yenilenerek gündemde tutulması bunun bir göstergesidir. Bu gıda maddelerimizden biri olan incir, hasattan kurutmaya kadar ki süreçte çeşitli küfler ile kontamine olabilmektedirler.

İncir, *Moraceae* (dutgiller ) familyasına ait *Ficus* cinsi içerisinde yaklaşık 800 tür arasında ticari öneme sahip meyve veren bir bitkidir. Tarımı en fazla yapılan türü ise *Ficus carica* L.'dir. Özel döllenme ve kendine özgü kurutma şartlarına sahip bir meyve olması yetiştiği bölgeleri sınırlı kılmaktadır. İncirin anavatanı olan ülkemizin özellikle Ege Bölgesi'nde yüksek kaliteli kurutulmalık incir iklim koşulları, meyve olgunlaşma ve kurutma dönemlerindeki sıcaklık, nem ve rüzgar gibi ekolojik gereksinimleri nedeni ile Büyük ve Küçük Menderes Havzalarında yetiştirilmektedir. Tarım potansiyeli yüksek ve yaklaşık %85-90'ı ihraç edilmektedir. Dünya üzerinde subtropik ve ılıman iklim kuşağında yayılış alanı bulan incir, özellikle Akdeniz ülkeleri ve Akdeniz ikliminin etkin olduğu Amerika Birleşik Devletleri, Avustralya ve bazı Güney Amerika ülkeleri ile Güney Afrika gibi ülkelere özgü bir ürün olma niteliğini korumaktadır. İncirin dünya pazarlarında yer edinebilmesi için üreticiler tarafından belli kriterlerin yerine getirilmesi gerekmektedir (EC Report, 1999).

Dünyada yaklaşık 110.000 türü tanımlanmasına rağmen tahmin edilen tür sayısının yaklaşık 1,5 milyon olduğu bilinen mantarlar, yüksek adaptasyon yeteneklerinden dolayı günlük yaşantımızda hemen her yerde üreyebilmektedirler (Hawksworth, 2001). Bu kadar türün tanılanamamasının sebepleri habitatlarının yeterli araştırılmaması, kültürlerinin zor olması veya yapılamaması ve kataloglanmış örneklerin tanılanmalarının doğru olmaması olarak belirtilebilir. Küfler, Robert Whittaker'ın 1969 yılında yaptığı sınıflandırmaya göre bitkiler, hayvanlar, protistler ve Monera'dan sonra ayrı bir alem olarak kabul edilen

mantarlar aleminde olan mikromantarlar (filamentli funguslar/hifli küfler) olarak bilinmektedir. Filamentli küfler yıllardan beri çoğunlukla morfolojik olarak sınıflandırılmaktadır. Fungi alemi içindeki grupların belirlenmesi ve sınıflandırılma çabaları oldukça eski olmakla birlikte, 2004 yılında başlatılan ve şu anda da devam eden AFTOL (Assembling the Fungal Tree of Life) adı verilen ortak bir çalışma ile fungusların tüm gruplarının en yüksek seviyede filogenetik sınıflandırılması hedeflenmiştir (Lutzoni vd., 2004). Bu çalışmada toplam 195 taksonu içeren bir fungus grubuyla çalışılmış ve sonuçta 7 filum [*Chytridiomycota*, *Neocallimastigomycota*, *Blastocladiomycota*, *Microsporidia*, *Glomeromycota*, Dikarya: (*Ascomycota*, *Basidiomycota*)] 10 subfilum, 35 sınıf, 129 ordo şeklinde bir sınıflandırma elde edilmiştir (Hibbet vd., 2007). 09.08.2012 tarihinde IndexFungorum'da tanılanmış kayıtlı olan mantar sayısı 474.052 'dir (Index Fungorum, 2012).

Aseksüel *Ascomycota* üyelerinden biri olan *Aspergillus* cinsi yaklaşık 185 takson içerir. *Aspergillus* cinsinin yaygın ipliksi fungusları ya direk olarak *Aspergilliosis*'e sebep olan fırsatçı patojenler olarak ya da dolaylı olarak aflatoksin üretiminden dolayı gıda ürünleri üzerinde aflatoksikosis'e neden olarak iki yolla zararlı olabilirler (Abdin vd., 2010). Gıdaların bu küflerle kontaminasyonu bozunmalara, besin değerinin düşmesine, ürettikleri sekonder metabolitlerin sağlık üzerindeki zararlı etkilerine ve dolayısı ile ekonomik açıdan da kayıplara sebep olmaktadır. Özellikle ihraç edilen ürünlerde sıkı kalite kontrol standartları uygulanmaktadır ve karşılaşılan en önemli sorun, ürünlerdeki mikotoksin kontaminasyonudur.

Mikotoksin, Yunanca mantar anlamına gelen "mycos" ve Latince "zehir" anlamına gelen "toxicum" kelimelerinin birleştirilmesinden türetilmiş ve belirli küf formlarının bazı gıda ürünlerinden özellikle tahılların üzerinde gelişme gösteren toksik kimyasal ürünlerine işaret eden bir terimdir (Quillien, 2002). Mikotoksinler başta *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Cladosporium* ve *Rhizopus* cinsleri olmak üzere bazı patojenik ve bozulma etmeni küfler tarafından üretilen sekonder metabolitlerdir. Bugün bilinen 300'den fazla mikotoksin olmasına rağmen, bunlardan beş veya altı tanesi çok önemlidir. Önem derecesine göre sıralama ülke ve bölgelere göre farklılık göstermekle birlikte aflatoksinler (AF), okratoksin A (OTA), fumonisinler, trikotesenler ve zearalenonun birinci derecede önemli mikotoksinler olduğu konusunda araştırmacılar

görüş birliğine varmışlardır (Anklam ve Stroka, 2002; Park D., 2002). Örneğin Avrupa ülkelerinde aflatoksinler, üretimleri için gereken sıcaklık veya ekolojik koşulların uygun olmaması nedeniyle yüksek düzeyde oluşmaz ve ithal ürünlerin sıkı denetlenmesi nedeniyle tüketiciler için tehdit oluşturmazken, ülkemiz de dahil olmakla birlikte ABD, Afrika ve Asya kıtalarındaki pek çok ülke için aflatoksin kontaminasyonu önemini korumaktadır. İnsan ve hayvan sağlığı için önemli olan fındık, antep fıstığı, kuru incir, siyah zeytin, pulbiber gibi ihraç ürünlerinin yanı sıra süt ve süt ürünlerinde ayrıca tahıl ürünlerinde mikotoksin kontaminasyonu olduğu bilinmektedir. Tarımsal ürünlerdeki mikotoksin oluşumu hasattan kurutmaya kadarki süreçte her aşamada gerçekleşebilmektedir (Balloux ve Lugon-Moulin, 2002). Mikotoksinler insanlarda; karaciğer kanserine ve gen yapısında değişikliklere, vücudun hormonal dengesinin bozulmasına, immun sisteminin zayıflamasına dolayısı ile vücudun hastalıklara açık hale gelmesine, kısırlığa ve sakat doğumlara, gıda emiliminin azalmasına sebep olur (Akpınar, 2006). Bazı mikotoksinler endotoksin olarak misel içinde birikirken, birçoğunun miselden substrata doğru salgılandığı ve difüze olduğu görülür (Tunail, 2000). Bu nedenle küflü gıda ve yemlerden miseller uzaklaştırılsa bile ürünün mikotoksin tehlikesi ortadan kalkmaz. Birleşmiş Milletler Gıda ve Ziraat Örgütü (FAO) dünya gıda ürünlerinin her yıl en az % 25'inin mikotoksinler tarafından etkilendiğini rapor etmiştir (Breyden, 2007; Park vd., 2001). Çeşitli ürünlerdeki mikotoksinleri üreten türler, ürettikleri metabolitler ve etkileri Çizelge 1.1.'de gösterilmiştir.

**Çizelge 1.1.** Çeşitli ürünlerdeki mikotoksinleri üreten türler, ürettikleri metabolitler ve etkileri (Doyle vd., 1997; Golob, 2007)

<b>MİKOTOKSİN</b>	<b>ÜRETİCİ KÜF</b>	<b>ÜRÜN</b>	<b>MEMELİ HAYVANLARDA ETKİLERİ</b>
<b>AFB<sub>1</sub> ve AFM<sub>1</sub></b>	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. parasiticus</i>	Mısır, buğday ve yerfıstığı, kabuklu yemişler, incir, baharatlar, soya fasulyesi, pamuk tohumu yağı, çekirdek, kurutulmuş Hindistan cevizi, süt ve süt ürünleri	Hepatotoksik, kanserojen, teratojen
<b>OTA</b>	<i>A. ochraceus</i> , <i>A. carbonarius</i> , <i>A. niger</i> , <i>Penicillium verrucosum</i> , <i>P. citrinum</i>	Tahıl ve tahıl ürünleri, bakliyat, kuru meyveler, içecekler, baharatlar, yerfıstığı	Nefrotoksik, hepatotoksik, teratojen, immunosupresif
<b>SİTRİNİN</b>	<i>P. citrinum</i> , <i>P. expansum</i> , <i>P. verrucosum</i>	Buğday, çavdar, pirinç, mısır, meyve suları	Nefrotoksik, nörotoksik
<b>PATULİN</b>	<i>P. expansum</i> , <i>Byssoschlamys nivea</i>	Küflü meyve ve sebze, tahıllar ve diğer gıdalar	Nörotoksik
<b>STERİGMATOSİSTİN</b>	<i>A. versicolor</i> , <i>A. rugolosis</i>	Hububat, kahve	Kanserojen
<b>TRİKOTESENLER (T-2 Toksin)</b>	<i>Fusarium sporotrichioides</i> , <i>F. poae</i>	Buğday, mısır, saman	Düşük dozda kusma, lökopeni, deri nekrozları
<b>ZEARALENONE</b>	<i>Fusarium graminearum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. equiseti</i>	Mısır, buğday, arpa, yulaf	Östrojen benzeri etki

İncirlerde fungal kontaminasyon genellikle hasat zamanında gerçekleşip depo zamanında bu oran artış göstermektedir. Bu açıdan kuru incirlerde kurutma aşamasından sonraki küf kontaminasyonu, dolayısıyla mikotoksin kontaminasyonu



ve seviyesi önemlidir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) hayvan ve insanlarda birikimi akut, subakut, kronik, mutajenik, genotoksik, reproduktif, immünotoksik etkileri olan sekonder metabolitleri, insanlar üzerinde doğal olarak karsinojenik olmalarına göre kategoriye ayırarak aflatoksinleri en çok karsinojenik mikotoksin “Grup I karsinojen” olarak sınıflandırmıştır (WHO-IARC, 1993a).

1960 yılında İngiltere’de 100.000 hindi palazının biranda ölmesi ile keşfedilen aflatoksinler üzerine yıllardır araştırmalar yapılmaktadır. Fakat halen aflatoksinin üretimini engelleyici ya da büyük ölçüde üretimini azaltıcı kesin bir yöntem bulunamamıştır. İşman ve Bıyık (2009) UV ile uzun süre müdahelenin incirlerdeki aflatoksin seviyesini ve küf kontaminasyonunu azalttığını belirtmişlerdir. Başlıca aflatoksin üreticisi olan *A. flavus* ve *A. parasiticus* türlerinin toprak kaynaklı küfler arasında dominant olduğu ve atoksijenik türlere göre daha yüksek sıklıkta bulunduğu da bilinmektedir (Sudini, 2009). *Aspergillus flavus* üyeleri sklerot boyutuna göre S (sklerot boyutu < 400 µm) ve L (sklerot boyutu > 400 µm) olmak üzere 2 alt suş grubuna ayrılır. S suşları (>%98) yüksek miktarda AF üreten toprak suşlarını içerir. Bu toprak suşları, ürünlerde AF üretiminin de asıl sorumlularıdır. Toprakta S suşlarının azaltılması durumunda, pamukta AF miktarının da azaldığı belirlenmiştir. Bazı L suşları hemen hemen hiç AF üretmezler. Tarlalardaki L suşu miktarının artırılması, atoksijenik fungusların artması ve *Aspergillus flavus* kompozisyonunu değiştireceği anlamına gelmektedir ve aflatoksin yönetiminde oldukça önemlidir (Horn ve Dorner, 1999, Chang vd., 2009). Aflatoksin içeren gıdalarda aflatoksin seviyesi, varlığı kontrol edilmektedir. Bu yüzden tüm dünyada ihraç edilen gıdalarda olduğu gibi incirde de yasal olarak belirtilen sınırlarda küf kontaminasyonuna bağlı mikotoksin seviyeleri belirtilmiştir. Resmi Gazetede 17.05.2008 tarih ve 26879 sayılı yayımlanan Türk Gıda Kodeksi, Gıda Maddelerinde Belirli Bulaşanların Maksimum Seviyelerinin belirlenmesi Hakkında Tebliği’ ne göre gıdalardaki aflatoksin seviyeleri Çizelge 1.2.’de gösterilmiştir.

**Çizelge 1.2.** Gıdalardaki Maksimum Aflatoksin Seviyeleri (TGK, 2008).

<b>Gıda Maddesi</b>	<b>Maksimum limit (µg/kg)</b>		
	<b>B<sub>1</sub></b>	<b>B<sub>1</sub>+B<sub>2</sub>+G<sub>1</sub>+ G<sub>2</sub></b>	<b>M<sub>1</sub></b>
<b>2.1. AFLATOKSİN</b>			
2.1.1. Fındık, antepfıstığı gibi sert kabuklu meyveler, yer fıstığı, yağlı tohumlar, kuru meyveler ve bunlardan üretilen işlenmiş gıdalar	5,0 <sup>(1)</sup>	10,0 <sup>(1)</sup>	-
2.1.2. Yerfıstığı (doğrudan tüketime sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce sınıflandırma, ayıklama gibi fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan)	8,0 <sup>(1)</sup>	15,0 <sup>(1)</sup>	-
2.1.3. Tahıllar (karabuğday ( <i>Fagopyrum</i> sp.) dahil) ve bunlardan üretilen işlenmiş gıdalar (doğrudan tüketilen veya gıda bileşeni olarak kullanılan)	2,0	4,0	-
2.1.4. Mısır (doğrudan tüketime sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce sınıflandırma, ayıklama gibi fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan)	5,0	10,0	-
2.1.5. Çiğ süt <sup>(2)</sup> , ısıtılmış işlem görmüş süt, süt bazlı ürünlerin üretiminde kullanılan süt	-	-	0,050
2.1.6. Baharatların aşağıdaki türleri için; - Kırmızıbiber ( <i>Capsicum spp.</i> ) (bunların kurutulmuş meyveleri, kırmızıbiber ve acı kırmızıbiberin bütün ve toz hali dahil) - Karabiber ( <i>Piper spp.</i> ) (bunların meyveleri, akbiber ve karabiber dahil) - Hintceviz/Muskat ( <i>Myristica fragrans</i> ) - Zencefil ( <i>Zingiber officinale</i> ) - Zerdeçal ( <i>Curcuma longa</i> )	5,0	10,0	-
2.1.7. Bebek ve küçük çocuk ek gıdaları <sup>(3)</sup>	0,10	-	-
2.1.8. Bebek formülleri ve devam formülleri <sup>(4)</sup> (bebek sütleri ve devam sütleri dahil)	-	-	0,025
2.1.9. Bebekler için özel tıbbi amaçlı diyet gıdalar <sup>(5)</sup>	0,10	-	0,025
2.1.10. Diğer gıda maddeleri (bulunması muhtemel riskli gıdalar)	5,0	10,0	0,5

EC Report (1999) ve son yapılan araştırmalar, incirlerde kontamine *Aspergillus* cinsi içinde AF üretme yeteneğinin *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, *A. nomius* (EC REPORT, 1999), *A. bombycis*, *A. pseudotamarii*, *A. parvisclerotigenus* (Abdin vd., 2010) ve *A. tamari* (Goto vd., 1997) türlerinde olduğunu göstermiştir. Bu mikotoksinler, insanlar ve hayvanlarda başlıca immün sistemi baskılayabilmekte ve özellikle karaciğerde kanser oluşumuna yol açabilmektedir. Bugüne kadar 20 farklı aflatoksin tanımlanmasına rağmen tarımsal ürünlerde en sık karşılaşılan aflatoksin çeşitleri AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub> ve AFG<sub>2</sub>'dir. AF' ler çekirdek molekül olarak kumarin, buna kaynaşmış halde bulunan bifuran veya bir pentanon (AFB<sub>1</sub> ve AFB<sub>2</sub>) ya da altı üyeli bir lakton (AFG<sub>1</sub> ve AFG<sub>2</sub>) içermektedir. Ultraviyole ışığı (UV) altında mavi floresan verenler AFB<sub>1</sub> ve AFB<sub>2</sub>, yeşil floresan verenler ise AFG<sub>1</sub> ve AFG<sub>2</sub>'dir. AFB<sub>1</sub> ve AFB<sub>2</sub> içeren yemlerle beslenen hayvanların sütünde rastlanan türevler ise AFM<sub>1</sub> ve AFM<sub>2</sub> olarak adlandırılmaktadır (Sabuncuoğlu vd., 2008). Oluşturdukları toksik etki gücüne göre sıralama ise AFB<sub>1</sub> > AFG<sub>1</sub> > AFB<sub>2</sub> > AFG<sub>2</sub> şeklindedir (Soyoz ve Özçelik, 2002). Aflatoksinlerin oluşturdukları etki doğrudan değildir. Sitozolik ve sitokrom P-450 sistemi ile birçok metabolite çevrilirler. Oluşan epoksit türevleri ile etkili olmaktadır.

BGYF (Bright Greenish-Yellow Florescence) yöntemi ile 365 nm UV ışığı altında aflatoksijenik *A. flavus* ve *A. parasiticus* tarafından üretilen kojik asidin (C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>O<sub>4</sub>) varlığını gözlenerek kuru incirlerde aflatoksin kontaminasyonu kontrol edilmektedir. Bunun dışında aflatoksin varlığı ve seviyesini belirlemek için TLC (İnce Tabaka Kromatografisi), florimetrik yöntemler, HPLC (Yüksek performanslı sıvı kromatografisi), ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay), RIA (Radio Immuno Assay) gibi immunokimyasal yöntemler kullanılmaktadır. Ayrıca son yıllarda da mikotoksinlerin belirlenmesi amacı ile moleküler tekniklere yer verilmektedir. Genellikle mikotoksin biyosentezinde ara veya son basamaklarda görev yapan enzimleri kodlayan genleri hedef alarak mikotoksin üretim potansiyeli belirlenebilmektedir.

Gıda ve yemlerde aflatoksin oluşumunun önlenmesinde öncelikle tarladaki gelişimi, hasatı, depolanması, nakliyesi, ürüne işlenmesi ve ürün elde edilmesi aşamalarındaki küf kontaminasyonunun engellenmesi veya en aza indirilmesi önem taşımaktadır. Mikrobiyal kontaminasyonu tarlada kontrol altında tutmak zordur. Ancak, mikrobiyal kontaminasyon, ürünün hasatı ve onu izleyen

aşamalarda alınacak hijyen ve sanitasyon önlemleri ve bilinçli uygulamalarla büyük ölçüde engellenebilir. Aflatoksin oluşumunun ikinci bir adımı ise hammadde, ara ürün ve son ürüne bulaşan küf veya küflerin önlenmesidir. Bu da üretimde iyi bir teknoloji kullanma ve bilinçli uygulamalarla mümkün olabilir (İşman ve Bıyık, 2009). Gıda ve yemlerde görülen başlıca mikotoksin üretici cinsler ve ürettikleri mikotoksinler Çizelge 1.3.'de gösterilmiştir.

**Çizelge 1.3.** Gıda ve yemlerde görülen başlıca mikotoksin üretici cinsler ve ürettikleri mikotoksinler (Anon. 2006).

<i>Aspergillus</i> toksinleri	<i>Penicillium</i> toksinleri	<i>Fusarium</i> toksinleri	<i>Alternaria</i> toksinleri
Aflatoksinler	Sitrinin	Zearalenon (F-2 Toksin)	Alternariol
AFB <sub>1</sub> , AFB <sub>2</sub> , AFG <sub>1</sub> , AFG <sub>2</sub> , AFM <sub>1</sub> , AFM <sub>2</sub> , AFB <sub>2a</sub> , AFB <sub>3</sub>	Okratoksin A (OTA)	Trikotesenler	Alternariol mono metil-eter
Aspertoksin	Sitreoviridin	Deoksinivalenol	Altertoksin
Sitrinin	Rubratoksin A, Rubratoksin B	Nivalenol	Tenuazonik asit
Sterigmatosistin	Patulin	Diasetoksisirpenol	
Okratoksin A (OTA)	Penisilikasit	T-2 toksin	
Patulin	P-R (Pen.quefiori)-toksin	HT-2 toksin	
Penisilikasit	Luteosikrin	Tremortin	
Siklopiazonikasit	İzlanditoksin	Fumisin B <sub>1</sub>	
	Ksantosilin-X	Moniliformin	
	Siklopiazonikasit		
	Sitromisetin		
	Ksantomegnin		
	Rugulovasin A ve B		
	Verrukulotoksin		
	Emodin		

Bazı *Aspergillus* cinsi üyelerinin ürettiği aflatoksinler dışında önemli olan diğer bir grup mikotoksin ise okratoksinlerdir. Özellikle okratoksin A (OTA) bazı *Aspergillus* ve *Penicillium* türleri tarafından üretilen, hayvan yemleri ve insan gıdalarının % 80'inde bulunan bir mikotoksindir. OTA, çoğu besinde mikrofungus kontaminasyonu sonucu doğal olarak oluşan, nefrotoksik, teratojenik ve immün sistemi baskılayıcı etkilerinden dolayı oldukça dikkat çeken bir sekonder metabolittir. WHO-IARC tarafından, mikotoksinler insanlara karşı kanserojenik

potansiyellerine göre sınıflandırıldığında AFB1, “yeterli kanıt elde edilmiş insan kanserojenleri” (Grup 1A) grubunda yer alırken OTA “muhtemel kanserojenik mikotoksin” (Grup 2B) grubunda yer almıştır. 1965 yılında Okratoksin ilk kez sorgum tanelerinden izole edilen *Aspergillus ochraceus* suşundan izole edilmiştir. Dünyanın çeşitli ülkelerinde baklagillerde, hububatlarda ve diğer bitkisel ürünlerde, hayvan yemlerinde okratoksin kontaminasyonu saptanmıştır. OTA özellikle mısır, buğday, arpa, yulaf, yer fıstığı ve kuru incirde bulunmaktadır.

İncirlerde AF ve OTA üretiminin de benzer şekilde organik madde içeriğinin artması ve olgunlaşmayla birlikte ağaç üzerinde başladığı düşünülmektedir. Kuru incirlerde diğer bir mikotoksin olan OTA'nın oluşumunun belirlenmesi ihracatta veya insan sağlığı açısından çıkabilecek sorunların artacağını göstermektedir. Kuru incir ve kuru üzüm ile ilgili kültüre dayalı yöntemler ile yapılan mikrofungus sayımı, izolasyonu ve tanılama çalışmaları incelendiğinde yaygın olarak *Aspergillus niger* grubunun bulunduğu görülmektedir. Bu grup üyeleri özellikle okratoksijenik türleri içermektedir. Niger grup üyeleri ile kıyaslandığında, AF'nin ana üreticisi olan *Aspergillus flavus* ve *A.parasiticus* suşlarına daha az sayıda ve sıklıkta rastlanmıştır (Sarigül 2000, Eltem vd., 2003, Aksoy vd., 2003). Fakat risk değerlendirmesi yapılırken, bir üründe Niger grup üyeleri ile aflatoksijenik *A.flavus* ve *A. parasiticus* türlerinin birlikte bulunması durumunda olabilecek ihtimaller de göz önünde tutulmalıdır. Çünkü fungal türlerin konak üzerindeki dominantlık durumu mevsime, çevreye ve diğer dış koşullara bağlı olarak da değişmektedir. Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı tarafından 1997 yılında *A.niger* için yapılan risk değerlendirmesinde, ürünlerde *A.niger* ile aflatoksijenik suşlar bir arada bulunduğu, *Aspergillus niger*'in ortamın pH değerini düşürerek AF üretimini teşvik ettiği belirtilmiştir (*Aspergillus niger* final risk assessment, 1997).

*Aspergillus* türlerinin tanımlanması için geleneksel metodlar çoğunlukla konidiyofor yapısı, konidia yapısı ve büyüklüğü, yapı ve renk ve koloni çapını içeren morfolojik parametrelere dayalıdır (Klick, 2002). Bununla birlikte tür sınıflandırması, hem tür içi hem de türler arasındaki yüksek seviyede genetik çeşitlilik ile üretilen morfolojik özelliklerin farklılığından dolayı zor olabilir (Kumeda ve Asao, 1996).

Çoğu araştırmacı aseksüel funguslarda seksüel döngü olmamasına rağmen bir rekombinasyon olduğuna dair fikir birliğine varmışlardır. Bazı aseksüel fungal türlerde genotipik çeşitliliğin ve gen akışının kanıtlarının olduğunu vurgulanmıştır (Geiser vd., 1998; Paoletti vd., 2005). Bununla birlikte, bir fungusun vejetatif döneminde genotipik çeşitliliğin tek bir anlamı olabileceğini ve bunun da paraseksüel döngü olduğu belirtilmiştir (Pontecorvo, 1956). Paraseksüel döngü; hifal füzyon, karyogami ve mitotik rekombinasyon aşamaları ile adlandırılan bir döngüdür. Aseksüel funguslarda mitotik rekombinasyon için seksüel döngüye benzer olarak uygun bir eş bulma paraseksüel döngünün önemli bir aşamasıdır. *Aspergillus* cinsinin doğal populasyonlarında genetik sürüklenmenin doğası çok az bilinmektedir. Bununla birlikte populasyonlardaki rekombinasyona dair kanıtlar mevcuttur (Geiser vd., 1994; Geiser vd., 1998; Paoletti vd., 2005). Bu aseksüel türlerde paraseksüel olaylardan kaynaklanabilmektedir. Eğer fungus populasyonlarında klonal üreme çoğunlukta ise izolatlar arasında düşük bir genetik varyasyon beklenir. Bunun yanı sıra izolatlar arasında paraseksüel rekombinasyon var ise yüksek seviyede genetik çeşitlilik beklenir (Pekarek vd., 2006). İpliksi funguslarda aynı türlerin bireyler içi/arasında hifal birleşmenin olması (heterokaryon) önemlidir. Hifal birleşmenin sınırlanması funguslar arasında yaygın olan heterokaryon uyumsuzluğudur ve heterokaryon uyumu bir sitoplazmada birbirine genetik olarak benzemeyen nukleusların birlikte bulunması durumudur (Pal vd., 2007). Heterokaryon uyumu da aseksüel funguslarda bu bakımdan genetik çeşitliliğin oluşmasına temel oluşturur.

Aynı türün farklı ekolojik bölgelerde yaşayan farklı populasyonları, farklı allellere ve allel kombinasyonlarına sahiptir. Bu genlerin ve gen kombinasyonlarının bazıları, önemli ekonomik ve evrimsel değere sahiptir. Populasyon açısından ele alındığında da bir genin farklı populasyonlarda farklı sıklıkta ya da farklı kombinasyonlarda oluşu populasyonlar arası genetik çeşitliliği ortaya çıkaracaktır. Genetik çeşitlilik, bir populasyondaki heterozigotluk seviyesi, her bir lokustaki allel sayısı ya da polimorfik lokus yüzdesi ile tahmin edilebilir. Moleküler belirteçlerin en önemli avantajlarından birisi çevresel faktörlerden etkilenmemeleri ve polimorfizm oranlarının yüksek oluşudur (Çağlar, 2010). Doğal populasyonlardaki genetik çeşitlilik biyologların temel endişesidir, çünkü genetik çeşitlilik miktarı ve dağılımı türlerin ve populasyonların evrimsel potansiyelini muhtemelen etkileyecektir (Futuyma, 1986).

Belirli bir coğrafik alanda yayılan populasyonlar arasındaki varyasyonun önemli olup olmadığını anlayabilmek için o varyasyonun doğasının bilinmesi gereklidir. Bu varyasyon doğasını belirleyebilmek için ise o populasyonun yapısının ortaya çıkarılması gerekmektedir (Belen, 2009). Genotip dağılımlarının ve frekanslarının incelenmesi ile genetik varyasyona neden olan evrimsel mekanizma ve süreçler açıklanabilmekte, tür içi genetik polimorfizmin türler arası genetik farklılaşmaya nasıl bir zemin hazırladığı ortaya çıkarılabilmekte, farklı populasyonlar arasındaki genetik varyasyon tespit edilebilmektedir. Ayrıca türlerin genetik çeşitliliğinin ve genetik polimorfizmin alt populasyonlar düzeyinde belirlenmesi ile populasyon tarihçesi, göç örüntülerinin incelenmesi, filogeni, morfolojik, davranışsal ve diğer adaptasyon şekilleri gibi konulara açıklama getirilebilmektedir (Futuyma,1998; Hedrick, 2005).

Populasyon genetiği çalışmalarının çoğunda ilk adımı ilgilenilen lokustaki allel frekansının ölçülmesi oluşturur. Allel frekanslarının ölçümüyle elde edilen veriler, incelenen lokuslar yönünden çalışılan populasyonlar hakkında bilgi verir. Elde edilen sonuçlar Hardy-Weinberg dengesi yönünden değerlendirilir. Allel frekansı nesilden nesile sabit kalan ve genotip frekansı allel frekansından hesaplanabilen bir populasyon Hardy-Weinberg dengesi durumundadır. Bir populasyonda Hardy-Weinberg dengesi; çiftleşmelerin generasyonlar boyunca şansa bağlı olduğu ve mutasyon, seleksiyon, göç, şansa bağlı genetik kayma, mayoz bölünmedeki düzensizlikler gibi gen frekansını değiştiren faktörlerin bulunmadığı durumlarda geçerlidir (Bulut, 2004).

Bir türün populasyonları gibi evrimsel olarak yakın canlı gruplarının karşılaştırmalı olarak çalışılacağı ya da populasyonlarda yakın zamanda oluşmuş olan bir olayın izlerinin aranacağı bir durumda en çok kullanılan genetik belirteçlerden biri de mikrosatellitlerdir (Togan vd., 2003). Mikrosatellitler genom içerisinde mono-di-tri-tetra-penta nükleotid dizilimlerinden biri şeklinde ökaryotik genom boyunca ardışık olarak tekrarlanan kısa DNA motifleridir. Bu tekrarlar  $(AT)_n$ ,  $(GT)_n$ ,  $(ATT)_n$  veya  $(GACA)_n$  şeklinde gösterilmekte ve “n” ardışık tekrar sayısını göstermektedir. Yüksek derecede polimorfik özelliklere sahip olan mikrosatellitler, bireyden bireye 2-6 nükleotidlik küçük farklılıklar gösterirler ve mikrosatellit bölgeleri genom boyunca rastgele dağılırlar. Yüksek derecede değişkenlik gösteren bu DNA dizileri genom boyunca yaygın olarak görülmektedirler. Bu ardışık tekrar dizilerinin gösterdiği tekrar sayısı aynı lokus

bakımından incelenen bireyler arasında farklılık gösterirler (Bulut, 2004). Populasyonlar arasındaki anlamlı farklılıklar populasyonların izole olduğunu veya populasyonlar arasında gen akışının düşük olduğuna işaret eder. Populasyonlar arasında genotip frekanslarında farklılığın olmamasının nedenleri; populasyon örneklerinin az olup istatistik analizlerde yeterli olmaması, populasyonların yeni ayrılması yüzünden genetik çeşitliliğin henüz birikmemesi veya populasyonlar arasında göç olması olabilmektedir (FitzSimmons vd., 1999).

Yoğun araştırmalara rağmen fungusların *Ascomycota* grubunun taksonomisi problemlidir. Türler arasında benzerlik ve polimorfizm miktarını belirlemek için genetik teknikler bu problemi minimize etmeye yardım eder (Batista vd., 2008). Mikrosatellitler veya STR'ler *Aspergillus* türlerini içeren çoğu fungusların genomlarında yaygın olarak bulunur (Klaassen ve Osheroov, 2007). Mikrosatellitler gibi kodominansi gösteren, ikiden fazla alleli belirleyebilen, belli lokus için bireylerin genotiplerini saptayabilmeye olanak sağlayan PCR'a dayalı genetik belirteçler, fungal populasyon genetiği çalışmalarında daha fazla gelişmiştir. Bu belirteçler spesifik DNA sekanslarını amplifiye etmeye olanak sağlar ve gıda veya toprak kökenli fungus populasyonlarının genetik yapısının değerlendirilmesine olanak sağlar (McDonald ve Bruce, 1997). Genel bir mikrosatellit profil karşılaştırılması tür tanımlaması için uygundur ve yüksek polimorfizmlerinden dolayı birey bantları suşların karakterizasyonu için bilgi verici olabilir (Guarro vd.,1999).

Ülkemizde toksin kontrolü gerek ihraç ürünlerinde UV veya kromatografi yöntemleri ile gerekse çeşitli araştırmacıların hemen her sene yaptığı türlerin o bölgede ya da üründeki varlığını ve toksin seviyesini ortaya koymaya yöneliktir. Gıda ürünlerdeki küflerin erken dönemde tanınması ya da moleküler yöntemler ile hızlı bir şekilde saptanması, mikotoksin üretici populasyonların o bölgedeki dağılımlarının, kökenlerinin ve birbirleri ile olan genetik ilişkilerin belirlenmesi ile oluşturulan bir veri seti, hem toksin üretiminin hem de belirlenen türlere karşı daha spesifik detoksifikasyon ve dekontaminasyon yöntemleri geliştirilmesine katkıda bulunabilir. Filamentli küfler üzerine yapılan moleküler araştırmalar son yıllarda hız kazanmıştır. Ülkemizde Heperkan vd. (2011) ilk defa Ege Bölgesi'nde ITS (internal transcribed spacer) belirteçleri kullanarak aflatoksinjenik *Aspergillus* Flavi grubu suşlarını karakterize etmiştir.



Kontamine populasyonlara karşı yapılacak herhangi bir uzaklaştırma veya detoksifikasyon işlemlerinden önce o populasyonlar hakkında bilgi edinilmesi ve bir veri seti oluşturulması gerektiği düşünülmüştür. Mikotoksin üretiminin farklı ekolojik koşullara bağlı değiştiği göz önüne alındığında üretici suşların da populasyon içi/arası çeşitlilik gösterebileceği öngörülmektedir.

Bu yüksek lisans tezinin amacı; Aydın ilindeki kuru incirlere kontamine küf florasını ve bu floranın Aydın ilindeki dağılımını belirlemek, mikrosatellit belirteçleri kullanılarak Aydın'da farklı lokalitelerden toplanan örneklerden izole edilen AF ve OTA üretim potansiyeli olan populasyonların genetik yapılarını ortaya koymak ve populasyonlar arası genetik varyasyonu lokal dağılımları ile ilişkilendirmektir. Bunun sonucunda toksin detoksifikasyonu için yararlı olabilecek aflatoksijenik ve okratoksijenik populasyonlar hakkında veri seti hazırlanacak ve populasyonların genetik yapıları farklı lokalitelerde yapılan araştırmalar ile karşılaştırılacaktır.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

Kuru incir ekonomik potansiyele sahip önemli ihracat ürünlerimizden biridir. Genellikle ülkemizin kıyı bölgelerinde özellikle Ege Bölgesi Aydın, Birgi (Ödemiş), İzmir il sınırları içinde kalan Büyük ve Küçük Menderes Havzaları, Tire, Bursa ve çevresinde ticari olarak kuru incir yetiştiriciliği yapılmaktadır. Ege Bölgesi'nde yetiştirilen sarılop çeşidi meyve kabuğunun inceliği, kalın etki ve şekerce zengin, yumuşak oluşu nedeni ile kurutmalık incir olarak bilinmektedir (Var vd., 2001). Dünyadaki taze incir üretiminin % 23.6' sını ve kuru incir üretiminin ise % 54.3' ünü tek başına karşılayan ülkemizi takiben sırasıyla Mısır (% 17.4), Yunanistan (% 7.4), İran (% 6.6), Fas (% 6.3) ve İspanya (% 5.8) gibi ülkelerde de incir üretimi yapılmaktadır (Anonim, 2003). Dünyada her yıl yaklaşık 60-70 bin ton kuru incir ihracatı yapılmaktadır. Dünya ihracatının ortalama %55'i ülkemiz tarafından gerçekleştirilmektedir. İhracatımızın %60'ı Avrupa Birliği ülkelerine yönelik olup en önemli pazarlarımız sırasıyla Almanya, Fransa, İngiltere, İtalya ve İsveç'tir. Ürünümüzün ikinci derecedeki alıcıları ise Hollanda, Avusturya, İsrail ve İsviçre'dir (Anonim, 2003).

Küfler uygun koşullarda ham ve işlenmemiş gıdalarda çoğalarak bir yandan ürünün nitelik ve niceliğini değiştirir bir yandan da insan sağlığı açısından

olumsuz etkilere sebep olan toksik sekonder metabolitlerini oluşturmaktadırlar. Küfler genel olarak 25 °C'de ve % 80 bağıl nemde gelişmektedirler (Meçik, 2007). Küflerin ürettikleri mikotoksinler belirli koşullar altında üretilmektedir. Mikotoksin üretimi pH, sıcaklık, nem ve su aktivitesi ( $a_w$ ) gibi faktörlerden etkilenmektedir. Dış faktörlerin yanı sıra gıdadaki küf florası ve gıdanın kimyasal ve fiziksel içeriği de mikotoksin oluşumunda rol oynamaktadır. Genellikle belli bir mikotoksinin üretimi küçük bir fungal grup içinde sınırlandırılmıştır, bazı mikotoksinler ise türler ve hatta suşa spesifiktir. Değişen çevre şartları göz önünde tutulduğunda her geçen gün bilinen mikotoksinleri üreten tür sayısı ve mikotoksin çeşitliliği artmaktadır.

Bilinen ilk mikotoksikozis (mikotoksin zehirlenmesi) olan ergotizm (çavdar zehirlenmesi), *Claviceps purpurea* ile enfekte olmuş tahılların tüketilmesi sonucu yaklaşık 40 bin insanın hayatını kaybettiği bir hastalıktır. Hastalık etmeni, *Claviceps purpurea* 'nın metabolik ürünleri olan ergot alkaloidleridir (Ünlütürk ve Turantaş, 1998). Mikotoksinlerle zehirlenme genellikle kronik olurken, akut nitelikte de olabilmektedir. Kenya'da 2004 yılında temel besin olarak kullanılan mısır ve mısır ürünlerini yiyen insanlarda ortaya çıkan aflatoksikozis (AF zehirlenmesi) olayında 317 zehirlenme olmuş ve bunların 125'i ölümle sonuçlanmıştır. Mısırdaki tespit edilen aflatoksin miktarının 48.000 ppb'ye ulaştığı bildirilmektedir (Oruç, 2005). Düşük dozda toksinlerin uzun süre alınmaları durumunda ise kronik hastalıklar görülmektedir. Akut toksik etkiye bireyin duyarlılığı, genetik ve fizyolojik özellikleri ve çevresel faktörler etkindir (Anon., 2006).

1910 yılında Brezilya'da küflenmiş Brezilya cevizinden *Aspergillus flavus* suşunu izole ettiği ve bu küfün toksisiteden sorumlu tuttuğu halde, bunun üzerinde fazla durulmamış ve 1980 yılında yapılan bir çalışma ile ilk veriler tekrar doğrulanmıştır. Ürünlere kontamine mikotoksinler içerisinden en önemlileri olan aflatoksinler (AF) yüzünden dünya üzerinde pek çok ülkede ihracatta birçok sorun yaşanmıştır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) tarafından getirilen sınırlamalar doğrultusunda ülkemiz de dahil olmak üzere pek çok ülkede ihraç ürünleri geri gönderilmiştir.

İncirlerdeki en önemli problemlerden birisi, olgunlaşmadan sonra özellikle kuraklık gibi stres koşullarında aflatoksin oluşturan küflerin meyve içinde

gelişebilmesidir (Dündar, 2008). Olgun incirlerin % 36'sının hasattan önce dalında aflatoksin içeriği saptanmıştır. Hasattan sonra kurutma sırasında da koşullara bağlı olarak küf gelişmesi devam eder. Bu nedenle kurutulmuş incirlerin ortalama %18-19 kadarı özellikle aflatoksin içerebilmektedir (Ünlütürk ve Turantaş,1998).

Ülkemizde incirde aflatoksin sorunu ilk kez 1972 yılında Danimarka'ya ihraç edilen Türk kuru incirlerinde yüksek miktarda (938 mg/L) aflatoksin B<sub>1</sub> saptanması ile başlamıştır. 1973-1974 yıllarında Amerika Birleşik Devletleri'ne gönderilen 38 parti kuru incirin üçünde aflatoksin belirlenmiş ve geri gönderilmiştir (Karaca, 2005). 1986 ve 1987 yıllarında ise İsviçre ve Almanya'ya gönderilen kuru incirlerde aynı problem yaşanmıştır (Demir, 1990).

İncirler yüksek karbonhidrat içerikleri nedeniyle hem aflatoksin oluşumu için hem de küflerin gelişimi için iyi bir substrattır (Özay ve Alperden, 1991). AB Gıda Bilimsel Komitesi aflatoksin B<sub>1</sub>'in düşük seviyelerde bile karaciğer kanserine ve mutasyona yol açtığını bildirmiştir (Anon., 2007). Ülkemizde kuru incirlerde küf florasını ve özellikle aflatoksin seviyesini belirlemeye yönelik pek çok çalışma vardır.

Genel olarak incirdeki küf florasını belirli türler oluşturmaktadır. Bu küf florasında bulunabilen türler sıklıkla *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, *A. terreus*, *A. fumigatus*, *A. candidus*, *A. niger* gibi *Aspergillus* cinsine ait türler olmakla beraber *Cladosporium*, *Alternaria*, *Acremonium* gibi farklı cinslere dahil suşlar da olmaktadır (İşman ve Bıyık (2009).

Benlioğlu vd. (2008) Aydın ilinden ihraç edilen kuru incir örneklerindeki küf etmenlerinin bulaşıklık düzeyini saptamak amacı ile 2005 yılında 23 incir işletmesinden 97 parti incir incelemişlerdir. Toplanan örneklerdeki küf florasını belirleyerek genellikle *A. flavus* ve *A. niger* suşlarının baskın olduğunu belirtmişlerdir.

İncirde okratoksin A üreticisi siyah *Aspergillus* üyelerinin varlığı okratoksin A açısından risk oluşturabilir. Kuru incirde *A.flavus* ve *A.parasiticus* kadar incelenmesi gereken bir diğer küf türü de *A.niger*'dir. *A.niger* dışında *A. niger*'e benzerlik gösteren *A.carbonarius* küfünün de okratoksin ürettiği bilinmektedir. *A.carbonarius* literatürde sıklıkla rastlanan bir küf değildir. Ancak bu durumun

daha az bulunmasından değil, tüm siyah renkli *Aspergillus* izolatlarının *A.niger* olarak tanımlanmasından ileri geldiği bildirilmektedir.

Heperkan vd. (2005) siyah konidiuma sahip üç küf türü ile yapılan çalışmada 470 *A. niger*, 245 *A. carbonarius* ve 200 *Aspergillus japonicus* izolatu okratoksin oluşturmaları bakımından incelenmiştir. Toksin oluşturan asıl küfün *A.carbonarius* olduğu görülmüş, tüm izolatları okratoksin üretmiştir. *A. niger* nadiren ve düşük konsantrasyonda okratoksin üretmektedir. *A. japonicus* ise toksin üretmemektedir. *A. carbonarius*' un, *A. niger*' in bulunduğu tüm ortamlarda gelişebildiği bildirilmektedir.

İncirlerde küf florası ve kontaminasyon seviyesi ağaçtaki olgun meyveden başlamak üzere paketlemeye kadar ki her bir süreçte değişebilmektedir. Ege Bölgesi'nde 11 farklı bahçeden 63 incir örneği üzerine yapılan çalışmada hakim floranın *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *A. parasiticus* ve *Fusarium* türlerini içerdiği saptanmıştır. *A.flavus-A.parasiticus* kontaminasyonu ağaçtan toplanan olgun incirlerde % 41, toprak üzerinden temin edilenlerde % 21, güneşte kurutulmuş olanlarda % 42, depolardan temin edilenlerde % 33, işletmelerden temin edilenlerde % 25 ve incir ezmesinde % 25 olarak belirlenmiştir. *A.flavus-A.parasiticus* izolatların % 72' sinin besi ortamında aflatoksin oluşturduğu belirtilmiştir (Heperkan, 2005).

Tarım ürünlerinde kontamine küfler sadece dış yüzeyde olmayıp ürünün iç kısmında da bulunmaktadır. Küfler herhangi bir ürüne bulaştığı zaman sporlarını ürünün her yerine bulaştırmaktadır. Bu bakımdan toksin varlığı veya küf florasını belirlemeye yönelik yapılan çalışmalarda ürünlerin hem iç hem de dış kısmı birlikte kullanılmaktadır. Şenyuva vd. (2008) İzmir ve Aydın' dan 50 kuru inciri UV ışığı altında inceleyerek 49 örnekte aflatoksin B<sub>1</sub> saptadıklarını ve oranlarının ise 0.7 ile 222 ng g<sup>-1</sup> arasında olduğunu ancak 40 örnekte bu oranın 2 ng g<sup>-1</sup> üzerinde olduğunu belirtmişlerdir. 32 örnekte ise okratoksin A (OTA) saptadıklarını bildirmişlerdir. İncirlerin hem iç kısmı ve dış kısmından izolasyon sonucunda iç kısmında daha fazla kontaminasyon olduğunu gösteren araştırmacılar, okratoksin üretici *Aspergillus niger* türünün Türk kuru incirlerinde en fazla bulunan küf olduğunu ve bunu *A. ochraceus* türünün takip ettiğini de vurgulamışlardır. Aynı araştırmacı 2005 yılında 99 incir örneğinin sadece 4 tanesinde hem AF hem de OTA' ya rastlamıştır (Şenyuva vd., 2005).

Bir ürünlerdeki küf florasının çeşitlilik içerdiği görüldüğünde mikotoksin çeşitlerinin de birden fazla olması beklenen bir sonuçtur. Karaca ve Nas (2006) Ege Bölgesi'nden topladıkları incirlerde aflatoksin, patulin ve ergosterol toksinlerini HPLC tekniği ve ultraviyole ışığı altında kullanarak incelemişlerdir. Floresan gösteren incirlerde 117.9–471.9 ppb aflatoksin belirlerken, patulin ve ergosterol toksinlerinin sırasıyla 39.3–151.6 ppm ve 4.5–18 ppm olduğunu göstermişlerdir.

Çevresel koşullar, coğrafik konum ve mevsimsel değişimlerin küf florasını etkilediği bilinmektedir. Bircan vd. (2008) 2007 yılında Türkiye'den Avrupa'ya ihraç edilen 4917 kuru incirde kuraklık yılında aflatoksin kontaminasyonunun bir önceki yıla göre arttığını belirten bir çalışma yapmıştır. Aynı araştırmacı 2009 yılında yine Türkiye'den Avrupa'ya ihraç edilen 98 kuru incirde aflatoksin ve okratoksin seviyelerini inceleyen bir araştırma yapmıştır. Araştırma sonucunda kuru incirlerin % 10' unda 0.87–24.37 ng g<sup>-1</sup> ve % 90' unda ise 4.3 ng g<sup>-1</sup> toksin saptamıştır.

İncirdeki küf ve mikotoksin sorunu sadece bizim ülkemizde yaşanmayıp tüm dünyada bununla ilgili araştırmalar devam etmektedir. Birçok araştırmacı Brezilya, Suriye, Türkiye, Morocco, USA ve İngiltere'deki incirlerde toksijenik küflerin ve aflatoksin varlığını rapor etmişlerdir (Iamanaka vd., 2007; Haydar vd., 1990; Boyacıoğlu and Gonul, 1990; Özay vd., 1995; Karaca ve Nas, 2006; Zorluğenç vd., 2008; Juan vd., 2008; Doster vd., 1996; Bayman vd., 2002; Sharman vd., 1991).

Doster ve Michailidis (1998) Kaliforniya incirlerinde aflatoksin üretici *A. flavus* ve *A. parasiticus*, aflatoksin üretmeyen *A. tamarii* ve *A. alliaceus* suşlarını saptadıklarını belirtmişlerdir. Bayman vd. (2002) Circumdati grubundan *A. ochraceus*, *A. melleus*, *A. sclerotiorum* ve Flavi grubundan da *Aspergillus* suşlarını izole etmişlerdir.

Logrieco vd. (2003) Akdeniz bölgelerindeki kuru incirlerde toksijenik *A. flavus* suşunun sıklıkla bulunduğunu ve bunun dışında *Penicillium expansum* suşunun da diğer küflere oranla daha sıklıkla kontamine olduğunu belirtmiştir. Kuru incirde *Alternaria* türlerinin ise çok nadir olduğunu vurgulamışlardır.

Dünyada da çeşitli tarımsal ürünlerdeki *Aspergillus* populasyonlarını ve aflatoksin varlığı/seviyesini belirlemeye yönelik çalışmalar mevcuttur.

Javanmard vd. (2010) İran'da kuru incirlerden elde ettikleri *Aspergillus* türleri ve küf kontaminasyonunu belirlemeye yönelik yaptıkları çalışmada kurutma koşulları, toplama bölgeleri, paketlemedeki yetersizlik ve hijyen eksikliğinin kuru incirde yüksek küf kontaminasyonuna neden olduğunu belirtmişlerdir.

Sultan vd. (2010) Mısır'da ardı ardına iki sene beş farklı coğrafik bölgeden topladıkları fındıklardaki mikotoksijenik küfleri belirlemeye yönelik çalışma yapmışlardır. Araştırmacılar her iki dönemde de Flavi grubu ve Niger grubunun yaygın bulunduğunu, Circumdati grubunun ise bir sene hiç bulunmadığını belirterek, bunun sebebini bölgeler arasındaki su aktivitesi, toplama dönemindeki ve bölgeler arasındaki coğrafik farklılığa bağlamışlardır.

Atehnkeng vd. (2008) Nijerya'da üç farklı ekolojik bölgedeki mısır örneklerinden izole ettikleri *Aspergillus* suşlarının dağılımını ve toksijenitesini belirlemeye yönelik çalışma yapmışlardır. Araştırmacılar, aflatoksin üreten *Aspergillus* suşlarının üç farklı bölgedek, farklılığının hasat öncesi dönemde aflatoksin kontaminasyon kontrolü için populasyon dinamiğinin anlaşılmasının önemli olabileceğini vurgulamışlardır.

*Aspergillus* cinsi, mikroskobik olarak karakteristik konidioforlar ile kolaylıkla ayırt edilebilmesine rağmen, türlerin ayrımı komplekstir (Rodrigues vd., 2007). Bu bakımdan, aralarında sınırlı sayıda fenotipik farklılık bulunan ve lokalitelere bağlı değişim gösteren bu türlerin genetik temellere dayalı ayırt edilmesi oldukça önemlidir.

Populasyonların genetik yapılarını ortaya koymada sıklıkla tercih edilen mikrosatellit belirteçleri kullanılarak *Aspergillus flavus* ve *A. niger*'e ait ülkemizde henüz bir çalışma mevcut değildir. Aynı populasyonun farklı türleri arasında dahi yüksek oranda polimorfik olan bu belirteçlerin tercih edilmesi funguslarda alt tür tanımının yaygın olmasından kaynaklanmaktadır. Mikrosatellit varyasyonu ile allelik çeşitliliği tek bir reaksiyonda basit bir şekilde uygulanabilmektedir. Mikrosatellitler rekombinasyon, seçim, göç, genetik sürüklenme gibi evrimsel süreçlerin çalışılmasında önemli belirteçlerdir (Douhan ve diğ., 2003).

Mikrosatellitler tipik olarak doğal seleksiyona maruz kalmış lokuslar için genetik varyasyonun tespitinde kullanılır. Çünkü arka arkaya olan tekrarlar genellikle DNA'nın kodlama yapmayan bölgelerinde yer almaktadır (Frankham vd., 2004).

Dünyada gerek klinik örneklerde ve tarımsal ürünlerde gerekse belirli bir bölgedeki ya da ortamdaki küf populasyonlarındaki varyasyonu belirlemek için farklı mikrosatellit lokusları kullanılarak yapılan pek çok çalışma mevcuttur (Lair-Fullinger vd., 2003; Guo vd., 2004; Prasad vd., 2000; Hosid vd., 2008).

Grope ve diğ. (1995) endofitik bir fungus türü olan *Epichloe* spp. ekolojisi ve çeşitliliğini araştırmak için mikrosatellitleri kullanarak bu belirteçlerin fungal populasyon çalışmalarında RAPD'den daha bilgi verici olduğunu vurgulamışlardır.

Grubisha ve Cotty 'nin (2010) Arizona ve Teksas'ta yaptıkları araştırmada *A.flavus* populasyonlarının genetik çeşitliliğini ve göç oranlarını 24 mikrosatellit belirteçleri kullanarak saptamışlardır. Pamuktan dört yıl boyunca toplam 243 örnek izole edilerek genetik varyasyonun dağılımını, simpatrik populasyonlarda *A.flavus* türleri arasındaki potansiyel gen akışı ve populasyon yapısını incelemişlerdir. Araştırma sonucunda genetik olarak izole üç *A. flavus* türü olduğunu, yüksek oranda genetik farklılık bulduklarını ve genetik sürüklenme ile ilgili bir kanıt bulamadıklarını, bu çeşitliliğin tarımsal ürünlerde hasattan önce oluştuğunu belirtmişlerdir. Aynı araştırmacıların 2009 yılında yaptığı bir çalışmada ise özellikle aflatoksin üreten *A.flavus* türüne spesifik mikrosatellit belirteçleri geliştirilmiştir.

Mikrosatellit belirteçleri türe spesifiktir ve aynı populasyonlardaki bireyler arasında dahi çeşitlilik gösterir. De Valk ve diğ. (2005) klinik olarak izole ettikleri 90 *A. fumigatus* izolatları arasındaki varyasyonu tespit etmek için dokuz farklı mikrosatellit dizileri kullanmışlardır. Çalışmada kullandıkları mikrosatellit belirteçlerini 11 farklı *Aspergillus* (*A. clavatus*, *A. chevalieri*, *A. flavus*, *A. glaucus*, *A. niger*, *A. nidulans*, *A. ochraceus*, *A. sodowii*, *A. terreus*, *A. ustus* ve *A. versicolor*) suşlarında denemelerine rağmen hiçbir ürün elde edemediklerini belirtmişlerdir.

*A. niger* türlerine spesifik mikrosatellit belirteçleri geliştirilmiştir (Esteban vd., 2005). Türe spesifik olan bu belirteçler Niger grubu üyelerinden *A. aculeatus* ve *A. carbonarius* suşlarında denenmesine rağmen çoğaltılamamıştır. Bu, genom içerisindeki bu bölgelerdeki türler arasındaki polimorfizmden kaynaklanmakta ve bu alleller null (sessiz) allel olarak adlandırılmaktadır (Leong, 2005).

Lokal populasyonlar arasındaki genetik çeşitlilik ya kendiliğinden (spontan) mutasyon ya da lokuslardaki kros-over sonucu olabilmektedir. Lamb vd. (1998) ve Saleem vd. (2001) kserik ve değişken Afrika bölgesindeki *Sordaria fimicola* (*Ascomycota*) türlerinde spontan mutasyon ve kros-over frekansının daha ılıman olan Avrupa türlerine oranla daha yüksek olduğunu vurgulamışlardır. Ayrıca stres koşullarının da rekombinasyon ve mutasyon oranlarını teşvik ettiği bildirilmiştir (Hosid vd., 2008).

Farklı genotiplere sahip *A. flavus* suşlarının aynı üründe bulunma olasılığı vardır Davis vd., 1983; Schroeder vd., 1973). Bu bilgi N.Tran-Dinh vd.'nin (2009) Vietnam'da yaptığı çalışma ile doğrulanmıştır. Fıstık, mısır ve toprak örneklerinden izole ettikleri toplam 106 soy içinden aflatoksijenik *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* türlerinin varlığı saptayarak, bu türlerin Vietnam'daki genetik çeşitliliğini araştırmak için mikrosatellit belirteçlerini kullanmışlardır. Araştırma sonucunda *A.flavus* populasyonunun % 25'inin aflatoksin ürettiğini ve Vietnam'da yüksek oranda genetik çeşitlilik gösterdiğini ortaya koymuşlardır. Araştırmacılar bir populasyondaki yüksek genetik çeşitliliği varyasyon oluşması için yeterli evrimsel zamana veya çok farklı türlerin bağımsız etkileşimlerine bağlamıştır.

Bu yüksek lisans tezinde; Aydın ilinin değişik bölgelerinde yetiştirilen kuru incirlerden izole edilen AF ve OTA üretim potansiyeli yüksek olan ve yaygın olarak bulunan *Aspergillus* cinsine dahil suşlar araştırılmıştır. Mikrosatellit belirteçleri kullanılarak *Aspergillus flavus* ve *A. niger* populasyonlarının genetik çeşitliliğinin ortaya konması, sırasıyla 8 ve 6, 14 lokus için genotipleme yaparak tür ve populasyonların saptanması ve bu populasyonların Aydın' daki dağılımının belirlenmesi amaçlanmıştır. Kuru incirlerdeki *Aspergillus* populasyonlarının genetik çeşitliliğinin mikrosatellit belirteçleri ile belirlenmesi ile hem populasyonlar arası genetik farklılıkların hem de lokal dağılımlarının belirlenmesine olanak tanyacağı ön görülmektedir. Ayrıca bu toksjenik suşların



populasyon yapılarının ortaya konmasının, toksin kontrolünde yararlı olabilecek veriler sunacağı da düşünülmüştür.

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. MATERYAL

##### 3.1.1 Kuru İncir Örnekleri ve Lokaliteleri

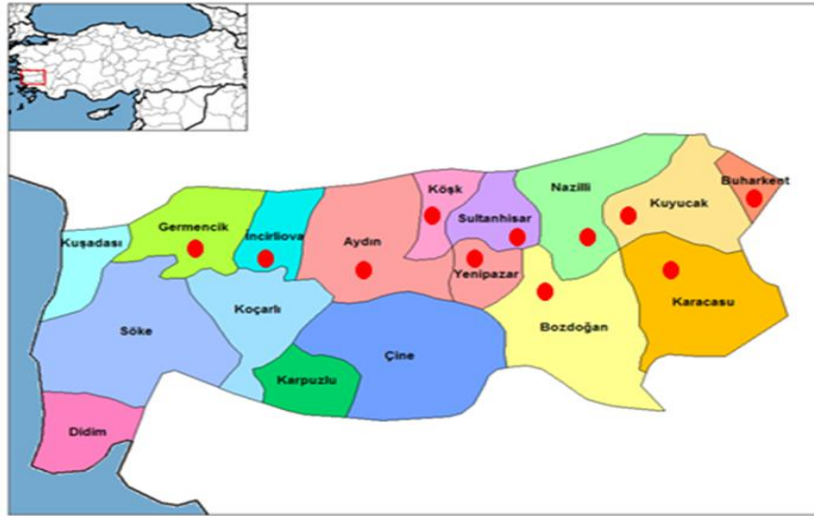
Çalışmadaki kuru incir örnekleri 2010 yılı Ekim ayı kurutma aşamasında Aydın'ın 12 ilçesine bağlı 37 farklı köyden toplanmıştır. Toplanan kuru incir örnekleri Adnan Menderes Üniversitesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na getirilerek +4 °C'de muhafaza edilmiştir. Örneklerin alındığı lokaliteler Çizelge 3.1' de listelenmiş, haritada (Şekil 3.1) gösterilmiştir.

**Çizelge 3.1.** Örnek toplama lokaliteleri

Lokalite No	Lokalite Adı	
1.	Dağeymiri Köyü	Merkez
2.	Gölcük Köyü	Merkez
3.	Dağeymiri Köyü	Merkez
4.	Şahnalı Köyü	Merkez
5.	Kenger Köyü	Merkez
6.	Çamköy	Germencik
7.	Bayındır Köyü	Nazilli
8.	Terziler Köyü	Umurlu
9.	Madran Köyü	Yenipazar
10.	Konuklu Köyü (Paşa yaylası)	Merkez
11.	Mursallı Köyü (Taban arazi) Çamur çukur Mevki	Germencik
12.	Mursallı Köyü (Taban arazi) Uncuboğazi/Uncuderesi Mevki	Germencik
13.	Çamköy (200-300m)	Germencik
14.	Dampınar Köyü (300-350m)	Germencik
15.	Habipler Köyü 1 (500-600m)	Germencik
16.	Habipler Köyü 2 (600m)	Germencik
17.	Başköy (400m)	Tire /İzmir
18.	Başköy Köyü (450m)	Tire /İzmir
19.	Akmescit Köyü (800m)	Tire /İzmir
20.	İsafakılar Köyü (Taban)	İncirliova
21.	İsafakılar Köyü(Dağ)	İncirliova
22.	Eğrek Köyü(Çay Mah.- 250m)	İncirliova

## Çizelge 3.1. devamı

Lokalite No	Lokalite Adı	
23.	Arzular Köyü (Taban arazi)	İncirliova
24.	Erbeyli Köyü (Taban arazi)	İncirliova
25.	Karışık örnek	Köşk
26.	Sarıçam Köyü 1 (740m)	Köşk
27.	Sarıçam Köyü 2 (740m)	Köşk
28.	Taban arazi	Köşk
29.	Dağ arazi	Köşk
30.	Aşağı Karatepe Köyü(500-600m)	Köşk
31.	Azaplı Köyü (Salavatlı Beldesi)	Sultanhisar
32.	Meşeli Köyü	İncirliova
33.	Salavatlı Köyü (120-200m)	Sultanhisar
34.	Malgaç Mustafa Köyü (Dut deresi Mevki)	Sultanhisar
35.	Taban arazi	Yenipazar
36.	Kılavuzlar Köyü (300m)	Atça
37.	Uzunlar köyü (700m)	Atça
38.	İncealan Köyü	Atça
39.	Karışık örnek	Nazilli
40.	Karışık örnek (DAĞ) (Hisarcık K., Ketendere K., Hasköy K., Semailli Köyü)	Nazilli
41.	Karışık örnek (DAĞ) (Yukarı örencik K., Aşağı örencik Köyü, Apaklar K. (910m), Çatak Köyü)	Nazilli
42.	Karışık örnek (DAĞ)	Tire+Nazilli
43.	Karışık örnek (DAĞ)	Tire+Nazilli
44.	Karışık örnek (TABAN ARAZI) (Mastura Köyü- Nazilli, Bayındır Köyü-Nazilli)	Nazilli, Buharkent, Kuyucak



Şekil 3.1. İncir numunelerinin toplandığı lokaliteler (Google).

### 3.1.2 Kullanılan Besiyerleri ve Çözeltiler

#### Rose-Bengal Kloramfenikol Agar (RBCA) (Oxoid, CM549)

Mikolojik Pepton	5.0 g/L
Glukoz	10.0 g/L
Potasyum dihidrojen fosfat	1.0 g/L
Magnezyum sülfat	0.5 g/L
Dikloran	0.002 g/L
Rose-Bengal	0.05 g/L
Agar	15.5 g/L
pH	5.6 ±0.2

15.75 g hazır besiyeri 500 ml distile suda ısıtılarak çözülmüş ve otoklavda 121°C'de 10 dakika sterilize edilmiş ve steril petrilere dökülerek incirden küf izolasyonu için kullanılmıştır.

### **Malt Ekstrakt Agar (MEA) (Oxoid CM59)**

Standart mikrobiyolojik analizlerde maya ve küflerin geliştirilmesi, izolasyonu ve sayımı için selektif katı besiyeri olarak kullanılır.

Malt ekstrakt	30,0 g/L
Mikolojik pepton	5,0 g/L
Agar-agar	15,0 g/L
pH	5,4±0,2

48,0 g/L olacak şekilde distile su içinde ısıtılarak eritilir, otoklavda 115°C'de 10 dakika sterilize edilmiştir ve steril petri kutularına 12,5'er ml dökülmüştür.

### **Yatık Malt Ekstrakt Agar (MEA)**

Küflerin stok kültür yapılarak uzun süre +4 °C'de saklanması için kullanılır. Normal MEA hazırlanıp 5 ml'lik kreyotüplere dağıtılmış ve otoklavda 121°C'da 10 dakika sterilize edilmiştir. Tüpler yatık pozisyonda konularak, agarın yatık şekilde donması sağlanmıştır.

### **Fizyolojik Tuzlu Su Çözeltisi (FTS)**

NaCl	85 g
Distile su	1000 ml

Kuru incirlerden küf izolasyonu sırasında seyreltme sıvısı olarak kullanılmıştır.

**Laktofenol Mavisi Solusyonu (Merck, M1137410100)**Pamuk Mavisi Stok solusyon

%85 Laktik asit 99ml

Anilin mavisi kristalleri 1.0 g

Lakto-Pamuk Mavisi

%85 Laktik asit 100 ml

Gliserol 250 ml

Pamuk mavisi stok solusyonu 3 ml

Distile su 50 ml

Küflerin morfolojik tanımlanması için hazırlanan preparatlarda küf sporlarını boyamak için kullanılmıştır (Sime vd., 2002).

**STE (Sodyum-Tris-EDTA) Tamponu**

0.1 M NaCl,

0.05 M Tris (pH:7.5),

0.001 M EDTA

Bu üç madde 1000 ml için tartılarak son pH 7.5' a ayarlanmıştır. İzolatların DNA izolasyonu sırasında hücrelerin lizis işlemi için kullanılmıştır.

**% 10'lik SDS (Sodyum Dodesil Sülfat)**

10 g SDS tartılarak 100 ml distile suda çözündürülür. DNA izolasyonunda lizis işlemi için kullanılmıştır.

**Proteinaz K (20 mg/ml)**

20 mg Proteinaz K tartılarak 1 ml distile suda çözündürülür. DNA izolasyonunda lizis aşamasında kullanılmıştır.

**1X TBE (Tris-Borik asit-EDTA) Tamponu**

90 mM Tris-Baz

90 mM Borik asit

2 mM EDTA.2H<sub>2</sub>O

Tartılan maddeler distile su ile 1 L'ye tamamlanır. pH 8.13-8.30'ya ayarlanır. Elektroforezde jel hazırlığında ve elektroforez tankında kullanılmıştır.

**% 0.8'lik Agaroz Jel Hazırlanması**

0,8 g agaroz üzerine 100 ml TBE tamponu ve 5 µl SafeView™ Classic (Applied Biological Materials, Inc.) eklenerek genomik DNA'ları elektroforezde görüntülemek için kullanılmıştır.

**6X Loading Dye Hazırlanması**

% 0,015 Bromfenol Mavisi

% 0,015 Xylene Cyanol FF

% 30 Gliserol

Tartılarak 100 ml' distile su ile tamamlanır.

**TE (Tris-EDTA) Tamponu (pH: 8)**

10 mM Tris-HCl

0.1 mM EDTA

1L için tartılan maddeler iyice çözüldükten sonra pH 8'e ayarlanır ve otoklavda sterilize edilerek buzdolabında saklanır.

**3.2. YÖNTEM****3.2.1. Kuru İncirlerde Aflatoksin Tayini**

Aydın Ticaret Borsası Özel Gıda Laboratuvarı'ndan ön tarama olarak ve 37 köyden toplanan kuru incirlerdeki aflatoksin 360 nm Ultraviyole (UV) ışığı altında parlak sarı-yeşil floresan renk vermelerine bağlı olarak tespit edilmiştir.

**3.2.2. Kuru İncirlerden Toplam Küf İzolasyonu ve Sayım**

Toplanılan kuru incir örneklerinin homojenize etmek için örnekler steril bistüri ile 25 gr olacak şekilde her bir incir örneğinden ayrı ayrı parçalar kesilmiştir. Steril petrilere tartımları yapılmıştır. 225 ml steril FTS içinde blender ile parçalanmıştır. Bu seyreltmeden alınan 1 ml hacim önceden hazırlanmış 9 ml'lik steril FTS içeren tüplere aktarılarak  $10^{-1}$  dilüsyon elde edilmiştir. Daha sonra uygun seri dilüsyonlar hazırlanmıştır.

Kuru incirlerden toplam küf izolasyonu ve sayımı için dökme plaka yöntemi kullanılmıştır. Hazırlanan dilüsyonlardan  $10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}$  ve  $10^{-5}$  olanlardan steril boş petrilere 1 ml inokule edilerek üzerlerine 25 ml RBCA (Rose-Bengal Kloramfenikol Agar) dökülmüştür. Kültürler 30 °C'de 5-7 gün inkubasyona bırakılmıştır. İnkubasyon sonunda 10-30 küf kolonisi içeren petrilere sayılmıştır (Hartog, 1981).

Üreyen farklı küf kolonileri saflaştırılarak yine 30 °C'de 7 gün inkube edilmiştir. İnkubasyon sonunda üreyen saf koloniler kreyotüplerde hazırlanmış steril yatık MEA'ya inokule edilerek 30 °C'de 7 gün inkubasyondan sonra üzerlerine steril mineral yağ eklenmiş ve +4 °C'de saklanmıştır.

### 3.2.3 İzole Edilen Küflerin Morfolojik Tanılanması

Petrilerde üretilen saf küf kolonilerinden öze yardımı ile örnekler alınmış ve üzerlerine bir damla LPM Çözeltisi damlatılmış lam üzerine dağıtılarak lamel ile kapatılmıştır.

Küflerin tanılanması için binokuler altında kültürel özellikleri ve mikroskopta da Laktofenol Pamuk Mavisi Çözeltisi kullanılarak hazırlanan preparatlarla mikroskobik karakterleri saptanmıştır. İzole edilen tüm küf kolonilerinin morfolojik tanısı Samson (2004)'den yararlanılarak yapılmıştır. Tanısı yapılan izolatlar içerisinde yaygın olarak bulunan *Aspergillus* suşları çalışmanın moleküler kısmı için kaydedilmiş ve ayrılmıştır.

### 3.2.4. *Aspergillus flavus* ve *A. niger* İzolatlarından Genomik DNA İzolasyonu

Çalışmada izole edilen tüm *Aspergillus* izolatları arasından en yaygın olan *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus niger* suşları çalışmanın moleküler kısmı için uygun görülerek seçilmiştir ve bu iki populasyon doğrultusunda çalışmanın moleküler kısmı gerçekleştirilmiştir.

İzolatların DNA izolasyonu N. Tran-Dinh vd., (1999) yöntemi modifiye edilerek yapılmıştır (Dihn ve ark., 1999).

1. Beş gün 30 °C' de inkübe edilen *Aspergillus* izolatlarının 0.05 g miselleri steril eppendorf tüplerine konulmuştur.
2. Misellerin üzerine sıvı azot eklenerek steril havanda iyice ezilmiş ve toz haline gelmesi sağlanmıştır.
3. Toz halindeki miseller üzerine 600 µl STE tamponu eklenerek resuspanse edilmiştir. Üzerine 25 µl Proteinaz K (20 mg/ml) ve 75 µl SDS (%10) eklenerek 2 saat 55 °C sıcak su banyosunda inkübasyona bırakılmıştır.
4. İnkübasyon sonrasında v/v Fenol-Kloroform Izoamil Alkol (25:24:1) eklenerek tüpler 5 dakika alt üst edilmiştir.



5. Daha sonra 13.200 rpm' de 5 dakika santrifüj yapılmıştır. Oluşan üst faz temiz bir eppendorf tüpüne aktarılmıştır.
6. Üzerine 1 ml % 96'lık soğuk etanol eklenerek tüpler alt üst edilmiştir.
7. Tüpler 20 dakika buzda bekletilmiş ve daha sonra 13.200 rpm' de 1 dakika santrifüj yapılmıştır.
8. Santrifüj sonunda eppendorflar 37 °C'lik etüvde bekletilerek etanolün uzaklaştırılması sağlanmıştır. 10-20 dakika 37 °C' lik etüvde bekletilen tüplere TE Tamponu eklenerek +4 °C'de bir gece bekletilmiştir.

### 3.2.4.1. Toplam Genomik DNA'nın Kalitatif ve Kantitatif Tayini

İzole edilen DNA örneklerinin kantitatif tayini Nanodrop Spektrofotometre (Thermo) yardımı ile belirlenmiştir. Bu amaçla 1 µl'lik örnekler kör olarak kullanılan TE Tamponu'na karşı 260 nm'de absorbansları ölçülerek saptanmıştır. 260 ve 280 nm'deki absorbans değerleri aşağıdaki formül kullanılarak çift zincirli DNA örneklerinin konsantrasyonları hesaplanmıştır.

$$C_{DNA} = OD_{260\text{ nm}} \times SK \times 50$$

**OD** - Optik Dansite (260 nm'de okunan absorbans değeri).

**SK** - Sulandırma katsayısı.

**50** - 260 nm'de 1 optik dansitenin içerdiği DNA miktarı

İzole edilen DNA'ların son konsantrasyonları 100 µl'de 25 ng olacak şekilde standart hale getirilmiştir.

A260 ve A280 nm'de ölçülen absorbans değerlerinden yararlanılarak DNA örneklerinin kalitatif tayini yapılmıştır. A260/A280 oranı 1.5 ile 1.8 arasında olan örneklerin izolasyonu başarılı olarak kabul edilmiştir (Turner ve ark., 2004).

İzole edilen DNA örnekleri ayrıca % 0.8 'lik Safeview Classic ile boyanan agaroz jel üzerinde 1 saat elektroforezde yürütülerek kontrol edilmiştir. DNA

örneklerinden 5 µl ve yükleme tamponundan 3 µl alınarak karıştırılmış ve 1 kilobazlık DNA belirteci (Fermentas GeneRuler) ile birlikte agaroz jel kuyucuklarına yüklenmiştir. Elektroforez sonunda UV görüntüleme sistemi (UVP-UVGL-58) yardımı ile görüntülenmiştir.

### **3.2.5 PCR (Polimerase Chain Reaction)**

Moleküler analizi yapılacak olan *A. flavus* ve *A. niger* örneklerinin DNA izolasyonu yapıldıktan sonra elde edilen DNA'lerden *A. flavus* için 8 mikrosatellit lokusu ve *A. niger* için ise 6 mikrosatellit lokusu çalışılmıştır. Mikrosatellit lokusları DY-549, HEX, NED floresans boya ile 5' ucu etiketlenmiş oligonükleotidler kullanılarak PCR ile çoğaltılmıştır.

#### **3.2.5.1. *A. flavus* için AF Mikrosatellit Primerleri ile PCR**

Çalışmada *Aspergillus flavus* populasyonu (n=15) için 8 farklı mikrosatellit lokusuna ait 5' ucu floresan boya ile işaretli forward (ileri) ve işaretsiz reverse (geri) primerler kullanılarak, izole edilen DNA örnekleri PCR yöntemi ile çoğaltılmıştır. Çalışılan bu mikrosatellit lokuslarına ait uzunlukları, dizileri, tekrar sayıları ve işaretlenen boyalar ile ilgili bilgiler Çizelge 3.2. gösterilmiştir.

**Çizelge 3.2.** *A. flavus* için mikrosatellit analizinde kullanılan oligonükleotid dizi, boya ve uzunlukları.

<b>LOKUS</b>	<b>TEKRAR MOTİFİ</b>	<b>OLİGONÜKLEOTİD DİZİSİ</b>	<b>bp</b>
<b>AF10</b>	(TAC) <sub>10</sub>	F:6FAM-CGTGCCATCGTAGAACTT R:GGGACATTGGTAGTACCTTGG	274 bp
<b>AF31</b>	(TTC) <sub>31</sub>	F: DY-549-GGGTTGCTTTGAGGTGTGAG R: GGAGTGGCTAGATCGCATGT	377 bp
<b>AF34</b>	(GTC) <sub>4</sub> (GTT) <sub>8</sub>	F: DY-549 CAGTCAACCTTGGCATCGTA R: ACCAAACCCAAACCCTAACC	306 bp
<b>AF43</b>	(GAG) <sub>13</sub>	F: HEX-GTGAGAGCAATTGGGAAACC R: TGACCAATATGCTGGAGGTG	392 bp
<b>AF48</b>	(AAG) <sub>12</sub>	F: HEX-CCACGTTCCACTGTCTCCTT R: GCAAGTCCTCCACTGATGGT	352 bp
<b>AF53</b>	(TCT) <sub>8</sub>	F: 6FAM-TCCTCCAAAGTGACCAAAGC R: TGCGATTGCTCAGGACATAG	147 bp
<b>AF63</b>	(AT) <sub>7</sub>	F: DY-549-CTGGTCGCTGGAACCTGATTT R: GATGTTGGCTGCGGTTAGTT	134 bp
<b>AF64</b>	(AC) <sub>16</sub>	F: HEX -GCCTAAGGACGAGTCGATTG R: GAGGACCGAAGAAGGATGTG	177 bp

Gradient PCR yapılarak optimizasyon sırasında kullanılan reaksiyon bileşenleri ve miktarları Çizelge 3.3'de gösterilmiştir.

**Çizelge 3.3.** *A. flavus* için PCR Reaksiyon karışımı

Kullanılan PCR reaksiyonu (25 µl)	Kullanılan miktar (µl)	Son konsantrasyon
Buffer (10X)	2,5 µl	1 X
MgCl <sub>2</sub> (25mM)	1.5 µl	1.5 mM
dNTP (2.5 mM,her biri)	1.5 µl	0.15 mM
Primer Forward (20µM)	0.8 µl	0.64 µM
Primer Reverse (20µM)	0.8 µl	0.64 µM
Taq Polimeraz (5U/ µl)	0.2 µl	U/ µl
Kalıp DNA	1 µl	25 ng/ µl
St.H <sub>2</sub> O	17.2 µl	

DNA örneklerinin PCR yöntemi ile çoğaltılması için toplam 25 µl'lik reaksiyon hacmi kullanılmıştır (Çizelge 3.3).

Hazırlanan PCR karışımıyla, 0.2 ml PCR tüplerinde PCR cihazı (BIOER Life Express, TC/96/G/H) ile ilk denatürasyon 94 °C'de 5 dakika, daha sonra 30 döngü olacak şekilde 94 °C'de 1 dakika denatürasyon, 49-55 °C'de 1 dakika bağlanma (annealing), 72 °C'de 1 dakika uzama (extension) adımlarından oluşan reaksiyon gerçekleştirilmiştir. Son olarak 72 °C'de 10 dakika ekstra uzama süresi ile reaksiyon devam ettirilmiş ve elde edilen PCR ürünü bir sonraki işleme kadar +4 °C'de saklanmıştır.

### 3.2.5.2. *A. niger* için AF Mikrosatellit Primerleri ile PCR

Çalışmada *A. niger* popülasyonu (n=46) için 6 farklı mikrosatellit lokusuna ait 5' ucu floresan boya ile işaretli forward (ileri) ve işaretsiz reverse (geri) primerler kullanılarak, izole edilen DNA örnekleri PCR yöntemi ile çoğaltılmıştır. Çalışılan bu mikrosatellit lokuslarına ait uzunluk, dizi ve işaretlenen boyalar ile ilgili bilgiler Çizelge 3.4'de gösterilmiştir.

**Çizelge 3.4.** *A.niger* için mikrosatellit analizinde kullanılan oligonükleotid dizi, boya ve uzunlukları.

LOKUS	TEKRAR MOTİFİ	OLİGONÜKLEOTİD DİZİSİ	UZUNLUK
ACNM1	(CA) <sub>15</sub>	F: *-TCTCGACTCTGGCTCCTACC R: GTTTGCTTACTCACCGACTGGAAAA	464 – 509 bp
ACNM2	(CT) <sub>10</sub>	F: *-TGCCCTTACTCTGCCTCTCT R: GTTTCCATTATTCACCCCTCCCTTCT	409 – 446 bp
ACNM3	(CCA) <sub>15</sub>	F: *-TAACTTGCCCTCCGTGGTTGT R:GTTTGAGACCGGAAACATTGGAGTAG	177 – 215 bp
ACNM5	(GTT) <sub>12</sub>	F: *-CGTTTTCTCGGAAGGTTTGA R: GTTTGTGCGTGTGGGGACTATCT	163 – 204 bp
ACNM6	(ATC) <sub>12</sub>	F: *-CGACAGCCGCATCATAGTT R: GTTTCTGCTCTTTTTGCCTTCTTT	429 – 458 bp
ACNM7	(GTA) <sub>10</sub>	F: TGAGGGAAGGGGGTTTTATT R: GTTTGATCTACGGGGGTGTTTGTC	378 – 468 bp

Gradient PCR yapılarak optimizasyon sırasında kullanılan reaksiyon bileşenleri ve miktarları Çizelge 3.5’de gösterilmiştir. Optimizasyon sonucunda *Aspergillus niger* suşlarına spesifik olduğu bilinen 6 mikrosatellit primerinin bağlanma sıcaklıkları belirlenmiştir.

DNA örneklerinin PCR yöntemi ile çoğaltılması için toplam 25 µl’lik reaksiyon hacmi kullanılmıştır (Çizelge 3.5.).

**Çizelge 3.5.** *A. niger* için PCR Reaksiyon karışımı

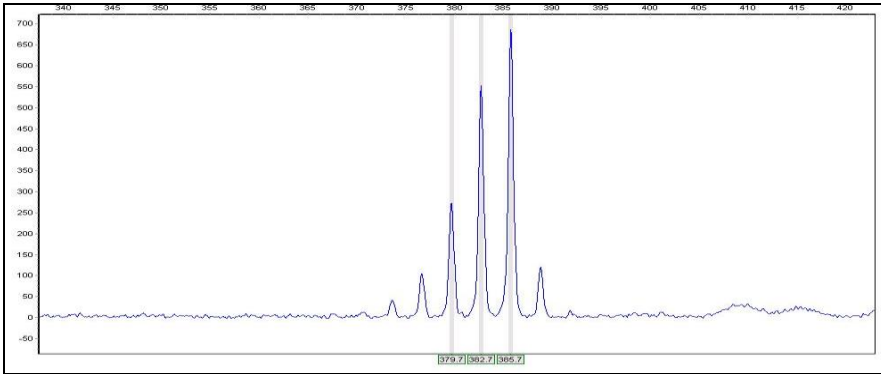
Kullanılan PCR reaksiyonu (25 µl)	Kullanılan miktar (µl)	Son konsantrasyon
Buffer (10X)	2,5 µl	1 X
MgCl <sub>2</sub> (25mM)	1,5 µl	1.5 mM
dNTP 10mM (2.5 mM,her biri)	0.3 µl	125 µM
Primer Forward (20µM)	0.3-0.5 µl	5 pmol
Primer Reverse (20µM)	0.5 µl	5 pmol
Taq Polimeraz (5U/ µl)	0.2 µl	U/µl
Kalıp DNA	1-1,5 µl	25 ng/ µl

Hazırlanan PCR karışımıyla, 0.2 ml PCR tüplerinde Techne marka ısı döngüleyici (thermal cycler) ile ilk denatürasyon 94 °C’de 5 dakika, daha sonra 34 döngü

olacak şekilde 94 °C'de 1 dakika denatürasyon, 49-55 °C'de 1 dakika primer bağlanması (annealing), 72 °C'de 1 dakika uzama (extension) adımlarından oluşan reaksiyon gerçekleştirilmiştir. Son olarak 72 °C'de 10 dakika ekstra uzama süresi ile reaksiyon devam ettirilmiş ve elde edilen PCR ürünü bir sonraki işleme kadar +4 °C'de saklanmıştır. PCR ürünleri Safeview eklenmiş (5 µl) % 1'lik agaroz jele yüklenerek kontrol edilmiştir.

### 3.2.6 Mikrosatellit Veri Analizi

Mikrosatellit allel büyüklükleri ABI 3730 Automated DNA Analyzer (Applied Biosystems) ile belirlenmiştir (Macrogen Inc., Güney Kore). Allel büyüklükleri Genemarker v1.8 (SoftGenetics LLC™) programı kullanılarak hesaplanmıştır (Şekil 3.2.).



**Şekil 3.2.** AF10 lokusunun grafik görüntüsü

Populasyonlara göre allel sayıları ( $N_A$ ), beklenen heterozigotluk ( $H_B$ ; gen çeşitliliği) ve gözlenen ( $H_G$ ) heterozigotluk değerleri hesaplanmıştır. Populasyon çiftleri arasındaki genetik uzaklık ( $F_{st}$ ) ve populasyonların Hardy-Weinberg dengesinde olup olmadığı belirlenmiştir. Populasyonlar arasındaki farklılığı belirlemek için P (olasılık) değerleri Markov chain randomization (Guo ve Thompson, 1992) ile hesaplanmıştır. Populasyonlar arasındaki gen çeşitliliği ( $h$ ) ve populasyon çiftleri arasındaki Nei'nin genetik çeşitliliği (Nei 1972) hesaplanmıştır. Populasyonlardaki polimorfik lokus yüzdeleri, Hardy-Weinberg dengesi için ki-kare değerleri ve özel (private) alleller belirlenmiştir. Populasyonlar arasındaki varyasyonu belirlemek amacı ile moleküler varyans

analizi (AMOVA) yapılmıştır. AMOVA ile allel sıklıklarına dayalı populasyonlar arasında, bireyler arasında ve bireyler içindeki genetik varyasyon belirlenmiştir. Bütün bu istatistik analizler Genepop v 4.0 (Rousset, 2008) ve Genealex 6.41 (Peakall & Smouse, 2006) kullanılarak yapılmıştır.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Kuru İncir Örneklerinde UV ile Aflatoksin Tayini ve Küf Florasının Belirlenmesi

2010 yılı Ekim ayında 37 köyden (12 ilçe) toplanan kuru incir örnekleri izolasyondan önce aflatoksin (AF) varlığını belirlemek amacı ile 360 nm UV ışığı altında kontrol edilmiştir (Şekil 4.1.). UV ışığı altında sarı-yeşil floresan ışımaya gösteren bölgeler 22 (Eğrek Köyü, İncirliova), 24 (Erbeyli Köyü, İncirliova), 25 (Köşk), 30 (Aşağı Karatepe Köyü, Köşk), 39 (Nazilli), 41, 42 ve 44 (Nazilli) bölgeler olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.1.). Tüm kuru incir örneklerinde toplam %13.13 oranında aflatoksin olduğu saptanmıştır. Kuru incirlerin UV muamelesi sonucunda belirlenen pozitif sonuçların, izolasyon sonunda o bölgeden AF üretme potansiyeli olan *A. flavus* suşlarının izole edilmesiyle ilişkili olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.1. UV ışığı altında incir örnekleri

İzolasyon sonunda 99 küf suşu elde edilmiştir. Saf kolonilerin Samson (2004)'ye morfolojik tanısı yapılması sonucunda 10 farklı cins (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Acremonium*, *Mortierella*, *Rhizopus*,

*Trichoderma* ve *Trichophyton*) ve 16 farklı tür tespit edilmiştir (Çizelge 4.1.). İzole edilen izolatlardan en yaygın bulunanı *Aspergillus* (%73) cinsine ait türleri oluşturmaktadır. Bu cinse ait türler %45 *A. niger*, %16 *A. flavus*, %8 *A. fumigatus*, %2 *A. parasiticus* ve %1 *A. terreus* tur (Şekil 4.2 ve Şekil 4.3). Bunu takiben sırasıyla, (%11) *Penicillium* cinsi, (%3) *Cladosporium*, (%2) *Acremonium*, (%4) *Trichoderma*, (%2) *Alternaria*, (%2) *Mortierella*, (%1) *Trichophyton*, (%1) *Fusarium* ve (%1) *Rhizopus* ve cinsleri takip etmektedir.

**Çizelge 4.1.** Elde edilen küf izolatları ve aflatoksin varlığı

İZOLAT NO	TÜR İSMİ	AF VARLIĞI	İZOLE EDİLDİĞİ YER	İLÇE
1A	<i>Fusarium</i> sp.	-	Dağeymiri Köyü	Merkez
1B	<i>Aspergillus fumigatus</i>	-	Dağeymiri Köyü	Merkez
2B	<i>A.fumigatus</i>	-	Gölcük Köyü	Merkez
2C	<i>Aspergillus niger</i>	-	Gölcük Köyü	Merkez
2D	<i>A. fumigatus</i>	-	Gölcük Köyü	Merkez
3A	<i>Cladosporium</i> sp.	-	Dağeymiri Köyü	Merkez
3H	<i>Cladosporium</i> sp.	-	Dağeymiri Köyü	Merkez
3J	<i>Penicillium</i> sp.	-	Dağeymiri Köyü	Merkez
4A	<i>A.niger</i>	-	Şahnalı Köyü	Merkez
4C	<i>Penicillium</i> sp.	-	Şahnalı Köyü	Merkez
4E	<i>A.fumigatus</i>	-	Şahnalı Köyü	Merkez
5A	<i>Acremonium</i> sp.	-	Kenger Köyü	Merkez
6A	<i>Trichoderma</i> sp.	-	Çamköy	Germencik
6B	<i>A.niger</i>	-	Çamköy	Germencik
7A	<i>A.niger</i>	-	Bayındır Köyü	Nazilli
8A	<i>A.niger</i>	-	Terziler Köyü	Umurlu
8B	<i>Penicillium</i> sp.	-	Terziler Köyü	Umurlu
8C	<i>Alternaria</i> sp.	-	Terziler Köyü	Umurlu
8F	<i>A.fumigatus</i>	-	Terziler Köyü	Umurlu
9A	<i>A.niger</i>	-	Madran Köyü	Yenipazar
9B	<i>A.parasiticus</i>	-	Madran Köyü	Yenipazar
9C	<i>Penicillium</i> sp.	-	Madran Köyü	Yenipazar
9D	<i>A.flavus</i>	-	Madran Köyü	Yenipazar
10D	<i>Penicillium</i> sp.	-	Konuklu Köyü (Paşa yaylası)	Merkez
11A	<i>A.niger</i>	-	Mursallı Köyü (Taban arazi) Çamur çukur Mevki	Germencik



## Çizelge 4.1. devamı

<b>11B</b>	<i>Mortierella sp.</i>	-	Mursallı Köyü (Taban arazi) Çamur çukur Mevki	Germencik
<b>11C</b>	<i>A.niger</i>	-	Mursallı Köyü (Taban arazi) Çamur çukur Mevki	Germencik
<b>12A</b>	<i>A.niger</i>	-	Mursallı Köyü (Taban arazi) Uncuboğazi/Uncuderesi Mevki	Germencik
<b>13A</b>	<i>A.niger</i>	-	Çamköy	Germencik
<b>14A</b>	<i>A.niger</i>	-	Dampınar Köyü	Germencik
<b>14B</b>	<i>A.fumigatus.</i>	-	Dampınar Köyü	Germencik
<b>14C</b>	<i>A.fumigatus</i>	-	Dampınar Köyü	Germencik
<b>15A</b>	<i>A.niger</i>	-	Habipler Köyü	Germencik
<b>15B</b>	<i>A.niger</i>	-	Habipler Köyü 1	Germencik
<b>16A</b>	<i>A.niger</i>	-	Habipler Köyü 2	Germencik
<b>17A</b>	<i>A.niger</i>	-	Başköy	Tire /İzmir
<b>18A</b>	<i>A.niger</i>	-	Başköy Köyü	Tire /İzmir
<b>19A</b>	<i>A.niger</i>	-	Akmescit Köyü	Tire/İzmir
<b>19B</b>	<i>A.niger</i>	-	Akmescit Köyü	Tire/İzmir
<b>20A</b>	<i>A.flavus</i>	-	İsafakılar Köyü	İncirliova
<b>20B</b>	<i>A.niger</i>	-	İsafakılar Köyü	İncirliova
<b>20C</b>	<i>Trichophyton sp.</i>	-	İsafakılar Köyü	İncirliova
<b>21A</b>	<i>Penicillium sp.</i>	-	İsafakılar Köyü	İncirliova
<b>21B</b>	<i>A.niger</i>	-	İsafakılar Köyü	İncirli va
<b>21C</b>	<i>Penicillium chrysogenum</i>	-	İsafakılar Köyü	İncirliova
<b>22A</b>	<i>A.flavus</i>	+	Eğrek Köyü(Çay Mah.)	İncirliova
<b>22B</b>	<i>A.niger</i>	-	Eğrek Köyü(Çay Mah.)	İncirliova
<b>23A</b>	<i>A.niger</i>	-	Arzular Köyü (Taban arazi)	İncirliova
<b>24A</b>	<i>A.flavus</i>	+	Erbeyli Köyü (T ban arazi)	İncirliova
<b>24B</b>	<i>A.niger</i>	-	Erbeyli Köyü (Taban arazi)	İncirliova
<b>24C</b>	<i>A.niger</i>	-	Erbeyli Köyü (Taban arazi)	İncirliova
<b>24D</b>	<i>A.niger</i>	-	Erbeyli Köyü (Taban arazi)	İncirliova
<b>24E</b>	<i>Trichoderma sp.</i>	-	Erbeyli Köyü (Taban arazi)	İncirliova

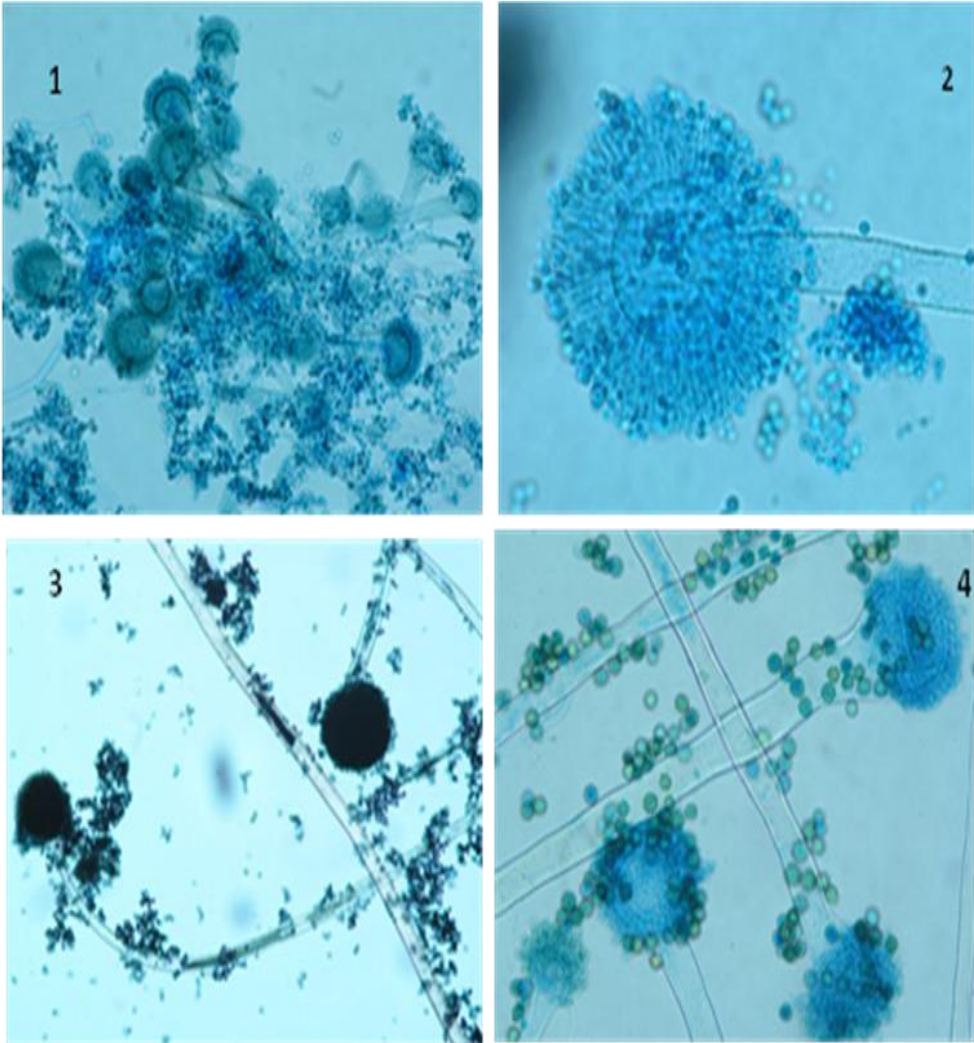
## Çizelge 4.1. devamı

<b>25A</b>	<i>A.flavus</i>	+	Karışık örnek	Köşk
<b>25B</b>	<i>A.niger</i>	-	Karışık örnek	Köşk
<b>25C</b>	<i>Cladosporium sp.</i>	-	Karışık örnek	Köşk
<b>26A</b>	<i>Alternaria sp.</i>	-	Sarıçam Köyü	Köşk
<b>26B</b>	<i>A.niger</i>	-	Sarıçam Köyü	Köşk
<b>26C</b>	<i>A.niger</i>	-	Sarıçam Köyü	Köşk
<b>26D</b>	<i>Penicillium sp.</i>	-	Sarıçam Köyü	Köşk
<b>27A</b>	<i>A.niger</i>	-	Sarıçam Köyü	Köşk
<b>27B</b>	<i>Rhizopus sp.</i>	-	Sarıçam Köyü	Köşk
<b>28A</b>	<i>A.niger</i>	-	Taban arazi	Köşk
<b>29A</b>	<i>A.niger</i>	-	Dağ	Köşk
<b>30A</b>	<i>Trichoderma sp.</i>	-	Aşağı Karatepe Köyü	Köşk
<b>30B</b>	<i>A.flavus</i>	+	Aşağı Karatepe Köyü	Köşk
<b>30C</b>	<i>A.parasiticus</i>	+	Aşağı Karatepe Köyü	Köşk
<b>30D</b>	<i>A.niger</i>	-	Aşağı Karatepe Köyü	Köşk
<b>30F</b>	<i>Trichoderma sp.</i>	-	Aşağı Karatepe Köyü	Köşk
<b>31A</b>	<i>A.niger</i>	-	Azaplı Köyü (Salavatlı Beldesi)	Sultanhisar
<b>32A</b>	<i>A.niger</i>	-	Meşeli Köyü (Erbeyli)	İncirliova
<b>33A</b>	<i>A. flavus</i>	-	Salavatlı Köyü	Sultanhisar
<b>33B</b>	<i>A. niger</i>	-	Salavatlı Köyü	Sultanhisar
<b>33C</b>	<i>Penicillium sp.</i>	-	Salavatlı Köyü	Sultanhisar
<b>33D</b>	<i>A. niger</i>	-	Salavatlı Köyü	Sultanhisar
<b>34A</b>	<i>A. niger</i>	-	Malgaç Mustafa Köyü(Azaplı Köyü arası) (Dut deresi Mevki)	Sultanhisar
<b>34B</b>	<i>Penicillium sp.</i>	-	Malgaç Mustafa Köyü(Azaplı Köyü arası) (Dut deresi Mevki)	Sultanhisar
<b>35A</b>	<i>A.niger</i>	-	Taban arazi	Yenipazar
<b>35B</b>	<i>Aspergillus terreus</i>	-	Taban arazi	Yenipazar
<b>36A</b>	<i>A.fumigatus</i>	-	Kılavuzlar Köyü	Atça /Sultanhisar
<b>36B</b>	<i>A.niger</i>	-	Kılavuzlar Köyü	Atça /Sultanhisar
<b>37A</b>	<i>A.niger</i>	-	Uzunlar köyü	Atça /Sultanhisar
<b>37B</b>	<i>Acremonium sp.</i>	-	Uzunlar köyü	Atça /Sultanhisar
<b>37C</b>	<i>Penicillium citrinum</i>	-	Uzunlar köyü	Atça /Sultanhisar

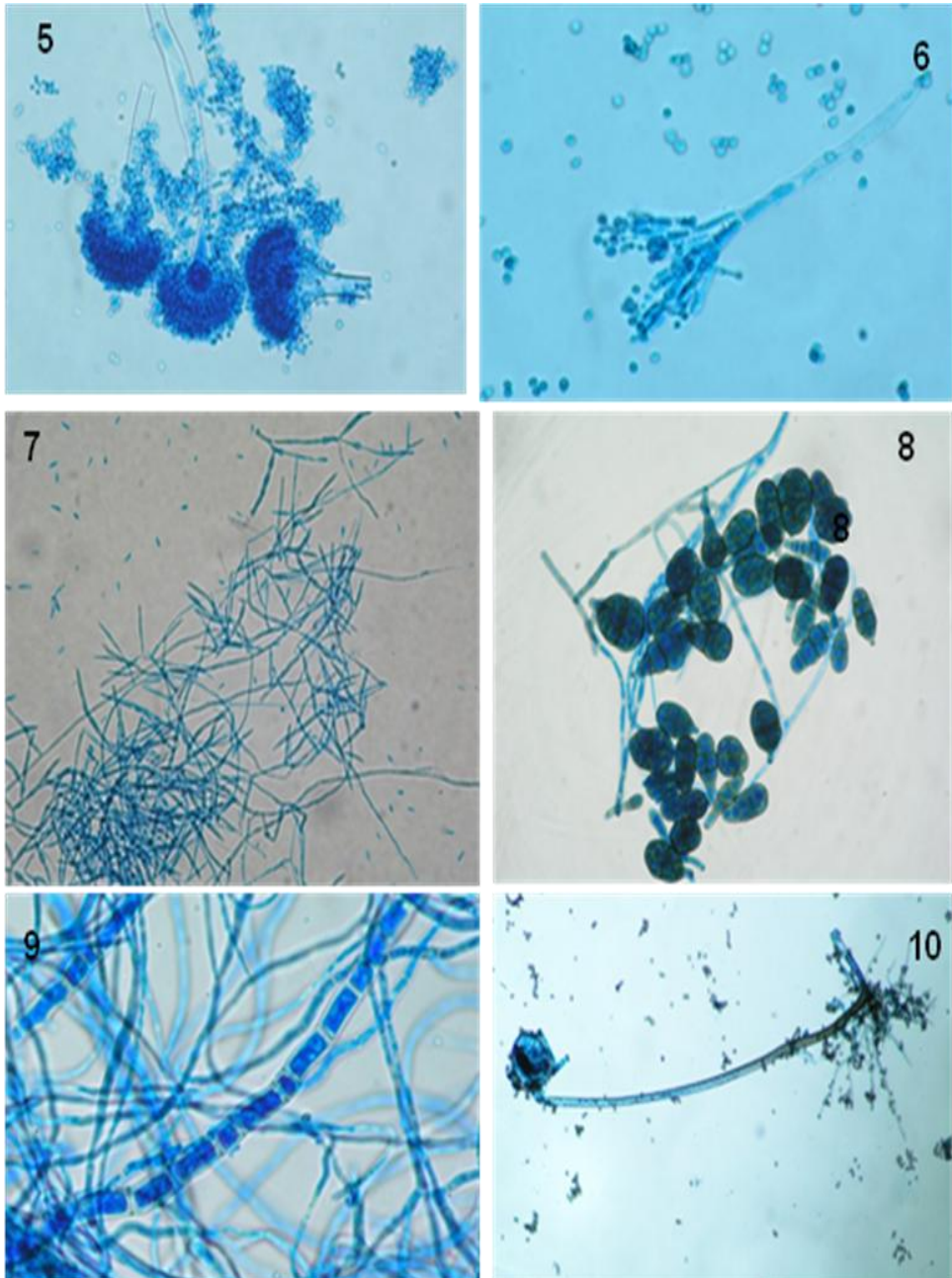
## Çizelge 4.1. devamı

<b>38A</b>	<i>A.niger</i>	-	İncealan Köyü	Atça /Sultanhisar
<b>38B</b>	<i>Mortierella sp.</i>	-	İncealan Köyü	Atça /Sultanhisar
<b>39A</b>	<i>A. flavus</i>	+	Karışık örnek	Nazilli
<b>39B</b>	<i>A.niger</i>	-	Karışık örnek	Nazilli
<b>39C</b>	<i>A. flavus</i>	+	Karışık örnek	Nazilli
<b>39D</b>	<i>A. flavus</i>	+	Karışık örnek	Nazilli
<b>39E</b>	<i>A. flavus</i>	+	Karışık örnek	Nazilli
<b>40A</b>	<i>A.niger</i>	-	Karışık örnek (DAĞ) (Hisarcık K., Ketendere K., Hasköy K., Semaili Köyü)	Nazilli (Kral incir)
<b>41A</b>	<i>A. flavus</i>	-	Karışık örnek (DAĞ) (Yukarı örencik K., Aşağı örencik Köyü, Apaklar K.(910m),Çatak Köyü)	Nazilli (Cansu incir)
<b>42A</b>	<i>A. flavus</i>	+	Karışık örnek (DAĞ)	Tire+Nazilli
<b>42B</b>	<i>A. flavus</i>	+	Karışık örnek (DAĞ)	Tire+Nazilli
<b>43A</b>	<i>A.niger</i>	-	Karışık örnek (DAĞ)	Tire+Nazilli
<b>43B</b>	<i>A.niger</i>	-	Karışık örnek (DAĞ)	Tire+Nazilli
<b>44A</b>	<i>A. flavus</i>	+	Karışık örnek (TABAN ARAZI) (Mastura Köyü- Nazilli, Bayındır Köyü-Nazilli)	Nazilli, Buharkent, Kuyucak
<b>44B</b>	<i>A. flavus</i>	+	Karışık örnek (TABAN ARAZI) (Mastura Köyü- Nazilli, Bayındır Köyü- Nazilli)	Nazilli, Buharkent, Kuyucak

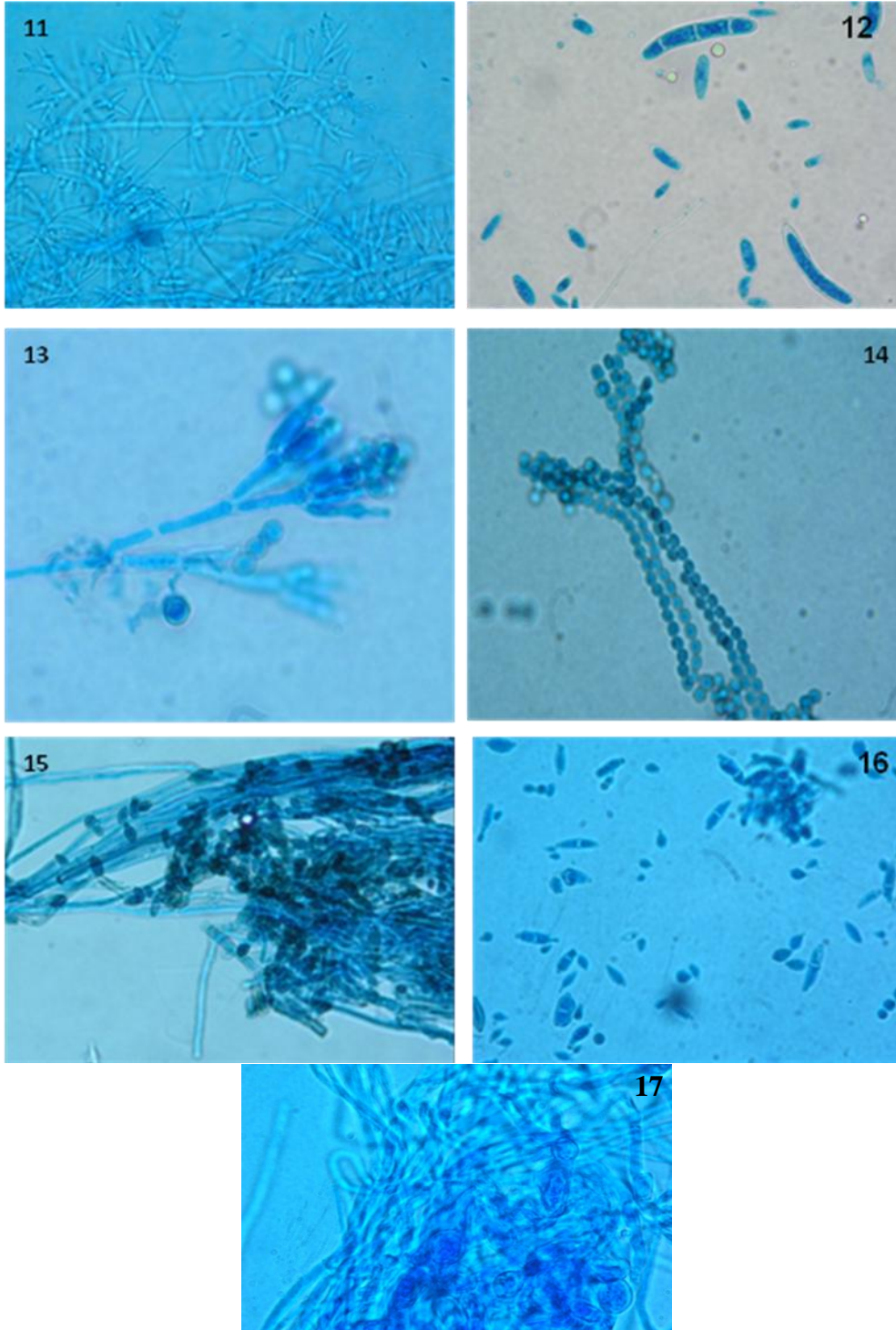
İzole edilen küflerin mikroskop altında 40X'lik ve 100X'lik büyütmede Laktofenol Pamuk mavisi solüsyonu kullanılarak spor ve hif yapıları belirlenmiştir (Şekil 4.2, 1-17).



1- *A. fumigatus* 2- *A. flavus* 3- *A. niger* 4- *A. parasiticus*

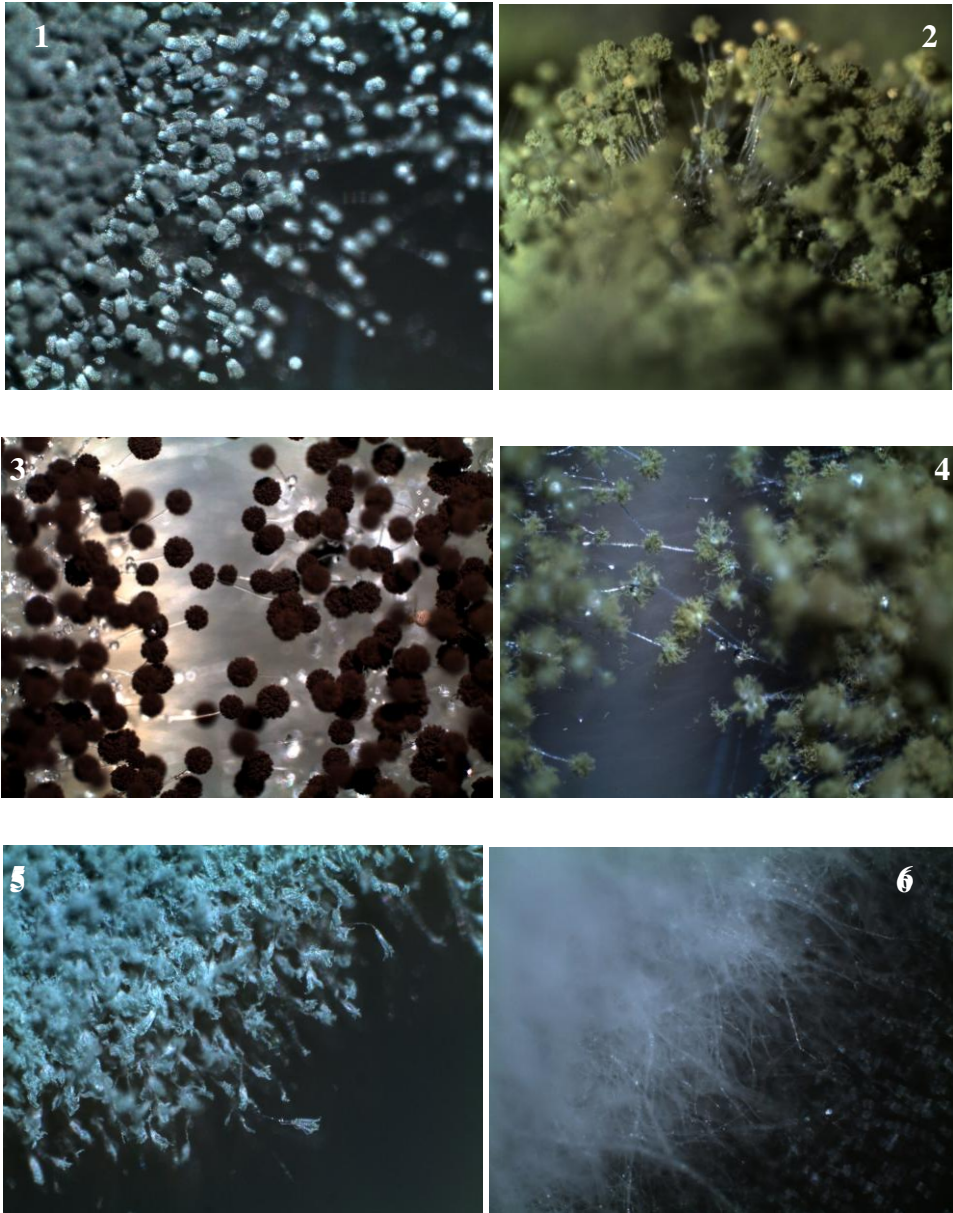


5- *A. terreus* 6- *P. citrinum* 7- *Acremonium* sp. 8- *Alternaria* sp.  
9- *Trichophyton* sp. 10- *Rhizopus* sp.

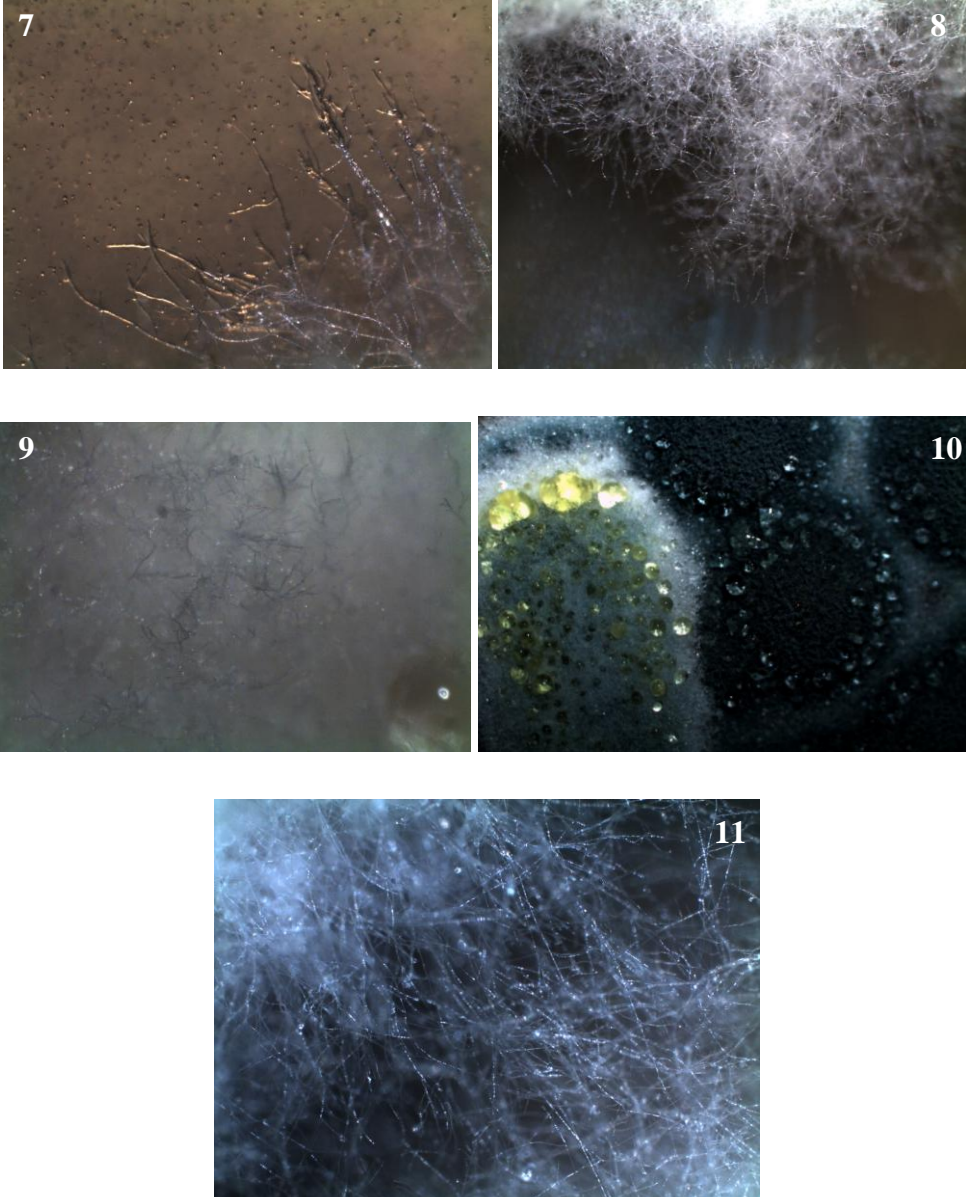


11- *Trichoderma* sp 12- *Trichoderma* sp. spor 13- *P. chrysogenum*  
 14- *P. chrysogenum* spor 15- *Cladosporium* sp. 16- *Cladosporium* sp. spor  
 17- *Mortierella* sp.

İzole edilen küfler binoküler mikroskop altında inceleme yapılarak koloni tekstürü, ve üreme yapıları gözlemlenmiştir (Şekil 4.3., 1-11).



1- *A. fumigatus* 2- *A. flavus* 3- *A. niger* 4- *A. parasiticus* 5- *P. citrinum*  
6- *Acremonium* sp.



**7- *Alternaria* sp. 8- *Trichophyton* sp. 9- *Trichoderma* sp  
10- *P. chrysogenum* 11- *Mortierella* sp.**

**Şekil 4.3.** Kuru incirden izole edilen bazı izolatların binoküler mikroskop altındaki görüntüleri.



## 4.2. Mikrosatellit

Aydın ilinin 37 farklı köyünden elde edilen 99 izolat içerisinde en yaygın 46 olarak bulunan OTA üretim potansiyeli olan *Aspergillus niger* ve aflatoksin üretme potansiyeli olan 16 *Aspergillus flavus* izolatı için sırasıyla 6 ve 8 farklı mikrosatellit lokusu çalışılmıştır . Bu iki popülasyon Dağ (>300m) ve Taban (<300 m) arazi olmak üzere bir grup ve her bir ilçe bir popülasyonu temsil edecek şekilde bir grup olarak iki grup altında gruplandırılarak incelenmiştir.

### 4.2.1. *A. flavus*

İlçelere göre incelenen üç popülasyonda bütün lokuslar polimorfik olup allel sayıları 1 ile 9 arasında değişmiştir (Çizelge 4.3). Dağ (> 300 m) ve taban (<300 m) popülasyonlarında ise yine bütün lokuslar polimorfik olup allel sayıları 2 ile 10 arasında değişmektedir.

Optimizasyon sonucunda *Aspergillus flavus* suşlarına spesifik olduğu bilinen 8 mikrosatellit primerinin bağlanma sıcaklıkları belirlenmiştir (Çizelge 4.2). Gradient PCR ürünleri %1'lik agaroz jele yüklenerek kontrol edilmiştir. Optimizasyondan sonra tüm izolatların DNA'ları çoğaltılmıştır.

**Çizelge 4.2.** *A. flavus* için kullanılan AF primerlerinin optimizasyon sonuçları

Mikrosatellit primeri	Annealing sıcaklık aralığı (°C)
<b>AF10</b>	49.7 - 55
<b>AF63</b>	49.7 - 55
<b>AF64</b>	45 - 55
<b>AF53</b>	45 - 55
<b>AF48</b>	49.7 - 55
<b>AF34</b>	53.1 - 55
<b>AF43</b>	47 - 56
<b>AF31</b>	47.5 - 55

Popülasyonlara özgü lokusların allelleri ve sıklıkları Çizelge 4.3'de verilmiştir.

**Çizelge 4.3** *A. flavus* için çalışılan mikrosatellit allellerinin dağılımı (PopI: İncirlioiva, PopKS: Köşk-Sultanhisar ve PopN: Nazilli; PopT: Taban ve PopD: Dağ)

Lokaliteler	Örnek sayısı	AF10	AF31	AF34	AF43	AF48	AF53	AF63	AF64
PopI	3	4	2	3	2	3	3	1	6
PopKS	4	6	4	3	3	4	4	2	5
PopN	8	6	4	1	6	5	5	2	9
PopT	8	8	6	3	6	6	7	3	10
PopD	7	8	3	3	3	4	4	2	8
<b>Toplam</b>	15	15	7	5	8	10	9	3	17

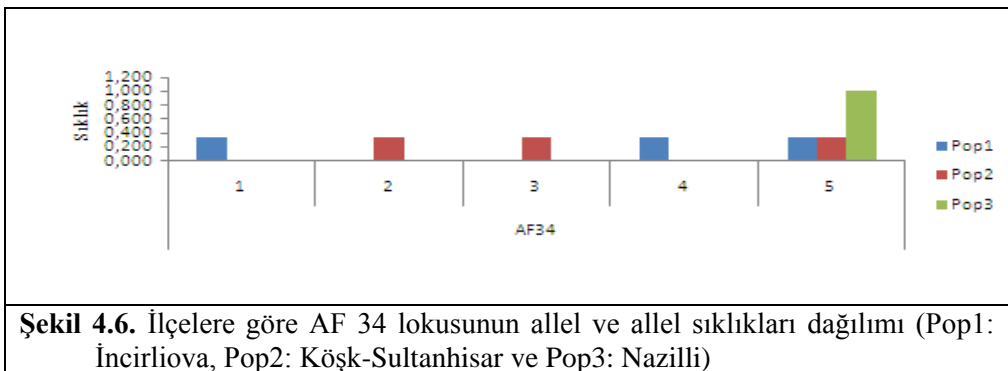
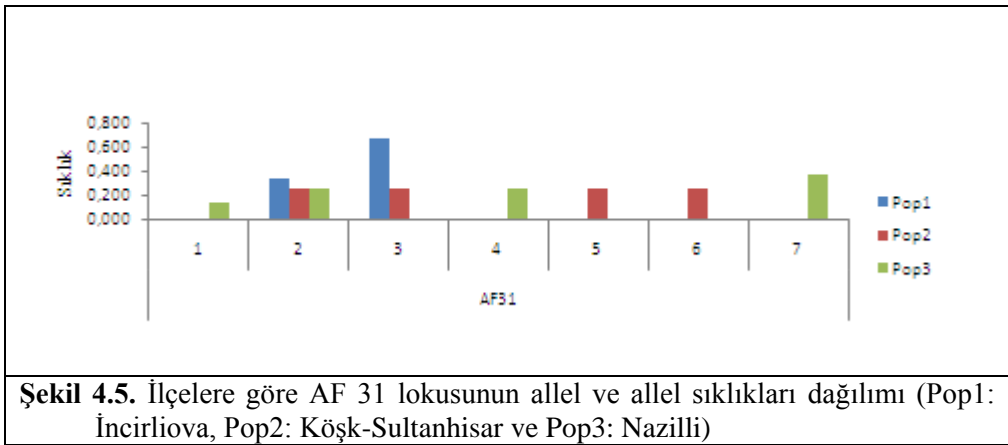
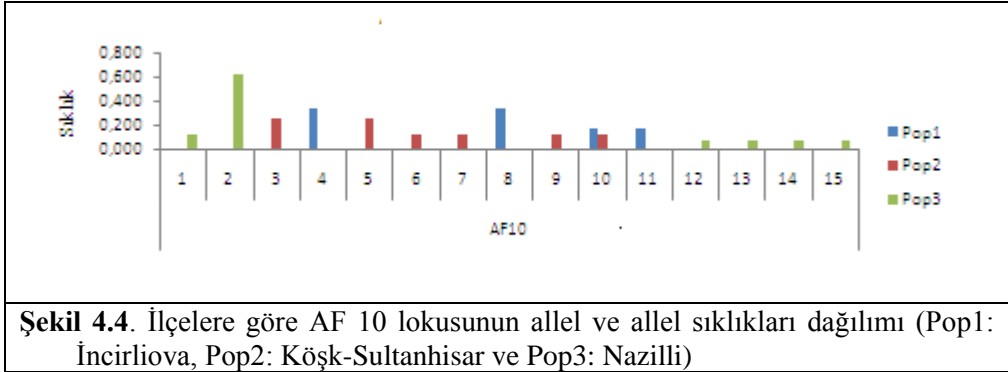
Çizelge 4.4. Populasyonlara özgü lokusların allelleri ve frekansları

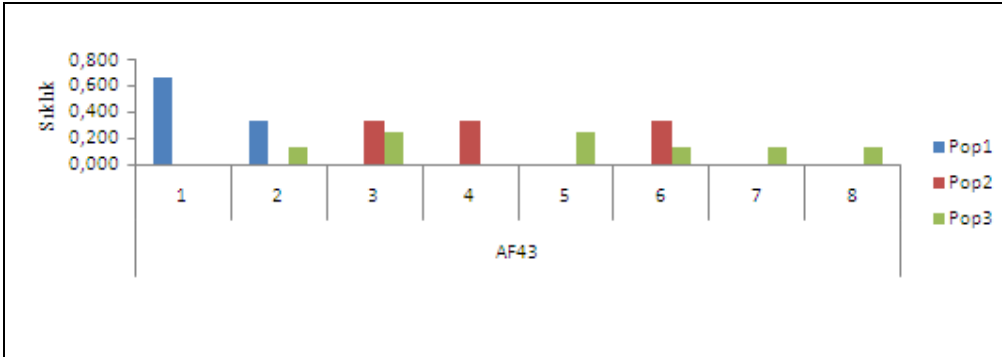
Lokus	AF10		AF31		AF34		AF43		AF48		AF53		AF63		AF64	
	Alel	Sıklık	Alel	Sıklık	Alel	Sıklık	Alel	Sıklık	Alel	Sıklık	Alel	Sıklık	Alel	Sıklık	Alel	Sıklık
<b>Popİ</b>	4	0,333			1	0,333	1	0,667	2	0,333	3	0,333			13	0,167
	8	0,333			4	0,333					7	0,333			14	0,167
	11	0,167			1	0,667									15	0,167
<b>PopKS</b>	3	0,250	5	0,250	2	0,333	4	0,333	1	0,333	1	0,250	3	0,333	2	0,333
	5	0,250	6	0,250	3	0,333			3	0,333	2	0,250			3	0,167
	6	0,125							6	0,167					4	0,167
	7	0,125													9	0,167
	9	0,125													10	0,167
<b>PopN</b>	1	0,125	1	0,125			5	0,250	7	0,250	5	0,250	1	0,375	1	0,125
	2	0,625	4	0,250			7	0,125	8	0,125	8	0,125			5	0,063
	12	0,063	7	0,375			8	0,125	9	0,250					8	0,125
	13	0,063							10	0,250					11	0,063
	14	0,063													16	0,188
	15	0,063													17	0,188
<b>PopT</b>	1	0,125	1	0,125	2	0,125	4	0,125	1	0,125	1	0,125	3	0,143	1	0,125
	5	0,125	5	0,125	3	0,125	5	0,250	5	0,188	2	0,125			2	0,125
	6	0,063	6	0,125			6	0,250	6	0,063	5	0,250			5	0,063
	7	0,063	7	0,375			7	0,125	7	0,250	7	0,125			9	0,063
	8	0,125					8	0,125	8	0,125	8	0,125			10	0,063
	12	0,063							9	0,250					14	0,063
	13	0,063													15	0,063
<b>PopD</b>	3	0,143	4	0,286	1	0,167	2	0,333	2	0,167	3	0,143			16	0,188
	4	0,143			4	0,167	3	0,500	3	0,167	4	0,286			17	0,188
	9	0,071							4	0,333					3	0,083
	10	0,143							10	0,333					4	0,083
	11	0,071													7	0,250

Çizelge 4.4. devamı

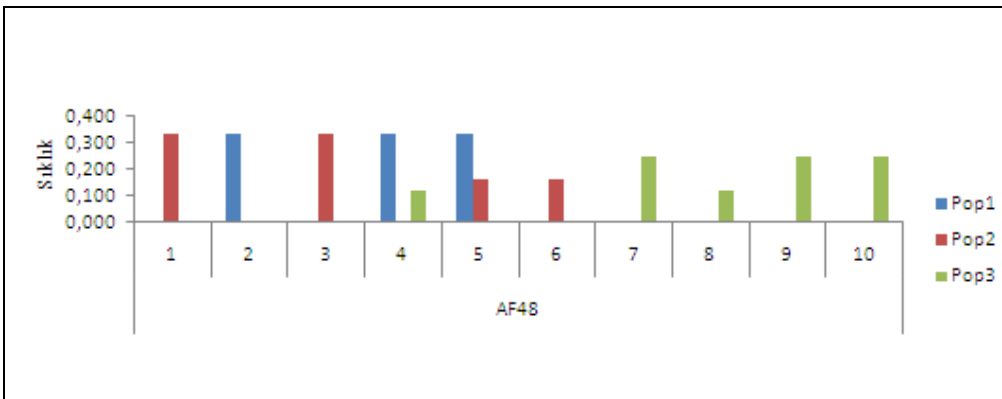
Lokus	AF10		AF31		AF34		AF43		AF48		AF53		AF63		AF64	
PopD	Alel	Sıklık	Alel	Sıklık	Alel	Sıklık	Alel	Sıklık	Alel	Sıklık	Alel	Sıklık	Alel	Sıklık	Alel	Sıklık
	14	0,071													8	0,167
	15	0,071													11	0,083
															12	0,167
															13	0,083

İlçelere göre mikrosatellit lokuslarının allel sıklıkları belirlenerek grafik ile gösterilmiştir (Şekil 4.4, 4.5., 4.6., 4.7., 4.8., 4.9., 4.10., 4.11.).

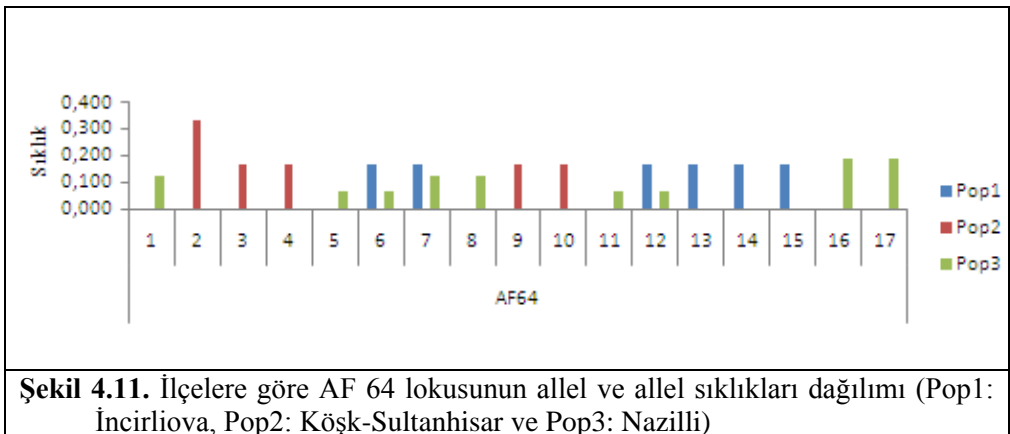
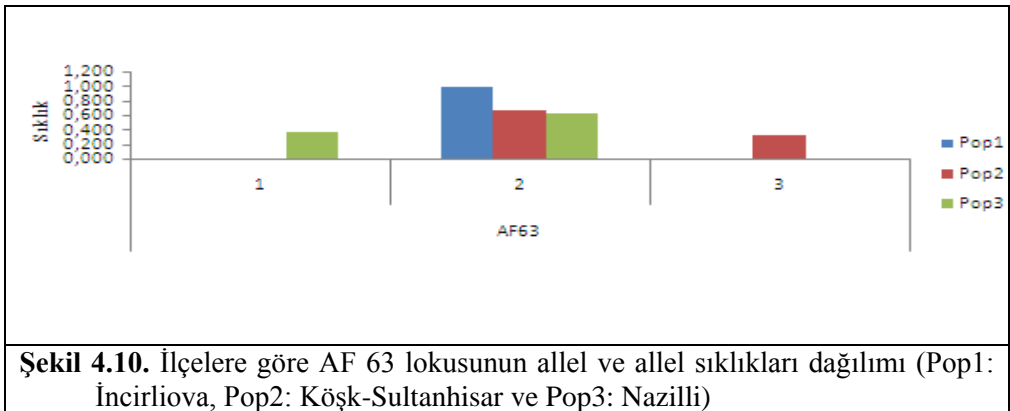
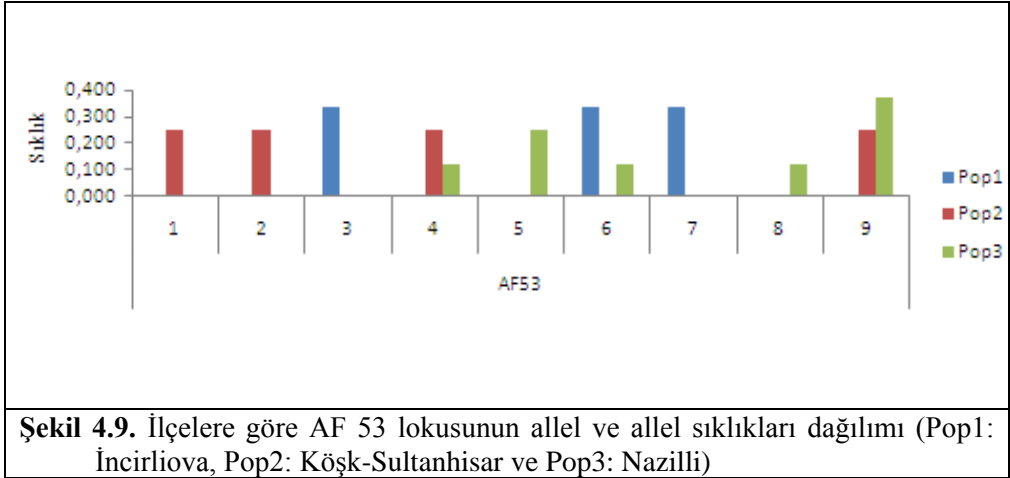




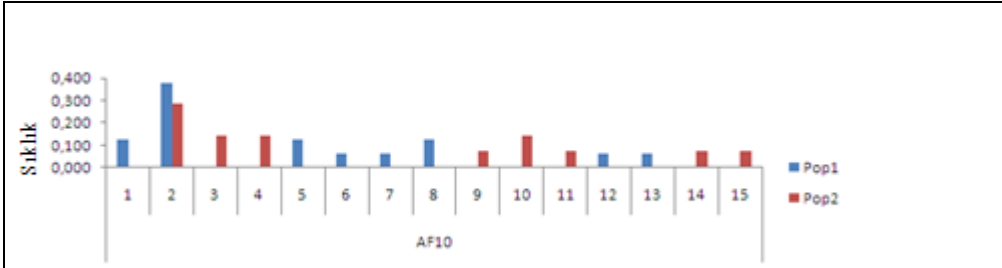
**Şekil 4.7.** İlçelere göre AF 43 lokusunun allel ve allel sıklıkları dağılımı (Pop1: İncirliova, Pop2: Köşk-Sultanhisar ve Pop3: Nazilli)



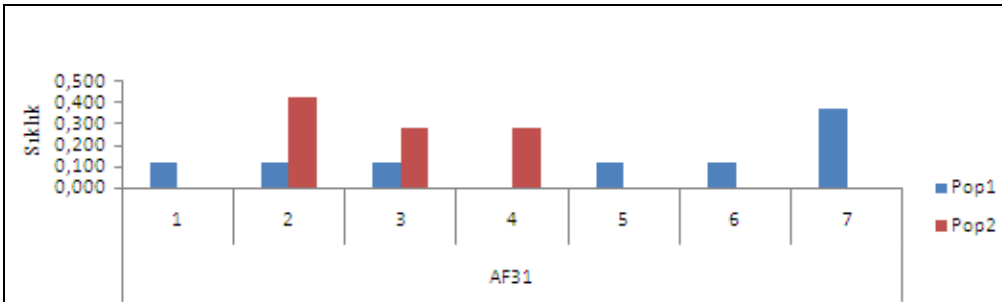
**Şekil 4.8.** İlçelere göre AF 48 lokusunun allel ve allel sıklıkları dağılımı (Pop1: İncirliova, Pop2: Köşk-Sultanhisar ve Pop3: Nazilli)



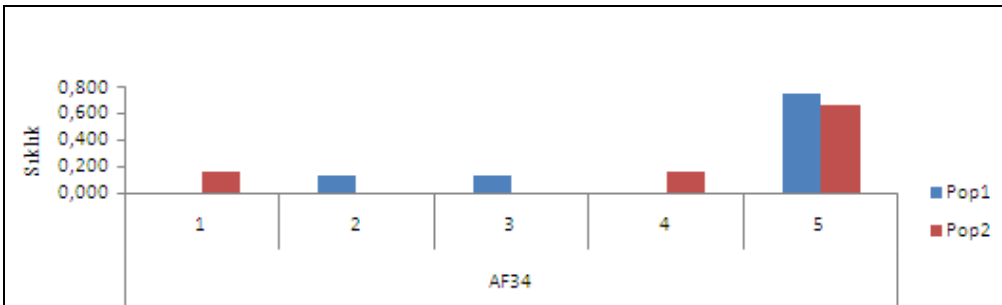
Yükseklığe göre mikrosatellit lokuslarının allel sıklıkları belirlenerek grafik ile gösterilmiştir (Şekil 4.12 4.13., 4.14., 4.16, 4.17., 4.18., 4.19.).



**Şekil 4.12.** Yüksekliğe göre AF 10 lokusunun allel ve allel sıklıkları dağılımı (Pop1: Taban, Pop2: Dağ)

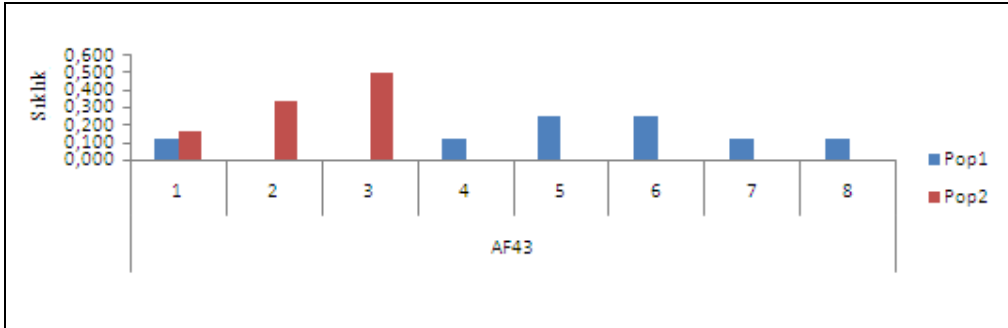


**Şekil 4.13.** Yüksekliğe göre AF 31 lokusunun allel ve allel sıklıkları dağılımı (Pop1: Taban, Pop2: Dağ)

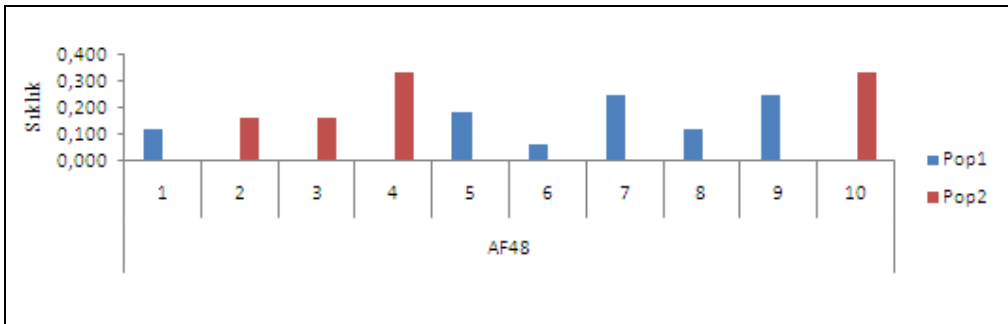


**Şekil 4.14.** Yüksekliğe göre AF 34 lokusunun allel ve allel sıklıkları dağılımı (Pop1: Taban, Pop2: Dağ)

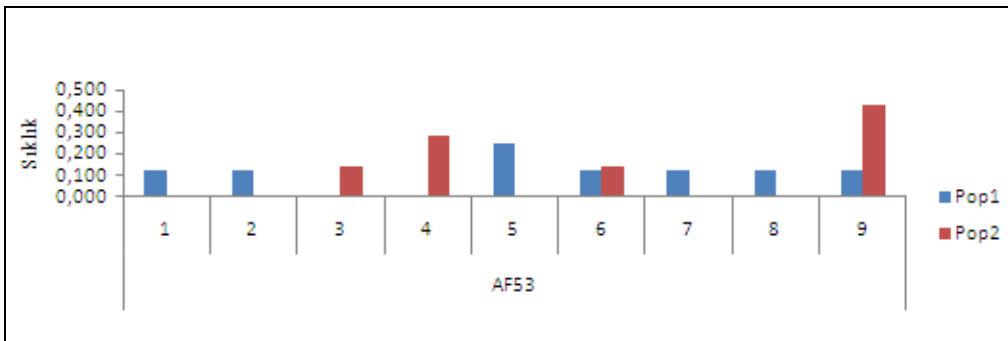




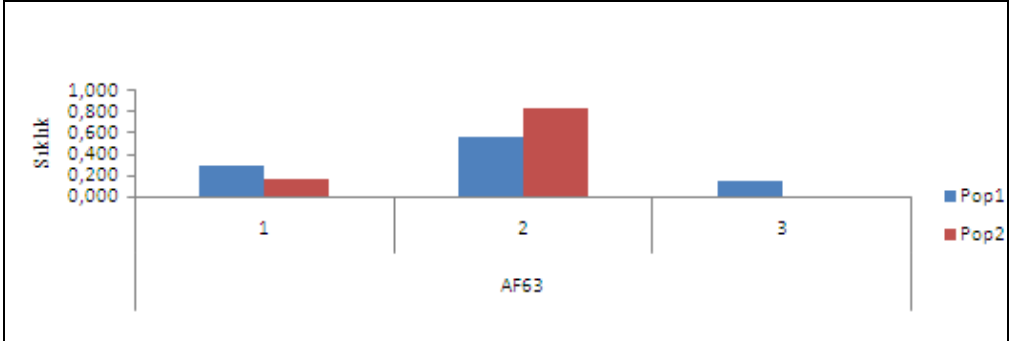
**Şekil 4.15.** Yüksekliğe göre AF 43 lokusunun allel ve allel sıklıkları dağılımı (Pop1: Taban, Pop2: Dağ)



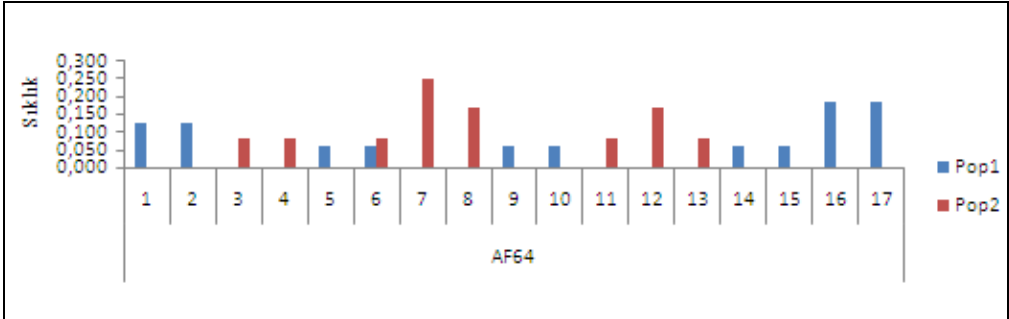
**Şekil 4.16.** Yüksekliğe göre AF 48 lokusunun allel ve allel sıklıkları dağılımı (Pop1: Taban, Pop2: Dağ)



**Şekil 4.17.** Yüksekliğe göre AF 53 lokusunun allel ve allel sıklıkları dağılımı (Pop1: Taban, Pop2: Dağ)



**Şekil 4.18.** Yüksekliğe göre AF 63 lokusunun allel ve allel sıklıkları dağılımı (Pop1: Taban, Pop2: Dağ)



**Şekil 4.19.** Yüksekliğe göre AF 64 lokusunun allel ve allel sıklıkları dağılımı (Pop1: Taban, Pop2: Dağ)

Allel sıklıklarına dayalı Ki-kare testi kullanılarak tüm populasyonların her bir lokus için Hardy-Weinberg dengesinde olup olmadıkları test edilmiştir (Çizelge 4.5.). İlçelere göre tüm lokusların Hardy-Weinberg dengesinden sapma gösterdiği gözlenmiştir. Yüksekliğe göre incelenen populasyonlarda ise hem PopT hem de PopD’de tüm lokusların Hardy-Weinberg dengesinden sapma gösterdiği gözlenmiştir.

**Çizelge 4.5.** Populasyonların Hardy-Weinberg dengesine dayalı alell sıklığı anlamlığı (P: Olasılık)

<b>Pop</b>	<b>Lokus</b>	<b>df</b>	<b>Ki-kare</b>	<b>p</b>
<b>Popİ</b>	AF10	6	9,000	0,174
	AF31	1	3,000	0,083
	AF34	3	6,000	0,112
	AF43	1	3,000	0,083
	AF48	3	6,000	0,112
	AF53	3	6,000	0,112
	AF63	Monomorfik	-	-
	AF64	15	15,000	0,451
<b>PopKS</b>	AF10	15	20,000	0,172
	AF31	6	12,000	0,062
	AF34	3	6,000	0,112
	AF43	3	6,000	0,112
	AF48	6	9,000	0,174
	AF53	6	12,000	0,062
	AF63	1	3,000	0,083
	AF64	10	12,000	0,285
<b>PopN</b>	AF10	15	40,000	0,000
	AF31	6	24,000	0,001
	AF34	Monomorfik	-	-
	AF43	15	40,000	0,000
	AF48	10	26,000	0,004
	AF53	10	32,000	0,000
	AF63	1	8,000	0,005
	AF64	36	64,000	0,003
<b>PopT</b>	AF10	28	56,000	0,001
	AF31	15	40,000	0,000
	AF34	3	16,000	0,001
	AF43	15	40,000	0,000
	AF48	15	26,889	0,030
	AF53	21	48,000	0,001
	AF63	3	14,000	0,003
	AF64	45	72,000	0,006
<b>PopD</b>	AF10	28	42,000	0,043
	AF31	3	14,000	0,003
	AF34	3	12,000	0,007
	AF43	3	12,000	0,007
	AF48	6	18,000	0,006
	AF53	6	21,000	0,002
	AF63	1	6,000	0,014
	AF64	28	30,000	0,363

Hem ilçelere hem de yüksekliğe göre incelenen bütün popülasyonlara ait allelik zenginlik (AR), beklenen ve gözlenen heterozigotluk değerleri Fis ve Fst, haplotip çeşitliliği değerleri Çizelge 4.3' de verilmiştir.

**Çizelge 4.6:** İncelenen bütün popülasyonlardaki allelik zenginlik (AR), beklenen ve gözlenen heterozigotluk değerleri Fis ve Fst, haplotip çeşitliliği değerleri (N; Gen sayısı, NA; Allel sayısı, allelik zenginlik (AR), beklenen ( $H_B$ ) ve gözlenen heterozigot ( $H_G$ ), Fis, Fst ve haplotip çeşitliliği (h) değerleri, [PopI; Incirliova, PopKS; Köşk-Sultanhisar, PopN; Nazilli, PopT; Taban ve PopD; Dağ].

Lokus	N	NA	AR	$H_G$	$H_B$	F <sub>IS</sub>	Fst	h
<b>AF10</b>								
PopI	6	4	3.2	0.33	0.33	0.67	0.54	0.67
PopKS	8	6	3.5	0.50	0.60	0.50	0.39	0.75
PopN	16	6	2.4	0.25	0.25	0.61	0.57	0.56
<b>Toplam</b>	30	15	3.4	0.36	0.80	0.58	0.17	0.67
PopT	16	8	6.8	0.25	0.80	0.72	0.69	0.78
PopD	14	8	7.4	0.43	0.84	0.54	0.49	0.82
<b>Toplam</b>	30	15	8.0	0.33	0.81	0.64		0.80
<b>AF31</b>								
PopI	6	2	1.93	0,00	0,44	1	1,00	0,44
PopKS	8	4	2,92	0,00	0,75	1	1,00	0,75
PopN	16	4	2,80	0,00	0,72	1	1,00	0,72
<b>Toplam</b>	30	7	3,10	0,84	0,63	1		0,64
PopT	16	6	5,75	0,00	0,78	1	1,00	0,78
PopD	14	3	3,00	0,00	0,65	1	1,00	0,65
<b>Toplam</b>	30	7	5,80	0,00	0,71	1		0,72
<b>AF34</b>								
PopI	6	3	2,80	0,00	0,67	1	1,00	0,67
PopKS	6	3	2,80	0,00	0,67	1	1,00	0,67
PopN	16	1	1,00	0,00	0,00	-	-	0,00
<b>Toplam</b>	28	5	2,07	0,00	0,44	1		0,44
PopT	16	3	2,90	0,00	0,41	1	1,00	0,41
PopD	12	3	3,00	0,00	0,50	1	1,00	0,50
<b>Toplam</b>	28	5	3,73	0,00	0,45	1		0,45
<b>AF43</b>								
PopI	6	2	1,93	0,00	0,44	1	1,00	0,44
PopKS	6	3	2,80	0,00	0,67	1	1,00	0,67
PopN	16	6	3,26	0,00	0,81	1	1,00	0,81
<b>Toplam</b>	28	8	3,38	0,00	0,64	1		0,64
PopT	16	6	5,80	0,00	0,81	1	1,00	0,81
PopD	12	3	3,00	0,00	0,61	1	1,00	0,61
<b>Toplam</b>	28	8	6,67	0,85	0,71	1		0,71
<b>AF48</b>								
PopI	6	3	2,80	0,00	0,67	1	1,00	0,67

Çizelge 4.5 devamı

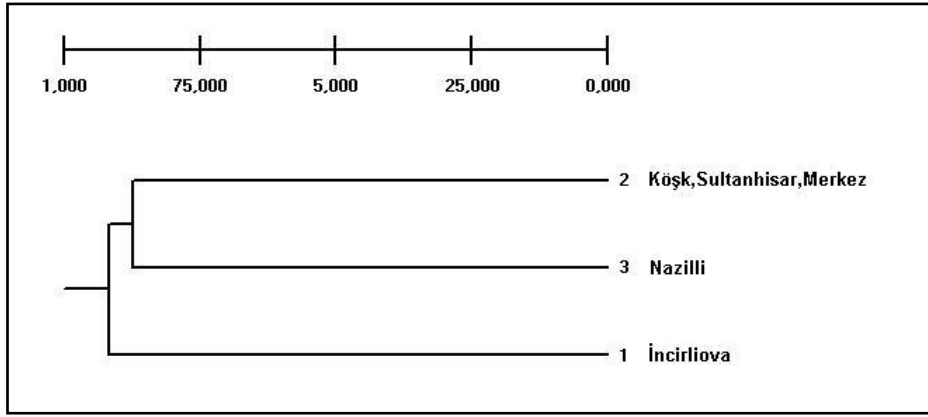
<b>PopKS</b>	6	4	3.20	0,33	0,72	0,67	0,54	0,67
<b>PopN</b>	16	5	3.08	0,25	0,78	0,71	0,68	0,78
<b>Toplam</b>	28	10	3.53	0,19	0,72	0,77		0,71
<b>PopT</b>	16	6	5.64	0,37	0,80	0,58	0,53	0,78
<b>PopD</b>	12	4	4.00	0,00	0,72	1	1,00	0,72
<b>Toplam</b>	28	10	7.63	0,18	0,76	0,76		0,75
<b>AF53</b>								
<b>Popİ</b>	6	3	2.80	0,00	0,67	1	1,00	0,67
<b>PopKS</b>	8	4	2.93	0,00	0,75	1	1,00	0,75
<b>PopN</b>	16	5	2.96	0,00	0,75	1	1,00	0,75
<b>Toplam</b>	30	9	3.34	0,00	0,72	1		0,70
<b>PopT</b>	16	7	6.70	0,00	0,84	1	1,00	0,84
<b>PopD</b>	14	4	3.98	0,00	0,69	1	1,00	0,69
<b>Toplam</b>	30	9	6.90	0,00	0,77	1		0,77
<b>AF63</b>								
<b>Popİ</b>	4	1	1.00	0,00	0,00	-	-	0,00
<b>PopKS</b>	6	2	1.79	0,00	0,44	1	1,00	0,44
<b>PopN</b>	16	2	1.88	0,00	0,47	1	1,00	0,47
<b>Toplam</b>	26	3	1.91	0,00	0,30	1		0,30
<b>PopT</b>	14	3	2.99	0,00	0,57	1	1,00	0,57
<b>PopD</b>	12	2	2.00	0,00	0,28	1	1,00	0,28
<b>Toplam</b>	26	3	2.71	0,00	0,42	1		0,43
<b>AF64</b>								
<b>Popİ</b>	6	6	4.00	1,00	0,83	0,00	-0,20	0,67
<b>PopKS</b>	6	5	3.60	0,67	0,78	0,33	0,14	0,67
<b>PopN</b>	16	9	3.56	0,87	0,87	0,06	-0,009	0,75
<b>Toplam</b>	28	17	3.78	0,84	0,83	0,10		0,69
<b>PopT</b>	16	10	8.39	0,75	0,87	0,20	0,14	0,78
<b>PopD</b>	12	8	8.00	1,00	0,85	-0,09	-0,18	0,78
<b>Toplam</b>	28	17	9.76	0,87	0,86	0,84		0,78
<b>Genel Toplam</b>								
<b>Popİ</b>	24	24	4.00	0,17	0,56	0,80	-0,01	0,52
<b>PopKS</b>	32	31	3.60	0,18	0,70	0,81	0,13	0,67
<b>PopN</b>	39	38	3.56	0,17	0,62	0,75	0,08	0,61
<b>Toplam</b>		74	-	0,18	0,63	-	0,087	0,60
<b>PopT</b>	53	49	8.39	0,17	0,74	0,79	0,080	0,72
<b>PopD</b>	25	35	8.00	0,18	0,64	0,76	0,079	0,63
<b>Toplam</b>	47	74	-	0,17	0,69	-	0,055	0,68
<b>Lokus</b>	<b>N</b>	<b>NA</b>	<b>AR</b>	<b>H<sub>G</sub></b>	<b>H<sub>B</sub></b>	<b>F<sub>IS</sub></b>	<b>F<sub>st</sub></b>	<b>h</b>

İncelenen populasyonların istatistik olarak anlamlı bir genetik yapılanma gösterdiği saptanmıştır (İlçelere göre:  $F_{st} = 0.087$ ,  $P < 0.0000$ , Yüksekliğe göre:  $F_{st} = 0.055$ ,  $P < 0.0000$ ). Hem ilçelere hem de yüksekliğe göre karşılaştırılan populasyonların hepsinde istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar belirlenmiştir.

**Çizelge 4.7.** İncelenen populasyonların genetik yapılarının Fst değerlerine göre ikişerli olarak karşılaştırılması (c:  $p < 0.001$ )

	Popİ	PopKS	PopN		PopT	PopD
Popİ				PopT		
PopKS	0,162 <sup>c</sup>			PopD	0.091 <sup>c</sup>	
PopN	0,195 <sup>c</sup>	0,145 <sup>c</sup>				

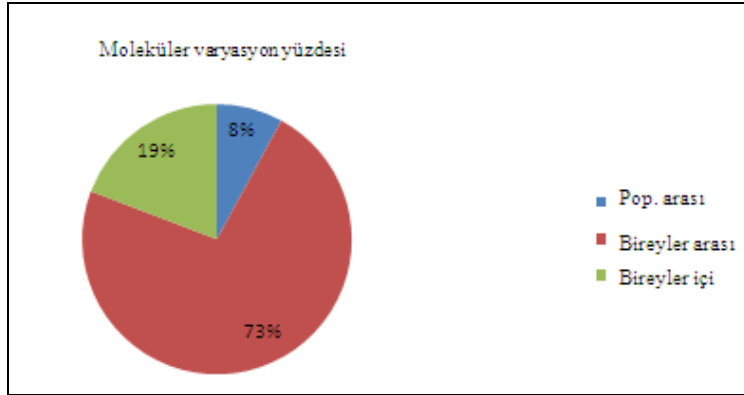
İlçelere göre ayrılan populasyonların TFPGA Analizi ile UPGMA uzaklık ağacı yapılmıştır (Şekil 4.20).



**Şekil 4.20.** *A. flavus* populasyonlarının ilçelere göre UPGMA uzaklık ağacı

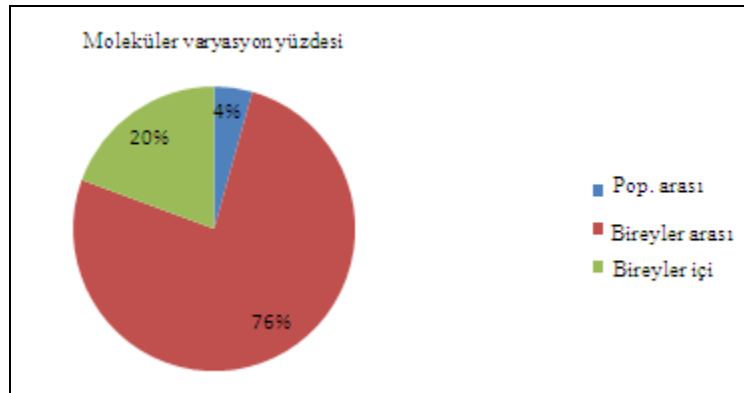
Ağaca göre İncirliova ile Köşk-Sultanhisar-Merkez ve Nazilli olmak üzere üç grubun varlığı saptanmıştır.

İlçelere ve yüksekliğe bağlı populasyonlar arası, bireyler içi ve bireyler arası varyasyonu belirlemek için Fst değerlerine bağlı AMOVA varyans analizi yapılmıştır (Şekil 4.21, 4.22).



**Şekil 4.21.** İlçelere göre *A. flavus* populasyonlarının Fst değerlerine göre yapılan AMOVA varyans analizi.

Bu analiz sonucunda ilçelere göre yapılan gruptamadaki populasyonlar arasında %8, bireyler arası %73 ve bireyler içinde % 19 varyasyon olduğu tespit edilmiştir..



**Şekil 4.22.** Yüksekliğe göre *A. flavus* populasyonlarının Fst değerlerine göre yapılan AMOVA varyans analizi.

Bu analiz sonucunda ilçelere göre yapılan gruptamadaki populasyonlar arasında %4, bireyler arası %76 ve bireyler içinde % 20 varyasyon olduğu tespit edilmiştir.

#### 4.2. *A. niger*

PCR optimizasyonu sonucunda *Aspergillus nigersu*şlarına spesifik olduğu bilinen 6 mikrosatellit primerinin bağlanma sıcaklıkları belirlenmiştir (Çizelge 4.8). Gradient PCR ürünleri %1'lik agaroz jele yüklenerek kontrol edilmiştir. Optimizasyondan sonra tüm izolatların DNA'ları çoğaltılmıştır.

**Çizelge 4.8.** *A. niger* için kullanılan ACNM primerlerinin optimizasyon sonuçları

Mikrosatellit primeri	Optimum Annealing sıcaklığı (°C)
ACNM1	55
ACNM2	55
ACNM3	58
ACNM5	58
ACNM6	58
ACNM7	55

İlçelere göre incelenen yedi populasyonda bütün lokuslar polimorfik olup allel sayıları 1 ile 18 arasında değişmiştir (Çizelge 4.5). Dağ (> 300 m) ve taban (<300 m) populasyonlarında ise yine bütün lokuslar polimorfik olup allel sayıları 5 ile 15 arasında değişmektedir. Populasyonlara özgü lokusların allelleri ve sıklıkları Çizelge 4.9'de verilmiştir

**Çizelge 4.9.** *A. niger* için çalışılan mikrosatellit allellerinin dağılımı (PopM: Merkez, PopG: Germencik, PopUK: Umurlu-Köşk, PopSAY:Sultanhisar-Atça-Yenipazar, PopN: Nazilli, PopT<sub>1</sub>: Tire, PopD: Dağ ve PopT<sub>2</sub>)

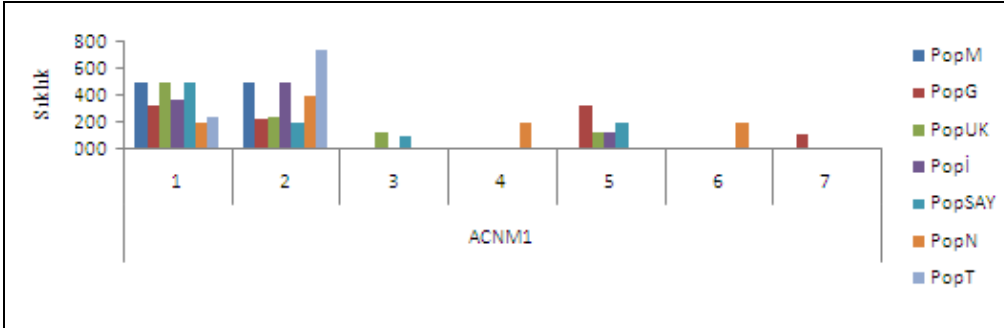
Lokaliteler	Örnek sayısı	ACNM1	ACNM2	ACNM3	ACNM5	ACNM6	ACNM7
PopM	2	2	2	1	1	1	2
PopG	9	4	6	5	2	4	3
PopUK	8	4	6	7	3	5	4
PopI	8	3	6	7	5	5	4
PopSAY	10	4	6	6	3	6	5
PopN	5	4	4	5	3	4	3
PopT <sub>1</sub>	4	2	3	4	3	3	2
PopD	29	5	10	15	6	8	6
PopT <sub>2</sub>	17	4	5	9	5	10	5
<b>Toplam</b>	46	7	10	18	9	13	7



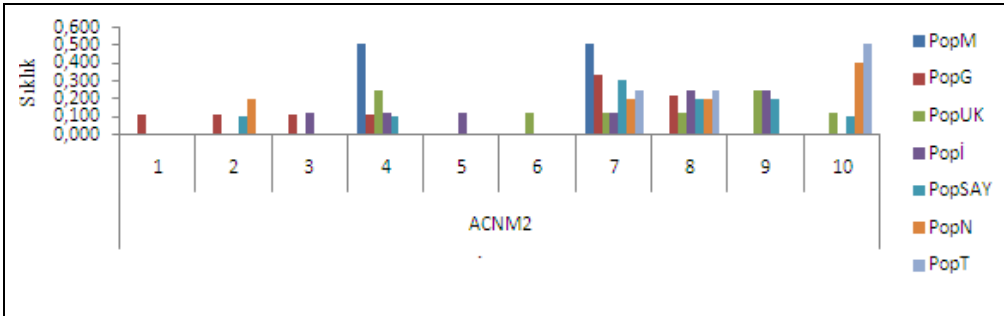
Çizelge 4.10. Populasyonlara özgü lokusların allelleri ve frekansları

Lokus	ACNM1		ACNM2		ACNM3		ACNM5		ACNM6		ACNM7	
Pop	Allel	Frekans	Allel	Frekans	Allel	Frekans	Allel	Frekans	Allel	Frekans	Allel	Frekans
PopM											6	0,50
PopG	7	0,11	1	0,11	6	0,11			2	0,22		
PopUK			6	0,125	15 4 18	0,11 0,125 0,125	9 1	0,125 0,125	9	0,125		
Popİ					1 12	0,125 0,125	4 8	0,125 0,125	11	0,125		
PopSAY					3 10 14	0,100 0,100 0,100			7 10	0,100 0,100	5	0,100
PopN	4 6	0,200 0,200			7	0,200			1	0,200	4	0,200
PopT					2	0,250	6	0,250	13	0,250		
PopD	5 6 7	0,241 0,034 0,034	1 2 3 5 6	0,034 0,103 0,069 0,034 0,034	1 2 3 4 7 11 12 14 15	0,034 0,034 0,034 0,034 0,034 0,172 0,034 0,034 0,034	4 5 6 9	0,034 0,069 0,034 0,034	2 10 13	0,069 0,034 0,034	4 5	0,034 0,034
PopT	3 4	0,118 0,059			6 10 18	0,059 0,059 0,059	1 3 8	0,059 0,118 0,059	1 7 9 11 12	0,059 0,059 0,059 0,059 0,235	6	0,059

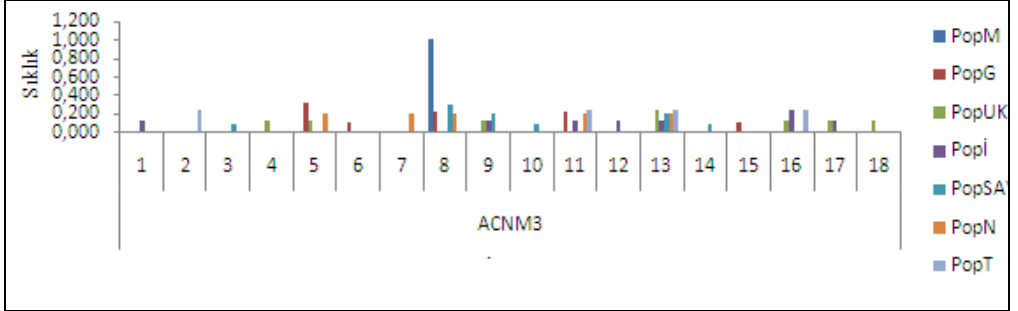
İlçelere göre mikrosatellit lokuslarının allel sıklıkları belirlenerek grafik ile gösterilmiştir (Şekil 4.23, 4.24, 4.25, 4.26, 4.27, 4.28).



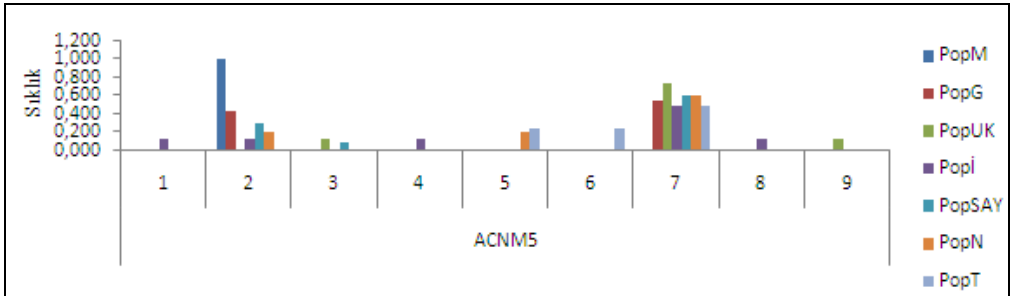
**Şekil 4.23.** İlçelere göre ACNM1 lokusunun allel ve allel sıklıkları dağılımı (PopM: Merkez, PopG: Germencik, PopUK: Umurlu-Köşk, PopSAY: Sultanhisar-Atça-Yenipazar, PopN: Nazilli, PopT<sub>1</sub>: Tire



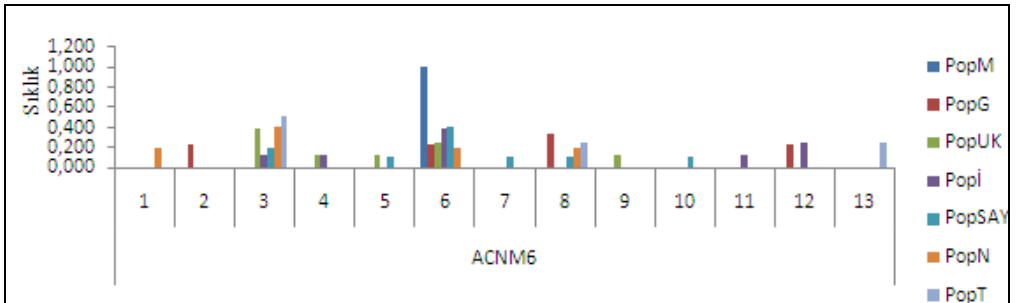
**Şekil 4.24.** İlçelere göre ACNM2 lokusunun allel ve allel sıklıkları dağılımı (PopM: Merkez, PopG: Germencik, PopUK: Umurlu-Köşk, PopSAY: Sultanhisar-Atça-Yenipazar, PopN: Nazilli, PopT<sub>1</sub>: Tire



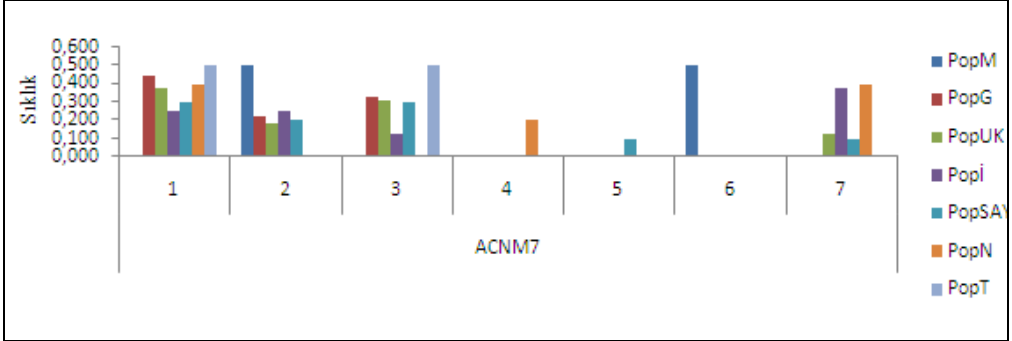
**Şekil 4.25.** İlçelere göre ACNM3 lokusunun allel ve allel sıklıkları dağılımı (PopM: Merkez, PopG: Germencik, PopUK: Umurlu-Köşk, PopSAY: Sultanhisar-Atça-Yenipazar, PopN: Nazilli, PopT<sub>1</sub>: Tire)



**Şekil 4.26.** İlçelere göre ACNM5 lokusunun allel ve allel sıklıkları dağılımı (PopM: Merkez, PopG: Germencik, PopUK: Umurlu-Köşk, PopSAY: Sultanhisar-Atça-Yenipazar, PopN: Nazilli, PopT<sub>1</sub>: Tire)

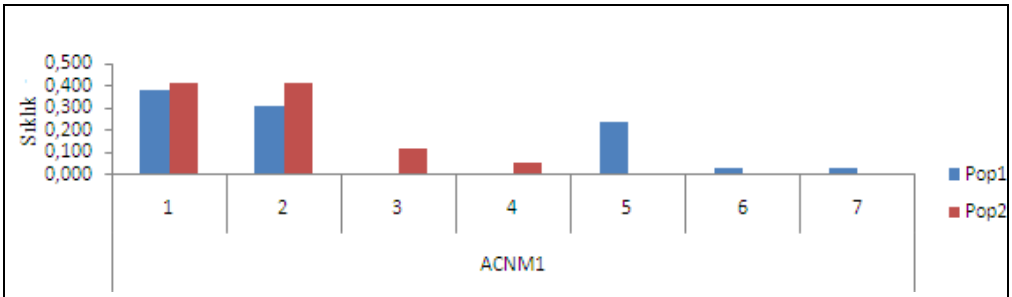


**Şekil 4.27.** İlçelere göre ACNM6 lokusunun allel ve allel sıklıkları dağılımı (PopM: Merkez, PopG: Germencik, PopUK: Umurlu-Köşk, PopSAY: Sultanhisar-Atça-Yenipazar, PopN: Nazilli, PopT<sub>1</sub>: Tire)

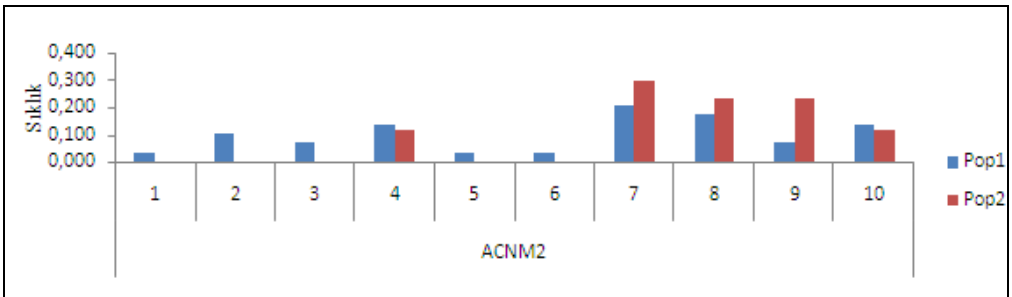


**Şekil 4.28.** İlçelere göre ACNM7 lokusunun allel ve allel sıklıkları dağılımı (PopM: Merkez, PopG: Germencik, PopUK: Umurlu-Köşk, PopSAY: Sultanhisar-Atça-Yenipazar, PopN: Nazilli, PopT<sub>1</sub>: Tire)

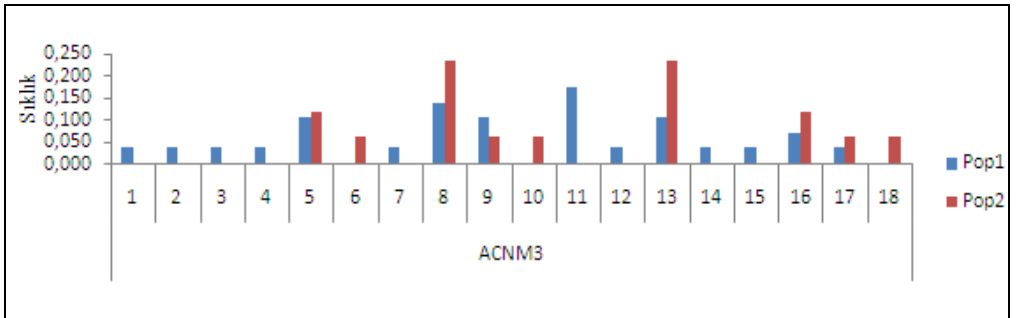
Yükseklığe göre mikrosatellit lokuslarının allel sıklıkları belirlenerek grafik ile gösterilmiştir (Şekil 31 Şekil 32, Şekil 33, Şekil 34, Şekil 35, Şekil 36).



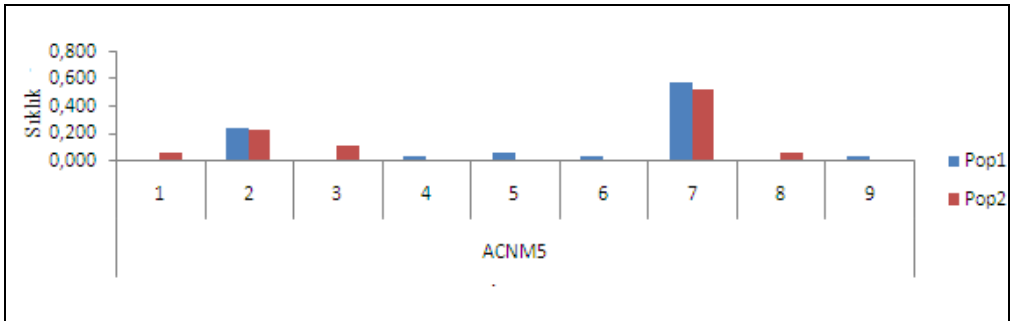
**Şekil 4.29.** Yüksekliğe göre ACNM1 lokusunun allel ve allel sıklıkları dağılımı (Pop1: Dağ, Pop2: Taban)



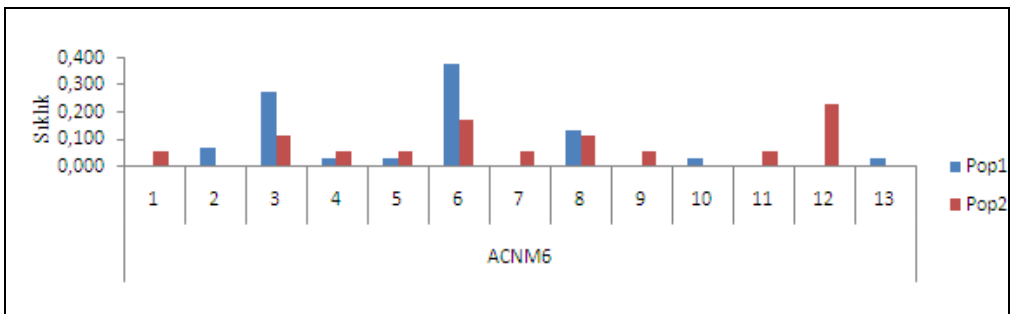
**Şekil 4.30.** Yüksekliğe göre ACNM2 lokusunun allel ve allel sıklıkları dağılımı (Pop1: Dağ, Pop2: Taban)



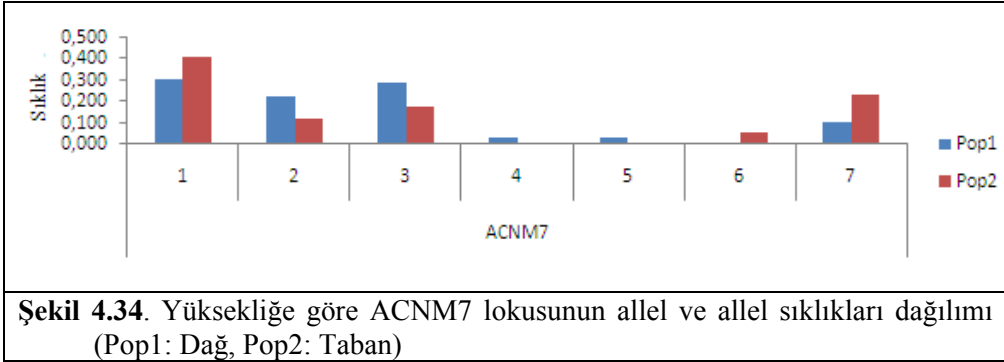
**Şekil 4.31.** Yüksekliğe göre ACNM3 lokusunun allel ve allel sıklıkları dağılımı (Pop1: Dağ, Pop2: Taban)



**Şekil 4.32.** Yüksekliğe göre ACNM5 lokusunun allel ve allel sıklıkları dağılımı (Pop1: Dağ, Pop2: Taban)



**Şekil 4.33.** Yüksekliğe göre ACNM6 lokusunun allel ve allel sıklıkları dağılımı (Pop1: Dağ, Pop2: Taban)



**Şekil 4.34.** Yüksekliğe göre ACNM7 lokusunun allel ve allel sıklıkları dağılımı (Pop1: Dağ, Pop2: Taban)

Allel sıklıklarına dayalı Ki-kare testi kullanılarak tüm populasyonların her bir lokus için Hardy-Weinberg dengesinde olup olmadıkları test edilmiştir (Çizelge 4.11.). İlçelere ve yüksekliğe göre PopM hariç diğer tüm populasyonlarda tüm lokuslarının Hardy-Weinberg dengesinden sapma gösterdiği gözlenmiştir.

**Çizelge 4.11.** Populasyonların Hardy-Weinberg dengesine dayalı allel sıklığı anlamı (p: Olasılık)

Pop	Lokus	df	Ki-kare	p
<b>PopM</b>	ACNM1	1	2,000	0,157
	ACNM2	1	2,000	0,157
	ACNM3	Monomorfik		
	ACNM5	Monomorfik		
	ACNM6	Monomorfik		
	ACNM7	1	2,000	0,157
	<b>PopG</b>	ACNM1	6	27,000
ACNM2		15	45,000	<b>0,000</b>
ACNM3		10	36,000	<b>0,000</b>
ACNM5		1	9,000	<b>0,003</b>
ACNM6		6	27,000	<b>0,000</b>
ACNM7		3	18,000	<b>0,000</b>
<b>PopUK</b>		ACNM1	6	24,000
	ACNM2	15	40,000	<b>0,000</b>
	ACNM3	21	48,000	<b>0,001</b>
	ACNM5	3	16,000	<b>0,001</b>
	ACNM6	10	32,000	<b>0,000</b>
	ACNM7	6	17,742	<b>0,007</b>
	<b>Popİ</b>	ACNM1	3	16,000
ACNM2		15	40,000	<b>0,000</b>

Çizelge 4.9. devamı

	ACNM3	21	48,000	<b>0,001</b>
	ACNM5	10	32,000	<b>0,000</b>
	ACNM6	10	32,000	<b>0,000</b>
	ACNM7	6	24,000	<b>0,001</b>
<b>PopSAY</b>	ACNM1	6	30,000	<b>0,000</b>
	ACNM2	15	50,000	<b>0,000</b>
	ACNM3	15	50,000	<b>0,000</b>
	ACNM5	3	20,000	<b>0,000</b>
	ACNM6	15	50,000	<b>0,000</b>
	ACNM7	10	40,000	<b>0,000</b>
<b>PopN</b>	ACNM1	6	15,000	<b>0,020</b>
	ACNM2	6	15,000	<b>0,020</b>
	ACNM3	10	20,000	<b>0,029</b>
	ACNM5	3	10,000	<b>0,019</b>
	ACNM6	6	15,000	<b>0,020</b>
	ACNM7	3	10,000	<b>0,019</b>
<b>PopT</b>	ACNM1	1	4,000	<b>0,046</b>
	ACNM2	3	8,000	<b>0,046</b>
	ACNM3	6	12,000	<b>0,062</b>
	ACNM5	3	8,000	<b>0,046</b>
	ACNM6	3	8,000	<b>0,046</b>
	ACNM7	1	4,000	<b>0,046</b>
<b>Pop</b>	<b>Lokus</b>	<b>DF</b>	<b>ChiSq</b>	<b>Prob</b>
<b>PopD</b>	ACNM1	10	116,000	<b>0,000</b>
	ACNM2	45	261,000	<b>0,000</b>
	ACNM3	105	406,000	<b>0,000</b>
	ACNM5	15	145,000	<b>0,000</b>
	ACNM6	28	203,000	<b>0,000</b>
	ACNM7	15	137,661	<b>0,000</b>
<b>PopT</b>	ACNM1	6	51,000	<b>0,000</b>
	ACNM2	10	68,000	<b>0,000</b>
	ACNM3	36	136,000	<b>0,000</b>
	ACNM5	10	68,000	<b>0,000</b>
	ACNM6	45	153,000	<b>0,000</b>
	ACNM7	10	68,000	<b>0,000</b>

Hem ilçelere hem de yüksekliğe göre incelenen bütün populasyonlara ait allelik zenginlik (AR), beklenen ve gözlenen heterozigotluk değerleri Fis ve Fst, haplotip çeşitliliği değerleri Çizelge 4.12' de verilmiştir.

**Çizelge 4.12.** İncelenen bütün populasyonlardaki allelik zenginlik (AR), beklenen ve gözlenen heterozigot değerleri Fis ve Fst, haplotip çeşitliliği değerleri (N; Gen sayısı, NA; Allel sayısı, PopM: Merkez, PopG: Germencik, PopUK: Umurlu-Köşk, PopSAY: Sultanhisar-Atça-Yenipazar, PopN: Nazilli, PopT<sub>1</sub>: Tire, PopD: Dağ ve PopT<sub>2</sub>:Taban)

Lokus	N	NA	AR	H <sub>G</sub>	H <sub>B</sub>	FIS	P	Fst	h
<b>ACNM1</b>									
<b>PopM</b>	4	2	2.00	0.00	0.50	1.00	0.33	1.00	0.50
<b>PopG</b>	18	4	2.75	0.00	0.72	1.00	0.00	1.00	0.72
<b>PopUK</b>	16	4	2.60	0.00	0.66	1.00	0.00	1.00	0.66
<b>Popİ</b>	16	3	2.30	0.00	0.60	1.00	0.00	1.00	0.59
<b>PopSAY</b>	20	4	2.57	0.00	0.67	1.00	0.00	1.00	0.66
<b>PopN</b>	10	4	2.92	0.00	0.72	1.00	0.00	1.00	0.72
<b>PopT<sub>1</sub></b>	8	2	1.79	0.00	0.37	1.00	0.14	1.00	0.38
<b>Toplam</b>	92	7	2.61	0.00	0.60	1.00	0.00	1.00	0.60
<b>PopD</b>	58	5	4.70	0.00	0.70	1.00	0.00	1.00	0.70
<b>PopT<sub>2</sub></b>	34	4	4.00	0.00	0.64	1.00	0.00	1.00	0.64
<b>Toplam</b>	92	7	5.66	0.00	0.67	1.00	0.00	1.00	0.67
<b>ACNM2</b>				0.00					
<b>PopM</b>	4	2	2.00	0.00	0.50	1.00	0.33	1.00	0.50
<b>PopG</b>	18	6	3.13	0.00	0.79	1.00	0.00	1.00	0.79
<b>PopUK</b>	16	6	3.26	0.00	0.81	1.00	0.00	1.00	0.81
<b>Popİ</b>	16	6	3.26	0.00	0.81	1.00	0.00	1.00	0.81
<b>PopSAY</b>	20	6	3.15	0.00	0.80	1.00	0.00	1.00	0.80
<b>PopN</b>	10	4	2.93	0.00	0.72	1.00	0.00	1.00	0.72
<b>PopT<sub>1</sub></b>	8	3	2.56	0.00	0.62	1.00	0.02	1.00	0.63
<b>Toplam</b>	92	10	3.22	0.00	0.72	1.00	0.00	1.00	0.72
<b>PopD</b>	58	10	9.45	0.00	0.87	1.00	0.00	1.00	0.87
<b>PopT<sub>2</sub></b>	34	5	5.00	0.00	0.77	1.00	0.00	1.00	0.78
<b>Toplam</b>	92	10	8.60	0.00	0.82	1.00	0.00	1.00	0.82
<b>ACNM3</b>				0.00					
<b>PopM</b>	4	1	1.00	0.00	0.00	1.00	-	-	0.00
<b>PopG</b>	18	5	2.99	0.00	0.76	1.00	0.00	1.00	0.77
<b>PopUK</b>	16	7	3.43	0.00	0.84	1.00	0.00	1.00	0.84
<b>Popİ</b>	16	7	3.43	0.00	0.84	1.00	0.00	1.00	0.84
<b>PopSAY</b>	20	6	3.15	0.00	0.80	1.00	0.00	1.00	0.80
<b>PopN</b>	10	5	3.33	0.00	0.80	1.00	0.00	1.00	0.80
<b>PopT<sub>1</sub></b>	8	4	3.14	0.00	0.75	1.00	0.00	1.00	0.75
<b>Toplam</b>	92	18	3.50	0.00	0.69	1.00	0.00	1.00	0.69
<b>PopD</b>	58	15	13.46	0.00	0.90	1.00	0.00	1.00	0.90
<b>PopT<sub>2</sub></b>	34	9	9.00	0.00	0.84	1.00	0.00	1.00	0.84
<b>Toplam</b>	92	18	13.45	0.00	0.87	1.00	0.00	1.00	0.87
<b>ACNM5</b>				0.00					
<b>PopM</b>	4	1	1.00	0.00	0.00	-	-	-	0.00
<b>PopG</b>	18	2	1.91	0.00	0.49	1.00	0.00	1.00	0.49
<b>PopUK</b>	16	3	1.90	0.00	0.41	1.00	0.00	1.00	0.41



Çizelge 4.12. devamı

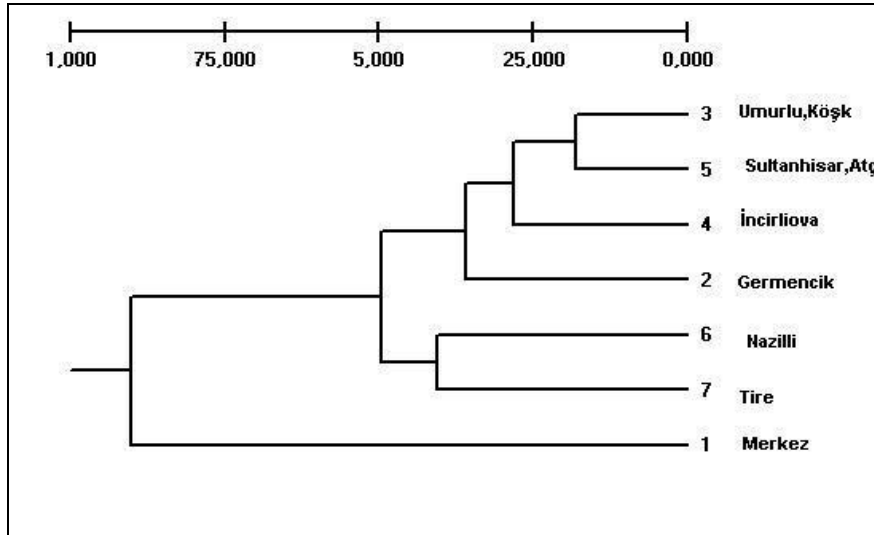
<b>Popİ</b>	16	5	2.76	0.00	0.69	1.00	0.00	1.00	0.69
<b>PopSAY</b>	20	3	2.15	0.00	0.54	1.00	0.00	1.00	0.54
<b>PopN</b>	10	3	2.33	0.00	0.56	1.00	0.01	1.00	0.56
<b>PopT<sub>1</sub></b>	8	3	2.56	0.00	0.63	1.00	0.02	1.00	0.63
<b>Toplam</b>	92	9	2.40	0.00	0.47	1.00	0.00	1.00	0.47
<b>PopD</b>	58	6	5.47	0.00	0.59	1.00	0.00	1.00	0.59
<b>PopT<sub>2</sub></b>	34	5	5.00	0.00	0.64	1.00	0.00	1.00	0.64
<b>Toplam</b>	92	9	6.72	0.00	0.61	1.00	0.00	1.00	0.62
<b>ACNM6</b>				0.00					
<b>PopM</b>	4	1	1.00	0.00	0.00	-	0.00	-	0.00
<b>PopG</b>	18	4	2.86	0.00	0.74	1.00	0.00	1.00	0.74
<b>PopUK</b>	16	5	2.96	0.00	0.75	1.00	0.00	1.00	0.75
<b>Popİ</b>	16	5	2.96	0.00	0.75	1.00	0.00	1.00	0.75
<b>PopSAY</b>	20	6	3.00	0.00	0.76	1.00	0.00	1.00	0.76
<b>PopN</b>	10	4	2.93	0.00	0.72	1.00	0.00	1.00	0.72
<b>PopT<sub>1</sub></b>	8	3	2.56	0.00	0.62	1.00	0.02	1.00	0.63
<b>Toplam</b>	92	13	3.16	0.00	0.62	1.00	0.00	1.00	0.62
<b>PopD</b>	58	8	7.30	0.00	0.75	1.00	0.00	1.00	0.75
<b>PopT<sub>2</sub></b>	34	10	10.00	0.00	0.86	1.00	0.00	1.00	0.87
<b>Toplam</b>	92	13	10.15	0.00	0.80	1.00	0.00	1.00	0.81
<b>ACNM7</b>									
<b>PopM</b>	4	2	2.00	0.03	0.50	1.00	0.33	1.00	0.50
<b>PopG</b>	18	3	2.44	0.00	0.64	1.00	0.00	1.00	0.64
<b>PopUK</b>	16	4	2.76	0.00	0.71	0.84	0.00	0.82	0.72
<b>Popİ</b>	16	4	2.80	0.00	0.72	1.00	0.00	1.00	0.72
<b>PopSAY</b>	20	5	2.95	0.00	0.76	1.00	0.00	1.00	0.76
<b>PopN</b>	10	3	2.52	0.00	0.64	1.00	0.00	1.00	0.64
<b>PopT<sub>1</sub></b>	8	2	1.97	0.00	0.50	1.00	0.08	1.00	0.50
<b>Toplam</b>	92	7	2.83	0.01	0.64	0.97	0.00	1.00	0.66
<b>PopD</b>	58	6	5.66	0.00	0.75	0.95	0.00	1.00	0.76
<b>PopT<sub>2</sub></b>	34	5	5.00	0.00	0.72	1.00	0.00	1.00	0.73
<b>Toplam</b>	92	7	5.81	0.00	0.74	0.97	0.00	1.00	0.74
<b>Genel Toplam</b>									
<b>PopM</b>		9	2.00	0.00	0.25	1.00	0.00	1.00	0.25
<b>PopG</b>		24	2.44	0.00	0.69	1.00	0.00	1.00	0.69
<b>PopUK</b>		29	2.76	0.02	0.70	0.97	0.00	0.97	0.70
<b>Popİ</b>		30	2.80	0.00	0.73	1.00	0.00	1.00	0.73
<b>PopSAY</b>		30	2.95	0.00	0.72	1.00	0.00	1.00	0.72
<b>PopN</b>		23	2.52	0.00	0.69	1.00	0.00	1.00	0.69
<b>PopT<sub>1</sub></b>		17	1.97	0.00	0.58	1.00	0.00	1.00	0.58
<b>Toplam</b>		64	2.83	0.00	0.62			-0.0105	0.63
<b>PopD</b>		50	5.66	0.00	0.76	0.99	0.00	0.99	0.76
<b>PopT<sub>2</sub></b>		39	5.00	0.00	0.75	1.00	0.00	1.00	0.75
<b>Toplam</b>		64	5.81	0.00	0.75			0.0024	0.76

İncelenen populasyonların istatistik olarak anlamlı bir genetik yapılanma gösterdiği saptanmıştır (İlçelere göre:  $F_{st} = -0.0105$ ,  $P < 0.0000$ , Yüksekliğe göre:  $F_{st} = 0.0024$ ,  $P < 0.0000$ ). Hem ilçelere hemde yüksekliğe göre karşılaştırılan populasyonların hepsinde istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar belirlenmiştir.

**Çizelge 4.13.** İncelenen populasyonların genetik yapılarının  $F_{st}$  değerlerine göre ikişerli olarak karşılaştırılması (c:  $p < 0.001$ )

	PopM	PopG	PopUK	Popİ	PopSAY	PopN	PopT
PopM							
PopG	0,246 <sup>c</sup>						
PopUK	0,291 <sup>c</sup>	0,073 <sup>c</sup>					
Popİ	0,238 <sup>c</sup>	0,066 <sup>c</sup>	0,044 <sup>c</sup>				
PopSAY	0,213 <sup>c</sup>	0,041 <sup>c</sup>	0,032 <sup>c</sup>	0,044 <sup>c</sup>			
PopN	0,288 <sup>c</sup>	0,076 <sup>c</sup>	0,068 <sup>c</sup>	0,065 <sup>c</sup>	0,061 <sup>c</sup>		
PopT	0,353 <sup>c</sup>	0,112 <sup>c</sup>	0,087 <sup>c</sup>	0,095 <sup>c</sup>	0,100 <sup>c</sup>	0,075 <sup>c</sup>	
	PopD	PopT					
PopD							
PopT	0,025 <sup>c</sup>						

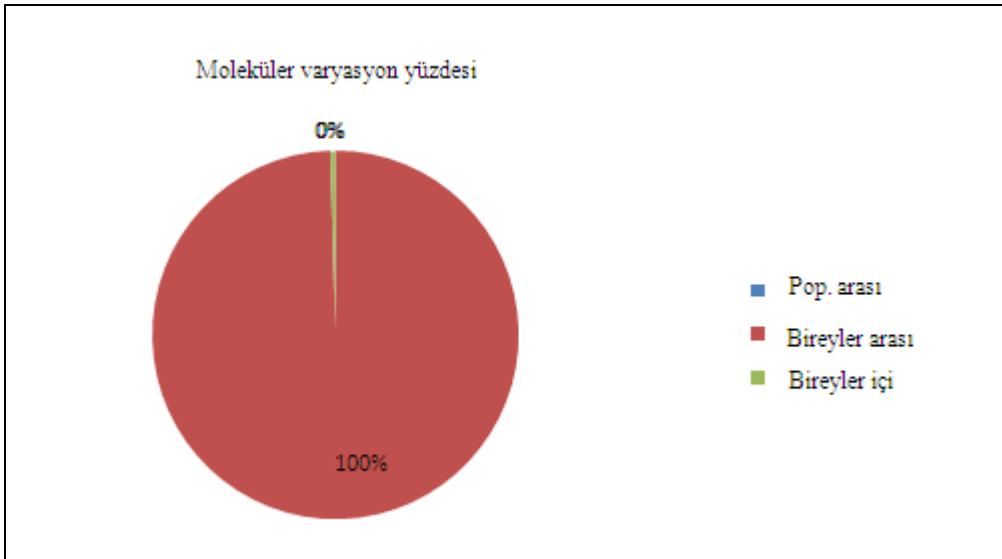
İlçelere göre ayrılan populasyonların TFPGA Analizi ile UPGMA uzaklık ağacı yapılmıştır (Şekil 4.35).



**Şekil 4.35.** *A.niger* populasyonlarının ilçelere göre UPGMA uzaklık ağacı

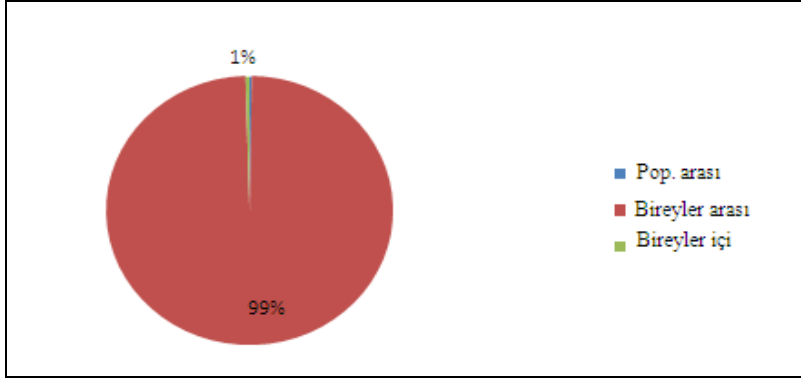
Ağaca göre Nazilli, Tire, Merkez, Germencik, İncirliova, Umurlu-Köşk ve Sultanhisar-Atça olmak üzere yedi grubun varlığı saptanmıştır.

İlçelere ve yükseklığe bağlı populasyonlar arası, bireyler içi ve bireyler arası varyasyonu belirlemek için Fst değerlerine bağlı AMOVA varyans analizi yapılmıştır (Şekil 4.36).



**Şekil 4.36.** İlçelere göre *A. niger* populasyonlarının Fst değerlerine göre yapılan AMOVA varyans analizi.

Bu analiz sonucunda lokaliteler arasında %100, bireyler arası ve bireyler içinde % 0 varyasyon olduğu tespit edilmiştir.



**Şekil 4.37.** Yüksekliğe göre *A.niger* populasyonlarının Fst değerlerine göre yapılan AMOVA varyans analizi.

Bu analiz sonucunda populasyonlar arasında %99, bireyler arası %0 ve bireyler içinde % 1 varyasyon olduğu tespit edilmiştir.

*A. niger* populasyonlarının bütünü incelendiğinde ilçelere göre yapılan UPGMA uzaklık ağacı ile AMOVA (Genealex, Version) varyans analizi sonucu arasında bir korelasyon görülmediğinden gruplandırılarak Arlequin programı ile varyans analizi yapılmıştır (Çizelge 4.14).

**Çizelge 4.14.** Gruplar arası varyans analizi (Grup sayısı: 7; 1: Nazilli, 2: Merkez, 3: Germencik, 4: İncirliova, 5: Umurlu-Köşk 6: Sultanhisar-Atça, 7: Tire), ( $p < 0.05$ ).

<i>A. niger</i> (İlçe)	Fiksasyon indeksi	p
Bireyler içinde	0.99524 $F_{IT}$	<b>0.0000</b>
Grup içi bireyler arasında	0.99525 $F_{IS}$	<b>0.0000</b>
Grup içi populasyonlar arasında	- 0.07071 $F_{SC}$	0.99218
Gruplar arasında	0.06318 $F_{CT}$	<b>0.00880</b>

Gruplar arası varyans analizine göre bireyler içinde, grup içi bireyler arasında ve gruplar arasında anlamlı varyasyon tespit edilmiştir.

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Ülkemizde incir işletmelerindeki işlenen incirlerin aflatoksin kontrolü çoğunlukla UV ışığı altında inceleyerek yapılmaktadır. Bunun dışında HPLC yöntemi ile de mikotoksin varlığı ve miktarı belirlenebilmektedir. Üretici ise mikotoksin kontrolü yapamadan bu ürünleri satışa sunmaktadır. Bu nedenledir ki pazarlardan alınan kuru incirlerdeki mikotoksin çeşidi, miktarı ve küf florası bilinmemektedir. Dolayısıyla firmalara da tam güven olmamakla birlikte pazardan alınan kuru incirler bilinçsiz bir şekilde tüketilmektedir. İhracatçıların ise incir üretim bahçeleri genellikle belirlidir ve ağaçtan kurutmaya kadarki süreçte küf gelişimini önlemek için çeşitli önlemler almakta, diğer safhalarda ise hijyene genellikle dikkat etmektedirler. Fakat yapılan UV kontrolleri sadece yüzeydeki aflatoksini gösterebileceğinden sonuçlar güvenilir değildir. Bununla birlikte uzun süre UV ışığı altında uzun süre bekletilen ve kızıl ötesi ışınlar ile ısıtmanın incirlerin yüzeydeki aflatoksin ve küf florasının azalttığı bildirilmiştir (İşman ve Bıyık, 2009; Hamanaka vd., 2011). İşman ve Bıyık'ın 2009 yılında Aydın'daki kuru incir örneklerinden toplayarak yaptıkları çalışmada, toplamda 127 küf izole edilmiş olup bunların 74 tanesini *Aspergillus* sp., 24'ünü *Trichoderma* sp., 16'sını *Fusarium* sp. ve 13'ünü *Acremonium* sp. cinsine ait türler içermektedir. Araştırmacılar *A. niger* türünün Aydın' daki kuru incirlerde en yaygın olan tür olarak bulunduğunu vurgulamışlardır.

Genellikle tropik ve subtropik bölgelerde yetiştirilen incirlerdeki küf florası bu bölgelere adaptasyon sağlayan ya da dış koşullara tolerans gösteren cinslerdir. 2004 yılında Yemen'deki kuru incirlerden izolasyon sonucunda belirlenen küf florasının içerisinde ise *A. niger*, *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. ochraceus*, *Penicillium chrysogenum* ve *Rhizopus stolonifer* türlerinin olduğu belirtilmiştir (Alghalibi vd., 2004). Genellikle kuru incirlerde *A. flavus* ve *A. niger* şeker içeriğinden dolayı baskın olarak bulunan türlerdendir (Pitt ve Hocking, 1997).

Ülkemizde kuru incirlerdeki küf florasını ortaya koyma veya mikotoksin seviyesini belirlemeye yönelik pek çok çalışma mevcuttur (Bahar ve Altuğ, 2009; Benlioğlu vd., 2008; Şenyuva vd., 2008; Karaca vd., 2006; Bircan vd., 2008 ve Işın vd., 2007). Bu veriler hemen her sene tekrar edilerek kontrol edilmektedir. Bu çalışmalar, mikotoksin seviyesi ve küf florasının yıldan yıla bilinmesi açısından önemli veriler sağlamaktadır. Ancak mikotoksin problemi ile yıllardır mücadele edilmesine rağmen halen önüne geçilememiştir.

Yapılan çalışmalar sonucunda kuru incirdeki küf florasını hemen hemen aynı türlerin oluşturduğu görülmektedir (İşman ve Bıyık, 2009). Ancak değişen çevre koşulları ve vektör varlığı ile beraber bu floradaki üyelerin bulunma yüzdelerinde farklılıklar ortaya çıkmaktadır.

Benlioğlu vd. (2008)'nin Aydın ilinde yaptığı çalışmada kuru incir işletmelerinden toplanan örneklerdeki bulaşıklık oranlarının *A. niger* için %0.0-29.9, *A. flavus / parasiticus* için %0.0-4.5, *Fusarium* spp. için %0.0-10.0, *Penicillium* spp. için %0.0-12.0, *Cladosporium* spp. için %0.0-6.1, *Alternaria* spp. için ise %0.0-4.0 arasında değiştiği belirtilmiştir. Aynı araştırmacının 2005 yılında yaptığı çalışmada 6 firmadan alınan örnekler sonucunda *A. niger* için %2.3-10.7 arasında değişen bulaşıklılık saptanırken *A. flavus / parasiticus* için sadece iki firmada %0.2 ve 0.9 bulaşıklılık tespit edilmiştir. Aynı firmalarda *Fusarium* spp. için %1.2-10.0, *Penicillium* spp. için %0.2-5.8, *Cladosporium* spp. için %0.0-0.95, *Alternaria* spp. için ise %0.0-2.0 arasında değişen bulaşıklılık saptanmıştır. Kuru incirlerdeki en önemli sorun *A. niger* olarak belirlenmiş ve bunu *Fusarium* spp. ve *Penicillium* spp.'nin takip ettiği belirtilmektedir (Benlioğlu vd., 2008). Özer vd. (1985) sergilerden örnek olarak yaptığı çalışmada *A. niger*' in kontaminasyon oranını %98 bunu takiben *Mucor* ve *Rhizopus* cinsleri %90.4, *Penicillium* spp. (%26.9), *Fusarium* moniliforme (%23.8), *Alternaria* spp. (%22.2) olarak saptanmıştır. Yapılan diğer birçok araştırma bahsedilen küf florasını destekleyen niteliktedir (Zorlugen. vd.,2008; Bayman vd., 2002; Piga vd., 2004, Sultan vd., 2010).

Yapıtığımız bu çalışmada ise 2010 yılında 37 köyden toplanan kuru incir örneklerden toplam 99 izolat elde edilmiştir. Kuru incir küf florasındaki *Aspergillus* cinsine ait türler (%73); %45 *A. niger*, %16 *A. flavus*, %8 *A. fumigatus*, %2 *A. parasiticus* ve %1 *A. terreus* olarak saptanmıştır. Bunu takiben sırasıyla, (%11) *Penicillium* cinsi, (%3) *Cladosporium* (%3), *Acremonium* (%2), *Trichoderma* (%3), *Alternaria* (%2), *Mortierella* (%2), *Trichoderma* (%2), *Trichophyton* (%1 ve *Fusarium* (%1) cinsleri de kuru incir küf florasında belirlenmiştir.

*A. niger* suşu araştırmada da baskın tür olarak görülürken, bunu takiben *A. flavus* suşu yaygın olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar ile şimdiye dek yapılan çalışmaların sonuçları uyusmaktadır. *A. niger* türünün bu denli baskın olmasının nedeni yüksek sıcaklıkta (37 °C) üreme yeteneğinden (Benlioğlu vd., 2008) veya yapraklarda biriken toprak tozunun miktarı ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Doster vd., 1996).

Ülkemizde küf populasyonlarının genetik yapılanmasını ortaya koymaya yönelik henüz bir çalışma mevcut değildir. Bu çalışmada mikotoksin kontaminasyonu ile mücadele yararlı bilgiler sağlayabileceğini düşündüğümüz AF ve OTA potansiyeli yüksek ve yaygın olan iki cinsi seçerek toplamda 61 örnek ile 14 farklı mikrosatellit lokusu çalışılmıştır. Populasyonlar hem 7 farklı ilçeye hem de yüksekliklere bağlı olarak gruplandırılarak incelenmiştir.

*A. flavus* populasyonu için tüm lokuslar polimorfik olup ilçelere göre yapılan incelemede allel sayıları 1 (AF34 ve AF63) ile 9 (AF64) arasında değişmektedir (Çizelge 4.3). Populasyonlardaki varyasyonu belirleyebilmek için her bir lokusa göre gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri saptanmıştır (Çizelge 4.6). Çalışılan bütün lokuslarda gözlenen heterozigotluk en yüksek AF64 lokusunda Nazilli (PopN;  $H_G=0.87$ ) lokalitesinde ve en düşük ise AF53, AF63, AF43, AF34, AF31 lokuslarında çalışılan tüm populasyonlarda (PopI, PopKS ve PopN;  $H_G=0.00$ ) olarak bulunmuştur (Çizelge 4.6). İncelenen lokusların toplamında ise gözlenen heterozigotluk  $H_G=0.18$  olarak bulunmuştur.

*A. flavus* populasyonu için yüksekliğe göre yapılan incelemede allel sayıları 2 (PopD; AF63) ile 10 (PopT; AF64) arasında değişmektedir (Çizelge 4.3). Populasyonlardaki varyasyonu belirleyebilmek için her bir lokusa göre gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri saptanmıştır (Çizelge 4.6). Çalışılan bütün lokuslarda gözlenen heterozigotluk en yüksek AF64 lokusunda (PopT<sub>2</sub>;  $H_G=0.87$ ) Taban arazi lokalitelerinde ve en düşük ise AF31, AF34, AF43, AF53 ve AF63 lokuslarında çalışılan tüm populasyonlarda (PopD ve PopT<sub>2</sub>;  $H_G=0.00$ ) olarak bulunmuştur (Çizelge 4.6). İncelenen lokusların toplamında ise gözlenen heterozigotluk  $H_G=0.17$  olarak bulunmuştur.

İncelenen tüm populasyonlarda çalışılan 8 lokusta toplamda 74 allel belirlenmiştir (Çizelge 4.3). Bu çalışmada yapılan ilçe ve yüksekliğe göre gruplandırılmadığı tüm populasyonların allel sayıları, gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri ve haploid gen çeşitliliği karşılaştırılmıştır (Çizelge 4.15).

**Çizelge 4.15.** İlçelere ve yüksekliğe bağlı yapılan incelemede saptanan NA (allel sayısı),  $H_G$  (gözlenen heterozigotluk),  $H_B$  (beklenen heterozigotluk) ve  $h$  (haploid gen çeşitliliği) değerleri. [(İLÇE\*\*İncirliova, Köşk-Sultanhisar ve Nazilli grubu; DT\* (Dağ = >300 m ve Taban = <300 m), ABD\*\*\*; Grubisha ve Cotty, 2009]

		İLÇE**	DT*	ABD***
<b>AF10</b>	<b>NA</b>	15	15	10
	<b><math>H_G</math></b>	0.36	0.33	-
	<b><math>H_B</math></b>	0.80	0.81	-
	<b><math>h</math></b>	0.67	0.80	0.88
<b>AF31</b>	<b>NA</b>	7	7	13
	<b><math>H_G</math></b>	0.84	0.00	-
	<b><math>H_B</math></b>	0.63	0.71	-
	<b><math>h</math></b>	0.64	0.72	0.81
<b>AF34</b>	<b>NA</b>	5	5	1
	<b><math>H_G</math></b>	0.00	0.00	-
	<b><math>H_B</math></b>	0.44	0.45	-
	<b><math>h</math></b>	0.44	0.45	0.00
<b>AF43</b>	<b>NA</b>	8	8	32
	<b><math>H_G</math></b>	0.00	0.85	-
	<b><math>H_B</math></b>	0.64	0.71	-
	<b><math>h</math></b>	0.64	0.71	0.07
<b>AF48</b>	<b>NA</b>	10	10	4
	<b><math>H_G</math></b>	0.19	0.18	-
	<b><math>H_B</math></b>	0.72	0.76	-
	<b><math>h</math></b>	0.71	0.75	0.09
<b>AF53</b>	<b>NA</b>	9	9	2
	<b><math>H_G</math></b>	0.00	0.00	-
	<b><math>H_B</math></b>	0.72	0.77	-
	<b><math>h</math></b>	0.70	0.77	0.48
<b>AF63</b>	<b>NA</b>	3	3	1
	<b><math>H_G</math></b>	0.00	0.00	-
	<b><math>H_B</math></b>	0.57	0.42	-
	<b><math>h</math></b>	0.30	0.43	0.00
<b>AF64</b>	<b>NA</b>	17	17	2
	<b><math>H_G</math></b>	0.84	0.87	-
	<b><math>H_B</math></b>	0.83	0.86	-
	<b><math>h</math></b>	0.69	0.78	0.09

Buna göre çalışılan tüm *A. flavus* populasyonları dağ (D=>300m) ile taban arazi (T=<300m) populasyonlarını bir grup ve ilçelere (İncirliova-Köşk-Sultanhisar-Nazilli) ait populasyonları diğer bir grup olarak yapılan gruplamadaki sonuçlar



arasında korelasyon saptanmıştır. Bu çalışmada incelenen lokuslar ile *A.flavus* suşu için şu ana kadar yapılan sadece iki çalışma mevcuttur.

Grubisha ve Cotty (2009) *A. flavus* türü için yirmi dört mikrosatellit belirteci geliştirmiştir. Bu lokusları Arizona ve Teksas'tan alınan 221 örnek ile incelediğinde allel sayılarının 2 ile 19 arasında değiştiğini belirtmişlerdir. Haploid gen çeşitliliği değerinin ise  $h: 0.00-0.88$  değiştiğini saptamışlardır. Bu çalışmada saptanan NA (allel sayısı) ve  $h$  (haploid gen çeşitliliği) ile ABD'de yapılan çalışmanın sonuçları karşılaştırılmıştır (Çizelge 4.13). Haploid gen çeşitliliği araştırmacıların incelediği AF10 ( $h=0.88$ ) ve AF31 ( $h=0.81$ ) lokuslarda bu çalışmada incelenen aynı lokuslara göre AF10 (İLÇE\*\*; $h=0.67$ ) ve AF31 (DT\*; $h=0.80$ ) yüksek olduğu, diğer lokuslardaki haploid çeşitliliğinin ise bu çalışmadaki popülasyonlarda daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Araştırmacılar AF10, AF31, AF48 ve AF64 lokuslarının en fazla varyasyon gösteren lokuslar olduklarını vurgulamışlardır (Grubisha ve Cotty, 2009). Yaptıkları çalışmada simpatrik VCG (VCG; vejetatif uyum grubu) *A. flavus* popülasyonlarını üç farklı haplotip grubunda (CG136, MR17 ve OD02) incelemişlerdir. Bu tez çalışmasında kullanılan lokuslarda bulunan  $h$  (haploid gen çeşitliliği) değerleri ile Grubisha ve Cotty (2009) 'nin incelediği 3 gruptaki  $h$  değerleri karşılaştırılmıştır. Grubisha ve Cotty (2009)'nin yaptıkları çalışmada 3 vejetatif uyum grubuna göre  $h$  değerleri AF10 ( $h= 0.88$ ), AF31 ( $h= 0.81$ ), AF48 ( $h= 0.09$ ) ve AF64 ( $h= 0.09$ ) olarak bulunmuştur. Bu tez çalışmasında incelenen aynı lokusların  $h$  (haploid gen çeşitliliği) değerleri ise AF10 ( $h= 0.67-0.80$ ), AF31 ( $h= 0.64-0.72$ ), AF48 ( $h= 0.71-0.75$ ), ve AF64 ( $h= 0.69-0.78$ )  $h$  (haploid gen çeşitliliği) olarak saptanmıştır. Sonuçlar karşılaştırıldığında AF10 ve AF31 lokuslarında yaklaşık değerler bulunurken, AF48 ve AF64 lokuslarında ise bu çalışmada daha yüksek olarak belirlenmiştir. Çalışılan diğer AF34, AF43, AF53 ve AF63 lokuslarında da aynı şekilde saptanan  $h$  değerleri Grubisha ve Cotty (2009)'un sonuçlarına oranla daha yüksek bulunmuştur. Buna göre çalışılan bu lokusların yüksek derecede polimorfizm gösterdiği söylenebilir. Bununla birlikte AF10, AF31, AF48 ve AF64 lokuslarının yüksek derecede varyasyon gösterdiği belirtilmiştir (Grubisha ve Cotty, 2010).

Çalışmada saptanan allel sayıları ile bu çalışmada incelenen sonuçlar karşılaştırıldığında ise sadece AF31 (NA=10) ve AF43 (NA=32) lokuslarında allel sayılarının, bu çalışmanın sonuçlarından AF31 (İLÇE\*\*; NA=15) ve AF43 (DT\*; NA=7) yüksek olduğu saptanmıştır.

Mantarlarda üreme diğer ökaryotlardaki ile aynı olmamakla birlikte eşeyli ve eşeysiz olarak gerçekleştirilmektedir. Çoğunlukta eşeysiz olarak üreme gösteren mantarların bu fazlarının gerçekleştirilmesi farklı çevre koşullarına göre belirlenmektedir. Özellikle azot eksikliğinde eşeyli çoğalmaya gidilmektedir (Nielsen ve Heitman, 2007).

Birçok ipliksi küfte aynı türün farklı bireyleri heterokaryon form oluşturmak üzere eşeysiz olarak birleşebilir (Leslie, 1996). Oluşan heterokaryon stabil ise bu yapıya katılan bireyler vejetatif olarak uyumludur ve aynı vejetatif uyumlu gruba (VCG) dahil edilirler (Leslie, 1996). *Aspergillus flavus* VCG'leri eşeysiz propagüllerinin (konidia ve sklerot) bol üretimi ile klonal olarak üremektedir (Grubisha ve Cotty, 2010). Bunun sonucunda da VCG'lerde düşük gen akışı, çoklu benzer haplotipler ve düşük allel varyasyonu görülmektedir (Grubisha ve Cotty, 2010). *A. flavus* aseksüel olarak düşünülse de populasyon genetik analizler sonucunda izolatlar arasında rekombinasyon olduğunu doğrulayan kanıtlar bulunmuştur (Tran-Dinh vd., 2009). Eşeyli döngü son olarak *Aspergillus fumigatus* suşunda bulunmuştur (Tran-Dinh vd., 2009).

Buna bağlı olarak bu çalışmada kullandığımız *A. flavus* suşlarının VCG grubuna girmediği veya incelenilen lokusların yüksek derecede varyasyon göstermesinden dolayı bu çalışmadaki haploid gen çeşitliliği ve allel sayısının yüksek bulunduğu düşünülebilir. Bunun nedeni eşeysiz olarak üreyen bu türde mutasyon oranının yüksek olması ve genetik sürüklenmedir. Heterozigotluk bakımından çok düşük bulunması ve populasyonların Hardy-Weinberg dengesinden sapma göstermesinin sebebi eşeysiz üremenin baskın olması ile açıklanabilir.

*A. flavus* populasyonlarının genetik çeşitliliğini incelemek için genellikle DNA sekansı (Geiser vd., 1998, 2000), RAPD (Tran-Dinh vd., 1999), DNA amplifikasyon teknikleri (Baird vd. 2006) gibi çeşitli moleküler teknikler kullanılmıştır. Bu çalışmalarda genellikle *A. flavus* izolatlarında yüksek seviyede genetik çeşitlilik saptanırken VCG olarak belirlenmemektedir ve bu yüzden VCG'lerde genetik çeşitlilik değerlendirilememektedir (Grubisha ve Cotty, 2010).

Grubisha ve Cotty (2010) Arizona ve Teksas'ta pamuk örneklerinden dört yıl boyunca elde ettikleri 243 örnekteki *Aspergillus flavus* populasyonları arasındaki genetik varyasyon dağılımını belirlemeye yönelik bir çalışma yapmışlardır. Bu çalışmada yirmi dört mikrosatellit lokusu içerisinde en fazla varyasyon gösteren lokusları hariç (AF8,AF10,AF11,AF31,AF42,AF48 ve AF64) diğer lokuslar çalışılmıştır. Çalışma sonucunda bütün VCG *A. flavus* populasyonlarında düşük allel çeşitliliği saptadıklarını belirtmişlerdir.

Bu tez çalışmasında incelenen populasyonların istatistik olarak anlamlı bir genetik yapılanma gösterdiği saptanmıştır (İlçelere göre:  $F_{st}= 0.087$ ,  $P<0.0000$ , Yüksekliğe göre:  $F_{st}= 0.055$ ,  $P<0.0000$ ). Hem ilçelere hem de yüksekliğe göre karşılaştırılan populasyonların hepsinde istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar belirlenmiştir.

Allel sıklıklarına dayalı Ki-kare testi kullanılarak tüm populasyonların her bir lokus için Hardy-Weinberg dengesinde olup olmadıkları test edilmiştir (Çizelge 4.5). İlçelere göre sadece PopN'de AF34 lokusu hariç diğer lokusların Hardy-Weinberg dengesinden sapma gösterdiği gözlenmiştir. Yüksekliğe göre incelenen populasyonlarda ise hem PopT hem de PopD'de tüm lokusların Hardy-Weinberg dengesinden sapma gösterdiği gözlenmiştir. Bu, örnekleme sayısının azlığı dolayısıyla populasyonların Hardy-Weinberg dengesini belirleyebilecek kadar büyük olmamasından ve en önemlisi eşeysiz üremenin baskın olmasından kaynaklanabilir.

Populasyonlara özgü (private) allellerin tespiti sonucunda (Çizelge 4.4) 3 ile 7 arasında populasyonlara özgü alleller saptanmıştır. İlçelere ve yüksekliğe bağlı populasyonlar arası, bireyler içi ve bireyler arası varyasyonu belirlemek için  $F_{st}$  değerlerine bağlı AMOVA varyans analizi yapılmıştır (Şekil 4.21, 4.22). Bu analiz sonucunda ilçelere göre yapılan gruplama sonucunda varyasyonun %73'ü ve yüksekliğe göre yapılan gruplamada ise varyasyonun %76'sının bireyler arasında olduğu belirlenmiştir. Populasyonlar arasında sırasıyla (ilçe ve yükseklik) %8 ve %4, populasyonlardaki bireyler içinde ise sırasıyla %19 ve %20 olduğu gözlenmiştir. Grubisha ve Cotty (2010) populasyonlar içinde %12.30 ve populasyonlar arasında %0.25 ve VCG grupları arasında ise % 87.45 varyans saptamıştır.

Bu çalışmadaki AMOVA varyans analizine göre gruplar arasındaki varyasyonun az olduğu ancak yine de bir genetik yapılanmanın olduğu görülmektedir. Bunun nedeni eşeysiz olarak üreyen bu türde mutasyon oranının yüksek olması ve genetik sürüklenmedir. Gruplar arasındaki varyasyonun az olması çalışmada seçilen lokalitelerin sınırlı bir coğrafik alanda ve yakın olmasından kaynaklanabilir. Varyasyonun az olması ile birlikte bir genetik yapılanma olması gruplara özgü allellerin varlığı ile de açıklanabilir.

*A. niger* popülasyonu için ilçelere göre incelenen yedi popülasyonda (PopM: Merkez, PopG: Germencik, PopUK: Umurlu-Köşk, PopSAY: Sultanhisar-Atça-Yenipazar, PopN: Nazilli) bütün lokuslar polimorfik olup allel sayıları 1 ile 18 arasında değişmiştir (Çizelge 4.9). Dağ (>300 m) ve taban (<300 m) popülasyonlarında ise yine bütün lokuslar polimorfik olup allel sayıları 5 ile 15 arasında değişmektedir. Popülasyonlardaki varyasyonu belirleyebilmek için her bir lokusa göre gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri saptanmıştır (Çizelge 4.12). Çalışılan bütün lokuslarda gözlenen heterozigotluk en yüksek ACNM7 lokusunda Merkez (PopM;  $H_G=0.03$ ) lokalitesinde ve diğer tüm lokuslarda incelenen tüm lokalitelerde ( $H_G= 0.00$ ) olarak bulunmuştur (Çizelge 4.12). İncelenen lokusların toplamında ise gözlenen heterozigotluk  $H_G=0.00$  olarak bulunmuştur. Buna göre beklenenden düşük bir heterozigotluk vardır. Heterozigotluk bakımından çok düşük bulunması ve popülasyonların Hardy-Weinberg dengesinden sapma göstermesinin sebebi eşeysiz üremenin baskın olması ve genetik sürüklenme ile açıklanabilir.

Popülasyonlardaki varyasyonu belirleyebilmek için her bir lokusa göre gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri saptanmıştır (Çizelge 4.12). İncelenen lokusların toplamında ise gözlenen heterozigotluk  $H_G=0.00$  olarak bulunmuştur.

İncelenen tüm popülasyonlarda çalışılan 6 lokusta 46 örnekte toplamda 64 allel belirlenmiştir (Çizelge 4.9). Bu çalışmada yapılan ilçe ve yüksekliğe göre gruplandırılmadığı tüm popülasyonların allel sayıları, gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri ve haploid gen çeşitliliği karşılaştırılmıştır (Çizelge 4.16).

**Çizelge 4.16.** İlçelere ve yüksekliğe bağlı yapılan incelemede saptanan NA (allel sayısı),  $H_G$  (gözlenen heterozigotluk),  $H_B$  (beklenen heterozigotluk) ve  $h$  (haploid gen çeşitliliği) değerleri. [(İLÇE\*\*Merkez, Germencik ve Umurlu-Köşk, İncirliova, Sultanhisar-Atça-Yenipazar, Nazilli ve Tire; DT\* (Dağ = >300 m ve Taban = <300 m)]. (Aus. : Avusturya; Esteban vd., 2005)

		İLÇE**	DT*	Aus.
ACNM1	NA	7	7	13
	$H_G$	0.00	0.00	0.90
	$H_B$	0.60	0.67	-
	$h$	0.60	0.67	-
ACNM2	NA	10	10	6
	$H_G$	0.00	0.00	0.77
	$H_B$	0.72	0.82	-
	$h$	0.72	0.82	-
ACNM3	NA	18	18	12
	$H_G$	0.00	0.00	0.88
	$H_B$	0.69	0.87	-
	$h$	0.69	0.87	-
ACNM5	NA	9	9	8
	$H_G$	0.00	0.00	0.71
	$H_B$	0.47	0.61	-
	$h$	0.47	0.62	-
ACNM6	NA	13	13	9
	$H_G$	0.00	0.00	0.81
	$H_B$	0.62	0.80	-
	$h$	0.62	0.81	-
ACNM7	NA	7	7	10
	$H_G$	0.01	0.00	0.86
	$H_B$	0.64	0.74	-
	$h$	0.66	0.74	-

Buna göre çalışılan tüm *A. niger* populasyonları dağ (D=>300m) ile taban arazi (T=<300m) populasyonlarını bir grup ve ilçelere (Merkez, Germencik ve Umurlu-Köşk, İncirliova, Sultanhisar-Atça-Yenipazar, Nazilli ve Tire) ait populasyonları diğer bir grup olarak yapılan gruplamadaki sonuçlar arasında korelasyon saptanmıştır.

İncelenen populasyonlar istatistik olarak anlamlı bir genetik yapılanma gösterdiği saptanmıştır (İlçelere göre:  $F_{st}= 0.087$ ,  $P<0.0000$ , Yüksekliğe göre:  $F_{st}= 0.055$ ,  $P<0.0000$ ). Hem ilçelere hem de yüksekliğe göre karşılaştırılan populasyonların hepsinde istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar belirlenmiştir. İlçelere göre ayrılan

populasyonların TFPGA Analizi ile UPGMA uzaklık ağacı yapılmış (Şekil 4.35) ve bu ağaca göre birbirlerinden uzak ilçelerdeki (ör; İncirliova- Sultanhisar) populasyonlar arasında farklılıklar belirlenmiştir.

Allel sıklıklarına dayalı Ki-kare testi kullanılarak tüm populasyonların her bir lokus için Hardy-Weinberg dengesinde olup olmadıkları test edilmiştir (Çizelge 4.11). İlçelere ve yüksekliğe göre incelendiğinde PopM'de sadece ACNM7 lokusu ile birlikte diğer tüm populasyonlarda tüm lokusların Hardy-Weinberg dengesinden sapma gösterdiği gözlenmiştir

Bu, örnekleme sayısının azlığı dolayısıyla populasyonların Hardy-Weinberg dengesini belirleyebilecek kadar büyük olmamasından kaynaklanabilir.

İlçelere ve yüksekliğe bağlı populasyonlar arası, bireyler içi ve bireyler arası varyasyonu belirlemek için Fst değerlerine bağlı AMOVA varyans analizi yapılmıştır (Şekil 4.36 ve 4.37.). İlçe ve yüksekliğe bağlı varyans analizi sonucunda populasyonlar arası %100 ile %99 varyasyon olduğu tespit edilmiştir. İlçelere göre ayrıca Arlequin programı ile yapılan varyans analizi sonucunda ise grup içi bireyler ve gruplar arasında anlamlı varyasyon tespit edilmiştir.

Bu çalışmada incelenen lokuslar kullanılarak *A.niger* suşu için yapılan çok fazla çalışma mevcut olmamakla birlikte yapılan çalışmalar *A. niger* suşlarının genetik çeşitliliğini belirleyici niteliktedir.

*Aspergillus niger* suşları OTA üretimlerine göre atoksijenik (N tip) ve toksijenik (T tip) olarak adlandırılmaktadır. Bazı N tip suşlarının ise OTA ürettiği belirlenmiştir. (Esteban vd., 2005).

Esteban vd. (2005) *A. niger* için altı farklı mikrosatellit belirteci geliştirmişlerdir. 28 *A. niger* izolatu incelendiğinde allel sayısının 6 ile 13 alel arasında değiştiğini saptamışlardır (Çizelge 4.14). ACNM6 belirtecinin sadece N tipi suşlarda çalıştığı ve bu grubun üyelerinin hem toksijenik ve atoksijenik suşları içerdiğini vurgulamışlardır. Fakat bu belirteçlerin *A.niger* suşlarında toksijenik ve atoksijenik olanları ayırt etmek için kullanılabileceğini vurgulamışlardır.

Aynı araştırmacıların 2008 yılında farklı bölgelerdeki topraktan ve üzümde elde ettikleri 68 Niger grup üyelerinden olan *A. carbonarius* ve *A. niger* suşlarından sadece *A. niger* suşlarını, belirteçlerin sadece bu türe özgü olmasından dolayı, kullandıklarını belirterek karakterize etmişlerdir (Esteban vd., 2008). Geliştirdikleri belirteçlerden ACNM6'ı sadece N tipi (atoksijenik) suşları ayırt etmek için kullanmışlardır. Araştırma sonucunda 26 *A. niger* suşunda 23 genotip 50 allel tanımladıklarını ve allellerin 6 (ACNM2) ile 11 (ACNM1) arasında değiştiğini belirtmişlerdir. Analiz sonucunda toksijenik ve atoksijenik suşları iki gruba ayırdıklarını ve tüm lokusların yüksek derecede polimorfik olduğunu bildirmişlerdir.

Azot yokluğu dışında *Ascomycete* üyelerinin lokal popülasyonları arasındaki genetik çeşitliliğin temelini stres oluşturmaktadır (Hosid vd., 2008). Spontan mutasyon ve kros-over frekansının kserik Afrika'daki yokuşlarda Avrupa'daki yokuşlara nazaran daha fazla olduğu bildirilmektedir (Lamb vd., 1998; Saleem vd., 2001). Toprak mikrofunguslarının eşeyli üremelerini stres koşullarının etkilediği ve *Emerciella nidulans* (Niger grup üyesi) suşunda rekombinasyon ve yüksek derecede mutasyon ile birlikte evrimsel süreci teşvik ettiği belirtilmektedir (Hosid vd., 2008).

Evrimsel kanyon olarak adlandırılan yedi farklı mikrosatellit lokusu kullanılarak farklı üç lokalitede (Carmel Dağı, düzlük olarak nitelendirilen batı Galile ve Negev Çölü) yapılan çalışma sonucunda popülasyonlar arasında genetik varyasyon ve çevre koşulları arasında korelasyon görülmediği bildirilmiştir (Hosid vd., 2008). Bununla birlikte iklimsel stres koşullarını incelediklerinde ise Negev Çölü'nde en fazla mutasyon oranı olduğunu ve bunu kuraklık stres koşullarına bağladıklarını vurgulamışlardır.

Ekolojik koşullar küf popülasyonlarındaki genetik insidensi güçlü bir şekilde etkilemektedir. Sonbahar döneminde olan genetik çeşitlilik yazın kuraklık stresinden sonra olabileceğini düşündürmektedir (Hosid vd.,2008).

Yapılan bu çalışmadaki kuru incirlerin 2010 yılı Ekim ayında toplandığı düşünüldeğinde ekolojik faktörlerin popülasyonlardaki genetik çeşitliliğe etkisi olabileceği düşünülebilir. Dağ ve taban arazi olarak yapılan popülasyonlar arasında ise fazla genetik çeşitlilik olmaması ise örneklerin azlığından ve seçilen lokalitelerin yakın olmasından kaynaklanabilir. *A. flavus* ve *A.niger* suşları

potansiyel AF ve OTA üreticileridir. Fakat her bir türde de atoksijenik suşlar mevcuttur. Toksik ve atoksijenik suşların birlikte kültüre edilmeleri ile mikotoksin kontrolü sağlanabilmektedir. Ayrıca Amerika’da AF üretmeyen VCG suşları biyopestisid olarak kullanılmaktadır (Esteban vd., 2005). Hem mikotoksin detoksifikasyonunda hem de ürünlerin en iyi şekilde üretilmeleri açısından bu popülasyonların genetik bilgilerinin araştırılması önemlidir. Özellikle toksik ve atoksijenik suşların varlığının ayırt edilmesi ile oluşturulan bir veri setinin de kuru incirlerde mikotoksin problemini minimize etmeye yarayacak biyokontrol stratejileri geliştirmek açısından yararlı olacağı düşünülmektedir.



## KAYNAKLAR

- Abdin, M.Z., Ahmad, M.M, Javed, S. 2010. Advances in molecular detection of *Aspergillus*: an update. **Arch Microbiol.**, 192 (6):409-25.
- Akpınar, Ş. 2006. Gıdalar, Yemler ve Mikotoksinler. Ordu Tarım İl Müdürlüğü, İnternet Kayıtları, <http://www.ordutarim.gov.tr/subeleler/kontrol/aflatoksin/toksinler.htm>.
- Aksoy, U., Sabır, E., Eltem, R., Kırac, S., Sarıgöl, N., Meyvacı, B., Ateş, M., Çakır, M., 2003. Kuru incirlerde Okratoksin A'nın potansiyel kontaminasyon riskinin araştırılması. Ulusal Mikotoksin Sempozyumu, Sözlü Bildiri, 18-19 Eylül, İstanbul.
- Anklam, E., Stroka, J. 2002. The European perspective of mycotoxins and food safety. In **Int. Workshop on Mycotoxin**, July, 22-26. FDA and JIFSAN, University of Maryland, USA.
- Anonim.2003.[http://www.tzob.org.tr/tzob/tzob\\_urun\\_rapor/rapor\\_2003\\_incir.htm](http://www.tzob.org.tr/tzob/tzob_urun_rapor/rapor_2003_incir.htm).
- Anonymous. 2006. <http://www.mikrobiyoloji.org/genelpdf/210010320.pdf>. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları; Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü 891112005.
- Anonymous.2007.<http://www.ordutarim.gov.tr/subeleler/kontrol/aflatoksin/toksinler.htm>.
- Aspergillus niger* Final Risk Assessment U.S. Environmental Protection Agency, 1997.
- Atehnkeng, J., Ojiambo, S. P., Donner, M., Ikotun, T., Sikora, A.R., Cooty, J.P, Bandyopadhyay, R. 2008. Distribution and toxigenicity of *Aspergillus* species isolated from maize kernels from three agro-ecological zones in Nigeria, **International Journal of Food Microbiology**, 122: 74–84.
- Baird, R.E, Triganio, R.N, Windham, G., et al. 2006. Comparison of aflatoxigenic and nonaflatoxigenic isolates of *Aspergillus flavus* using DNA amplification fingerprinting techniques. **Mycopathologia**, 161: 93-99.
- Bahar, B. and Altuğ, T. 2009. Carry-over of aflatoxins to fig molasses from contaminated dried figs, **International Journal of Food Properties**, 12: 341–346.
- Balloux, F., Lugon-Moulin, N. 2002. The estimation of population differentiation with microsatellite markers. **Molecular Ecology**, 11: 155-165.

- Batista, P.P., Santos, J.F., Oliveir,a N.T., Pires, A.P., Motta, C.M., Luna-alves Lima, E.A. 2008. Genetic characterization of Brazilian strains of *Aspergillus flavus* using DNA markers, **Genetics and Molecular Research**, 7 (3): 706-717.
- Bayman, P., Baker, J.L., Doster, M.A., Michailides, T.J. and Mahoney, N.E. 2002. Ochratoxin Production by the *Aspergillus ochraceus* Group and *Aspergillus alliaceus*. **Appl. Environ. Microbiol.**, 68: 2326–2329.
- Benlioğlu, S., Yıldız, A., Başpınar, N. 2008. Aydın ilinden ihraç edilen kuru incirlerde fungal bulaşıklılık, **ADÜ Ziraat Fakültesi Dergisi**, 5(2):3-8.
- Bircan, C., Barringer, S.A., Ulkenc, U., Pehlivan, R. November 2008. Increased aflatoxin contamination of dried figs in a drought year, **Food Additives and Contaminants**, 25 (11): 1400–1408.
- Boyacıoğlu, D. And Gonu,l M. 1990. Survey of Aflatoxin Contamination of Dried Figs Grown in Turkey in 1986. **Food Addit. Contam.**, 7 : 235–237.
- Breyden, W.L. 2007. Mycotoxins in the food chain: human health implications. Asia Pac. **J. Clin. Nutr.**, 16: 95- 101.
- Chang, P.K., Ehrlich, K.C., Fujii, I. 2009. Cyclopiazonic acid biosynthesis of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus oryzae*, **Toxins**, 1: 74–99.
- Hawksworth, D.L. 2001. The magnitude of fungal diversity: the 1± 5 million species estimate revisited\*. **Mycol. Res.**, 105 (12): 1422±1432.
- Davis, N.D., Diener, U.L. 1983. Biology of *A. flavus* and *A. parasiticus* , some characteristics of toxigenic and nontoxigenic isolates of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. In: Diener UL, Asuith RL, Dikens JW, editors. Aflatoxin and *Aspergillus flavus* in Corn. Auburn: Auburn University; p. 1–5.
- De Valk, H.A., Meis, J.F.G.M., Curfs, I.M., Muehlethaler, K., Mouton, J.W., Klaassen, C.H.W. 2005. Use of a novel panel of nine short tandem repeats for exact and high-resolution fingerprinting of *Aspergillus fumigatus* isolates, **J. Clin. Microbiol.**, 43: 4112–4120.
- Demir, S.T., Özar, A.İ., Gülseri, O., Çoksöyler, N., Konca, R., Aksoy, U., Düzbastılar, M. ve Sağdemir, A. 1990. Ege Bölgesinde incirlerde görülen aflatoksin ve okratoksin oluşumu ile önlenmesi üzerinde araştırmalar, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Projesi, Proje No: KKGA-03-F-052, Proje Nihai Raporu.

- Doster, M.A., Michailides, T.J., Morgan, D.P. 1996. *Aspergillus* species and mycotoxins in figs from California orchards, **Plant Dis.**, 80:484–9.
- Douhan, G.W., ve Rizzo, D.M. 2003. Amplified Fragment Length Microsatellites (AFLM) might be used to develop microsatellite markers in organisms with limited amounts of DNA applied to Arbuscular Mycorrhizal (AM) fungi, **Mycologia**, 95(2): 368–373.
- Doyle, M.P., Beuchat, L.R., and Montville, T.J. 1997. Food Microbiology Fundamentals and Frontiers, **ASM Press**, Washington D.C.
- Dündar, D., 2008. İstanbul ilinde satışı sunuşan kuru incir ve kuru üzümde aflatoksin ve okratoksin A varlığı. Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, syf 15.
- Eltem, R., Aksoy, U., Altındişli, A., Sarıgül, N., Taşkın, E., Aşkun, T. 2003. Ege Bölgesinde Çekirdeksiz Kuru Üzümde OTA Oluşumunun Belirlenmesi. I.Ulusal Mikotoksin Sempozyumu, İstanbul, 54-59.
- Esteban A, Leong, S, Tran-Dinh, N. 2005. Isolation and characterization of six polymorphic microsatellite loci in *Aspergillus niger*. **Mol Ecol Notes**, 5:375–377.
- Esteban, A., Leong, S.L., Hocking, A.D. 2008. Utility of microsatellite markers and amplified fragment length polymorphism in the study of potentially ochratoxigenic black aspergilli. In **Current microbiology**, 57 (4): 348-55.
- Frankham, R., Ballou, J.D., Briscoe, D.A. 2004. A Primer of Conservation Genetics, University Press, Cambridge.
- Fulleriger, L.S., Guillot, J., Desterke, C., Seguin, D., Warin, S., Bezille, A., Chermette, R. and Bretagne, S. Apr. 2003. Differentiation between Isolates of *Aspergillus fumigatus* from Breeding Turkeys and Their Environment by Genotyping with Microsatellite Markers **Journal OF Clinical Microbiology**, p. 1798–1800.
- Geiser, D.M, Dorner, J.W, Horn, B.W, Taylor, J.W. 2000. The phylogenetics of mycotoxin and sclerotium production in *Aspergillus flavus* and *Aspergillus oryzae* . **Fungal Genetics and Biology**, 31: 169–179.
- Geiser, D.M, Pitt, J.I, Taylor, J.T. 1998. Cryptic speciation and recombination in the aflatoxin-producing fungus *Aspergillus flavus*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, USA, 95:388–393.

- Geiser D.M, Arnold, M.L, Timberlake, WE. 1994. Sexual origins of British *Aspergillus nidulans*. Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A. 91: 2349–2352.
- Golob, P. 2007. Good Practices For Animal Feed And Livestock 1: Training Manual. In On-Farm Mycotoxin Control In Food And Feed Grain. Food And Agriculture Organization Of The United Nations Rome, 1-10.
- Groppe, K., Sanders, I., Wiemken, A. ve Boller, T. 1995. A microsatellite marker for studying the ecology and diversity of fungal endophytes (*Epichloe* spp.) in grasses, **Appl. Environ. Microbiol.**, 61:3943-3949.
- Grubisha, L.C. and Cotty, P.J. 2009. Twenty-four microsatellite markers for the aflatoxin-producing fungus *Aspergillus flavus*, **Molecular Ecology Resources**, 9: 264–267.
- Grubisha, L.C., Cotty, P. J. 2010. Genetic isolation among sympatric vegetative compatibility groups of the aflatoxin-producing fungus *Aspergillus flavus*, **Mol Ecol.**, 2010 Jan, 19(2):269-80.
- Guo, L.D., Xu, L., Zheng, W.H. and Hyde, K.D. 2004. Genetic variation of *Alternaria alternata*, an endophytic fungus isolated from *Pinus tabulaeformis* as determined by random amplified microsatellites (RAMS). **Fungal Diversity**, 16: 53-65.
- Hamanaka, D., Norimura, N., Baba, N., Mano, K., Kakiuchi, M., Tanaka, F. and Uchino, T. 2011. Surface decontamination of fig fruit combination of infrared radiation heating with ultraviolet irradiation. **Food Control**, 22 (3-4):375–380.
- Hartog, B.J. 1981. The detection and quantification of fungi in food. Chapter 2 by Samson, R.A., R. A.; Hoekstra, E. S.; Oorschot, C. A. N. Van; Hartog, B. J.; Northolt, M. D.; Soentoro, P. S. S.; Egmond, H. P. Van; Baggerman, W. I.; Boer, E. de; Ko Swan Djien, **Introduction to Food-borne Fungi**, C.B.S, Baarn, Delf, Institute of Royal Netherlands.
- Haydar, M., Benelli, L. and Brera, C. 1990. Occurrence of Aflatoxin in Syrian Foods and Foodstuffs. **Food Chem.**, 37: 261-268.
- Heperkan, D. 2005. Mikotoksinlerin Önemi ve Türkiye’de Mikotoksin Çalışmaları. Türkiye’de Mikotoksin Çalışmaları: II. Ulusal Mikotoksin Sempozyumu Bildiriler Kitabı, S:3-11. İstanbul.
- Hibbett, D.S., Binder, M., Bischoff, J.F., et al. 2007. A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. **Mycol Res.**, 111:509–47.

- Horn, B.W., Dorner, J.W. 1999. Regional differences in production of aflatoxin B1 and Cyclopiazonic Acid by soil isolates of *Aspergillus flavus* along a transect within the United States, **Appl Environ Microbiol.**, Apr, 65 (4) : 1444-9.
- Hosid, E., Grishkan, I., Frenkel, Z., Wasser, S.P., Nevo, E., Korol, A. 2008. Diversity of microsatellites in natural populations of ascomycetous fungus, *Emericella nidulans*, in Israel on local and regional scales. **Mycol Progress**, 7:99– 109.
- Iamanaka, BT., Menezes, C.H., Vicente, E., Leite, R.S.F. and Taniwaki, M.H. 2007. Aflatoxigenic fungi and aflatoxins occurrence in sultanas and dried figs commercialized in Brazil. **Food Control**, 18: 454-457.
- Işın, F., Çukur, T., Armağan, G., 2007. Factors affecting the adoption of the organic dried fig agriculture system in Turkey. **Journal of applied sciences**, 7 (5): 748-754.
- İşman, B. ve Bıyık, H. 2009. The aflatoxin contamination of fig fruits in Aydin city (Turkey). **Journal of Food Safety**, 29 (2):318–330.
- Juan, C., Zinedine, A., Molto, J.C., Idrissi, L. and Manñes, J. 2008. Aflatoxins Levels in Dried Fruits and Nuts from Rabat-Sale' Area. **Food Control**, 19:849–853.
- Karaca, H. 2005. Kuru incirlerin aflatoksin, patulin, ergosterol içeriği ve farklı koşullarda aflatoksinlerin parçalanma düzeyleri, (Yüksek Lisans Tezi), Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı.
- Karaca, H., Nas, S.M. 2006. Aflatoxins, patulin and ergosterol contents of dried figs in Turkey, **Food Additives and Contaminants**, 23(5): 502–508.
- Klick, M.A. 2002. Identification of Common *Aspergillus* Species. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht.
- Kumeda, Y. ve Asao, T. 1996. Single-strand conformation polymorphism analysis of PCR-amplified ribosomal DNA internal transcribed spacers to differentiate species of *Aspergillus* section Flavi, **Appl. Environ. Microbiol.**, 62: 2947-2952.
- Lamb, B.C, Saleem, M, Scott, W., Thapa, N., Nevo, E. 1998. Inherited and environmentally induced differences in mutation frequencies between wild strains of *Sordaria fimicola* from “ Evolution Canyon”. **Genetics**, 149:87– 99.

- Leong, S.L. 2005. Black *Aspergillus* species: implications for ochratoxin A in Australian grapes and wine. PhD thesis, Discipline of Plant and Pest Science, School of Agriculture and Wine, University of Adelaide, Australia.
- Leslie, JF. 1996. Fungal vegetative compability-Promises and prospects. **Phytoparasitica**, 24(1): 3-6.
- Lutzoni F., Kauff, F., Cox, C.J., Rossman, A.Y. 2004. Assembling the fungal tree of life: progress, classification, and evolution of subcellular traits, **American Journal of Botany**, 91(10):1446-1480.
- Mcdonald, Bruce A. 1997. The Population Genetics of Fungi: Tools and Techniques. Population Genetics of Soilborne Fungal Plant Pathogens Symposium. **The American Phytopathological Society**, 87(4).
- Meçik, N. 2007. Kuru incirde aflatoksin varlığının belirlenmesi. İTU, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, syf 19.
- Nielsen, K. and Heitman, J. 2007. Sex and virulence of human pathogenic fungi. **Adv Gen.**, 57: 143-67.
- Oruç, H.H. 2005. Mikotoksinler ve Tanı Yöntemleri, Uludag Univ. **J. Fac. Vet. Med.**, 24 (1-2-3-4): 105-110
- Özay, G., Alperden, İ. 1991. Kuru İncirlerde (*Ficus caria* L.) Aflatoksin ve Okratoksin A Oluşumu. Gıda Sanayi 1991/24 s.57-62.
- Özay, G., Aran, N. and Pala, M. 1995. Influence of Harvesting and Drying Techniques on Microflora and Mycotoxin Contamination of Figs. **Die Nahrung**, 39:156–165.
- Pal K., van Diepeningen, A.D, Varga, J, Hoekstra, R.F, Dyer, P.S, Debets, A.J. 2007. Sexual and vegetative compatibility genes in the *aspergilli*. **Stud Mycol.**, 59:19-30.
- Paoletti M., Rydholm, C., Schwier, E.U, Anderson, M.J, Szakacs, G., Lutzoni, F., Debeaupuis, J.P, Latgé, J.P, Denning, D.W, Dyer, P.S. 2005. Evidence for sexuality in the opportunistic fungal pathogen *Aspergillus fumigatus*. **Current Biology**, 15:1242–1248.
- Park, D.L., Ayala, C.E., Guzman-Perez, S.E., Lopez-Garcia, E., Trujillo, S. 2001. Microbial Toxins in Foods: Algal, Fungal and Bacterial. In Food Toxicology, Edited by W. Helferich, C. K. Winter, CRC Press, N.W. Corporate Blvd., Boca Raton, Florida 33431. USA, 219p.
- Park, D., July, 22-26, 2002. Mycotoxin control-regulations. In Int. Workshop on Mycotoxin. FDA and JIFSAN, University of Maryland, USA.

- Peakall, R., Smouse, P.E. 2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. **Molecular Ecology Notes**, 6: 288–295.
- Pekarek, E., Jacobson, K., Donovan, A. 2006. High Levels of Genetic Variation Exist in *Aspergillus niger* Populations Infecting *Welwitschia mirabilis* Hook. **Journal of Heredity**, May-Jun, 97(3):270-8.
- Pontecorvo, G. 1956. The parasexual cycle in fungi. **Annual Review of Microbiology**, 10:393–400.
- Prasad, M., Varshneyr, K., Roy, J.K., Balyan, H.S., Gupta, P.K. 2001. The use of microsatellites for detecting DNA polymorphism, genotype identification and genetic diversity in wheat. **Theor Appl Genet.**, 100:584–592.
- Quillien, J.F. 2002. Mycotoxins. <http://www.fevia.be/pdf/FLAIR%20FLOW%20ON E%20PAGERS/Synthese/mycotoxins.pdf>. Accessed 20 May 2005.
- Rodrigues, P., Soares, C., Kozakiewicz, Z., Paterson, R.R.M., Lim, a N., Venancio, A. 2007. Identification and characterization of *Aspergillus flavus* and aflatoxins. Communicating current research and educational topics and trends in applied microbiology A.Mendez-Vilas (Ed.).
- Rousset, F. 2008. Genepop'007: a complete reimplementation of the Genepop software for Windows and Linux. **Mol. Ecol. Resources**, 8: 103-106.
- Sabuncuoğlu, S.A., Baydar, T., Giray, B., Ahin, G. 2008. Mikotoksinler: toksik etkileri, degradasyonları, oluşumlarının önlenmesi ve zararlı etkilerinin azaltılması. **Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi**, 28(1): 63-92.
- Saleem, M., Lamb, B.C, Nevo, E. 2001. Inherited differences in crossing over and gene conversion frequencies between wild strains of *Sordaria fimicola* from “Evolution Canyon”. **Genetics**, 159:1573–1593.
- Samson, R.A., Hoekstra, E.S. and Frisvad, J.C. 2004. Introduction to Food-and Airborne Fungi, Laboratory Manual Series 2, **Food and Indoor Fungi**, 389pp.
- Sarıgül, N. 2000. Çekirdeksiz Kuru Üzümlerde Potansiyel Okratoksijenik Küflerin İzolasyonu ve İdentifikasyonu, E. Ü. Fen Bil. Enst. Mikrobiyoloji A.B.D., Yüksek Lisans Tezi, 129.
- Schroeder, H.W., Boller, R.A. 1973. Aflatoxin production of species and strains of the *Aspergillus flavus* group isolated from field crops. **Appl. Microbiol.**, 25:885–9.

- Şenyuva, H.Z., Gilbert, J., Özcan, S., Ulken, U. 2005. Survey for co-occurrence of ochratoxin A and aflatoxin B1 in dried figs in Turkey by using a single laboratory-validated alkaline extraction method for ochratoxin A. **Journal of Food Protection**, 68:1512–1515.
- Şenyuva, H.Z., Gilbert, J., Samson, R.A., Özcan, S., Öztürkoğlu, Ş. and Önal, D. 2008. Occurrence of fungi and their mycotoxins in individual Turkish dried figs, **World Mycotoxin Journal**, 1(1): 79-86.
- Sharman, M., Patey, A. L., Bloomfield, D.A. and Gilbert J. 1991. Surveillance and Control of Aflatoxin Contamination of Dried Figs and Fig Paste Imported into the United Kingdom. **Food Addit. Contam.**, 8 : 299–304.
- Sime, D.A., Abbotti L.L., Abbotti S.P. 2002. A mounting medium for use in indoor air quality spore-trap analyses. **Mycologia**, 94(6):1087–1088.
- Soyoz, M., Özçelik, N. 2002. Okratoksin A'nın Toksik Etkileri ve Eliminasyonu, **T. Klin. J. Med. Sci.**, 22:421.
- Sudini, H.K. 2009. Soil microbial community structure and aflatoxin contamination of peanuts, Volume: PhD, Publisher: Auburn University, Pages: 116.
- Sultan, Y. and Magan, N. 2010. Mycotoxigenic fungi in peanuts from different geographic regions of Egypt, **Mycotoxin Research**, 26:133-140.
- Şenyuva, H.Z., Gilber, T.J., Samson, R.A., Özcan, S., Öztürkoğlu, Ş. and Önal, D. February 2008. Occurrence of fungi and their mycotoxins in individual Turkish dried figs, **World Mycotoxin Journal**, 1(1): 79-86.
- Taylor, J.W., Geiser, D.M., Burt, A., Koufopanou, V. 1999. The Evolutionary Biology and Population Genetics Underlying Fungal Strain Typing. **Clinical Microbiology Reviews**, Jan. 1999, p. 126–146.
- Tran-Dinh, N., Pitt, J.I., Carter, D.A. 1999. Molecular genotype analysis of natural toxigenic and nontoxigenic isolates of *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus*. **Mycological Resources**, 103: 1485–1490.
- Tran-Dinh, N., Kennedy, I., Bui, T., Carter, D. 2009. Survey of Vietnamese Peanuts, Corn and Soil for the Presence of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*, **Mycopathologia**, 168:257–268.
- Tran-Dinh, N., Pitt, J.I., Carter, D.A. 1999. Molecular genotype ana-lysis of natural toxigenic and nontoxigenic isolate of *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus*. **Mycological Research**, 103: 1485 –1490.



- Tunail, N. 2000. Funguslar ve Mikotoksinler. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. 2000. Genişletilmiş 2. Baskı; Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü yayını. Sim Matbaası, Ankara, 522 s., 03. Bölüm, 13. Kısım.
- Turner, P.C., McLennan, A.G., Bates, A.D., White, M.R.H. 2004. Moleküler Biyoloji Önemli Notlar. Nobel Yayın, 613: 346 s.
- Türk Gıda Kodeksi. 2008. Gıda Maddelerindeki Bulaşanların Maksimum Limitleri Hakkında Tebliğ, Resmi Gazete, 17.05.2008- 26879, Tebliğ No: 2008/26.
- Ünlütürk, A., Turantaş, F. 1998. Gıda Mikrobiyolojisi. **Ege Üniversitesi Yayınları**, 1. Baskı, İzmir.
- Var, I., Evliya, B., Zorlugenç, B., Duman, A.D. 2001. Kuru incirlerde küf izoalsyonu ve tanımlanması ve aflatoksin belirlenmesi, **Çukurova Univ. Ziraat Fakültesi Dergisi**, 16 (1): 61-66.
- World health organization international agency for research on cancer (WHO). 1993a. Aflatoxins: naturally occurring aflatoxins (Group 1), aflatoxins M1 (Group 2B)., **Int Agency Res Cancer**, 56: 245.
- Zorlugenç, B., Zorlugenç, F.K., Öztekin, S. ve Evliye, I.B. 2008. The Influence of Gaseous Ozonated Water on Microbial Flora and Degradation of Aflatoxin B1 in Dried Figs. **Food Chem. Toxicol.**, 46 :3593-3597.



## ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Yasemin SERTEL  
Doğum Yeri ve Tarihi : İzmit/ 21.10.1984

### EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Adnan Menderes Üniversitesi  
Yüksek Lisans Öğrenimi : Adnan Menderes Üniversitesi  
Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

### BİLİMSEL FAALİYETLERİ

#### a) Bildiriler

##### - Uluslar arası

- M. Özteber, Y. Sertel, G. Başbülbül Özdemir. 2011. Isolation and identification of lactic acid bacteria from fermented dairy products and boza in Aydın. Current Opinion in Biotechnology, Vol.22, Suppl.1, S94,
- Yasemin Sertel, Fevzi Bardakçi, H. Halil Biyik. 2012. Determination of genetic diversity among aflatoxigenic *A. flavus* strains isolated from dried figs in Aydın. New Biotechnology, Volume29, Supplement, 23–26 September 2012, Page S130.
- H. Halil Biyik, Esin Poyrazoğlu Çoban, Gamze Başbülbül Özdemir, Merve Yavuz, Yasemin Sertel. 2012. Screening of antibacterial effects of isolated microfungi. New Biotechnology, Volume 29, Supplement, 23–26 September 2012, Page S230.
- Y. Sertel. 2009. *Bacillus thrungiensis*'in transgenik tarımda kullanımı ve önemi. 2. Entomopatojeler ve Mikrobiyal Mücadele Sempozyumu, Sözlü sunum.

##### -Ulusal

- Y. Sertel, H. Biyik, G. Başbülbül, Fermente Süt Ürünleri ve Bozadan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Antibakteriyal Madde Üretimlerinin Araştırılması. 2010. 20. Ulusal Biyoloji Kongresi, 21-215, Denizli, Türkiye, Bildiriler Kitabı Syf: 956
- Y. Sertel, Ç. Yamaner, G. Aslan, E. Poyrazoğlu Çoban, H. Biyik. 2011. “Assessment of Waste Figs as Sugar Source in Production of Citric Acid”, V.Ulusal Veteriner Biyokimya ve Klinik Biyokimya Kongresi, Kongre Özet Kitabı, 68, Aydın, (Özet olarak basılı).

#### b) Katıldığı Projeler

- Aydın'daki Kuru İncirlerden İzole Edilen *Aspergillus* Türlerinin Genetik Karakterizasyonu, TÜBİTAK Projesi 111T620, Bursiyer, 2011-2012.

- Bıyık, H., Sertel, Y., Bardakçı F. ,“Aydın yöresindeki kuru incirlerden (*Ficus carica* L.) *Aspergillus*’ların morfolojik ve genetik karakterizasyonu”, Adnan Menderes Üniversitesi, BAP-FEF 1107, 2010.

**İLETİŞİM**

E-posta Adresi : yasemin\_sertel@hotmail.com  
Tarih : 12.08.2012