

T.C
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
TEMEL VE ENDÜSTRİYEL MİKROBİYOLOJİ BİLİM DALI

BİNA DIŞI HAVADAN İZOLE EDİLEN
MİKROFUNGUSLARIN HEMOLİTİK VE
ENZİMATİK AKTİVİTELERİ YÖNÜNDEN
ARAŞTIRILMASI

Gunay GASIMOVA

Danışman
Prof. Dr. Fatih KALYONCU
Dr. Emine ALTINKAYA

MANİSA- 2025

TAAHHÜTNAME

Bu tezin Manisa Celal Bayar Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dalında akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek tezde yer aldığını, tamamen kendi çalışmam olduğunu, her alıntıya kaynak gösterdiğimi, tezin yazımında akademik ve etik kurallara aykırı herhangi bir yapay zeka ve program kullanmadığımı beyan ederim.

Gunay GASIMOVA



ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

Gunay GASIMOVA
Manisa Celal Bayar Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Fatih KALYONCU

İkinci Danışman: Dr. Emine ALTINKAYA

Bu çalışma ile Manisa İli, Yunusemre ilçesindeki beş istasyondan bina dışı havasal mikrofungus izolasyonu yapılarak, bu fungusların tanımlanması, üç farklı enzim açısından taranması ve hemolitik aktivitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Mikrofungus izolasyonu 2023 yılı Ekim ayı ile 2024 yılı Temmuz ayları arasında gravimetrik yöntem ile gerçekleştirilmiştir. Çalışma kapsamında 200 petri kabında toplam 4694 mikrofungus kolonisi sayılmış, tanımlama işlemleri neticesinde de 9 genusa ait 20 tür teşhis edilmiştir. Tespit edilen tür sayılarının çokluğuna göre ilk dört genus sırasıyla *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria* ve *Cladosporium* dur.

İzolasyonu yapılan mikrofunguslar amilaz, lipaz ve proteaz enzimlerini üretme potansiyellerini belirlemek için petri kabında tarama testlerine tabi tutulmuşlardır. Ayrıca önemli bir virülans faktörü olan hemolitik aktivite yönünden de kanlı agar besiyerinde gelişimleri incelenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Manisa, mikrofungus, hemolitik aktivite, amilaz, lipaz, proteaz

2025, 83 sayfa

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

Gunay GASIMOVA
Manisa Celal Bayar University
Graduate School of Education
Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Fatih KALYONCU

Co-Supervisor: Dr. Emine ALTINKAYA

This study aimed to isolate indoor airborne microfungi from five stations in Manisa Yunusemre district, identify these fungi, screen them for three different enzymes, and determine their hemolytic activity. The microfungal isolation was carried out using the gravimetric method between October 2023 and July 2024. A total of 4694 microfungal colonies were counted in 200 petri dishes, and 20 species belonging to nine genera were identified as a result of the identification. The top four genera identified by the highest number of species were *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, and *Cladosporium*, respectively.

The isolated microfungi were subjected to screening tests in petri dishes to determine their potential to produce amylase, lipase, and protease enzymes. Their growth was also examined on blood agar for hemolytic activity, an important virulence factor.

Keywords: Manisa, microfungi, hemolytic activity, amylase, lipase, protease

2025, 83 pages

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgi, deneyim ve destekleriyle bana yol gösteren, çalışma konumu önererek tüm tez sürecinde güler yüzü, derin bilgi birikimi, motive edici yaklaşımı, sabrı ve anlayışıyla her zaman yanımda olan değerli danışmanım Prof. Dr. Fatih KALYONCU'ya en içten teşekkürlerimi sunarım.

Eş danışmanım Dr. Emine ALTINKAYA'ya, pozitif enerjisi, güler yüzlü yaklaşımı, bilgi ve tecrübesiyle deneysel süreçlerde sağladığı katkılardan dolayı gönülden teşekkür ederim.

Mikrofungusların PCR işlemlerinde bilgi ve deneyimlerinden faydalandığımız Prof. Dr. Mustafa OSKAY'a katkıları için teşekkür ederim.

Laboratuvarıda birlikte geçirdiğimiz üç yıl boyunca cihazların kullanımı, örneklerin tanımlanması, fotoğraflanması ve PCR çalışmalarının yürütülmesinde doğrudan destek sağlayan Dr. Çiğdem YÜKSEL DEMİRCİ'ye emekleri ve sabrı için teşekkürü borç bilirim. Çalışmalarım sırasında yardımcı olan Dr. Dilek ŞEKER'e teşekkür ederim.

Eğitim hayatım boyunca bana maddi ve manevi destek olan, kıymetli aileme, canım abim Dr. Omar GASIMOV'a ve her daim yanımda olduklarını hissettiren Uzman Dr. Haldun ALİLİ ile eşi Dr. Günay ALİLİ'ye ve sevgili arkadaşım Dr. Vüsale MEHERREMLİ'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABPA	Alerjik Bronkopulmoner Aspergillozis
CZA	Czapek-Dox Agar
CA	Columbia Agar
LCB	Lactofenol Cotton Blue
MEA	Malt Extract Agar
PDA	Potato Dextrose Agar
RBCA	Rose Bengal Cloramfenicol Agar
SBS	Sick Building Syndrome
VOC's	Volatile Organic Compounds

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 3.1. İstasyonların uydu görüntüsü	14
Şekil 4.1. İstasyonlara göre fungal koloni sayılarının mevsimsel dağılımı	23
Şekil 4.2.1.1. <i>Alternaria alternata</i> 'nın koloni görünümü ve konidiumları	25
Şekil 4.2.1.2. <i>Alternaria citri</i> 'nin koloni görünümü ve konidiumları	26
Şekil 4.2.1.3. <i>Alternaria tenuissima</i> 'nın koloni görünümü ve konidiumları	27
Şekil 4.2.1.4. <i>Aspergillus flavus</i> 'un koloni görünümü ve konidial baş yapısı	28
Şekil 4.2.1.5. <i>A. fumigatus</i> 'un koloni görünümü ve konidial baş yapısı	29
Şekil 4.2.1.6. <i>Aspergillus niger</i> 'in koloni görünümü ve konidial baş yapısı	30
Şekil 4.2.1.7. <i>Aspergillus wentii</i> 'nin koloni görünümü ve konidial baş yapısı	31
Şekil 4.2.1.8. <i>C. cladosporioides</i> 'in koloni görünümü ve konidiumları	32
Şekil 4.2.1.9. <i>Cladosporium herbarum</i> 'un koloni görünümü ve konidiumları	33
Şekil 4.2.1.10. <i>Cladosporium oxysporum</i> 'un koloni görünümü ve konidiumları	34
Şekil 4.2.1.11. <i>Curvularia hawaiiensis</i> 'in koloni görünümü ve konidiumları	35
Şekil 4.2.1.12. <i>Epicoccum nigrum</i> 'un koloni görünümü ve konidiumları	36
Şekil 4.2.1.13. <i>F. proliferatum</i> 'un koloni görünümü ve makrokonidiumları	37
Şekil 4.2.1.14. <i>P. brevicompactum</i> 'un koloni görünümü ve penisilli yapısı	38
Şekil 4.2.1.15. <i>Penicillium glabrum</i> 'un koloni görünümü ve penisilli yapısı	39
Şekil 4.2.1.16. <i>Penicillium italicum</i> 'un koloni görünümü ve penisilli yapısı	40
Şekil 4.2.1.17. <i>Penicillium verrucosum</i> 'un koloni görünümü ve penisilli yapısı	41
Şekil 4.2.1.18. <i>Penicillium pinophilum</i> 'un koloni görünümü ve penisilli yapısı	42
Şekil 4.2.1.19. <i>Rhizopus oryzae</i> 'nin koloni görünümü ve sporangium yapısı	43
Şekil 4.2.1.20. <i>Trichoderma viride</i> 'nin koloni görünümü ve konidiumları	44
Şekil 4.2.2.1. <i>Alternaria citri</i> 'nin alfa hemoliz görüntüsü	46
Şekil 4.2.2.2. <i>Aspergillus fumigatus</i> 'un alfa hemoliz görüntüsü	46
Şekil 4.2.2.3. <i>Cladosporium cladosporioides</i> 'in beta hemoliz görüntüsü	47
Şekil 4.2.2.4. <i>Penicillium glabrum</i> 'un beta hemoliz görüntüsü	47
Şekil 4.2.2.5. <i>Penicillium italicum</i> 'un beta hemoliz görüntüsü	48
Şekil 4.2.2.6. <i>Penicillium pinophilum</i> 'un beta hemoliz görüntüsü	48
Şekil 4.2.2.7. <i>Fusarium proliferatum</i> 'un gama hemoliz görüntüsü	49
Şekil 4.2.3.1. Amilaz kontrol besiyeri görünümü	51
Şekil 4.2.3.2. <i>Alternaria alternata</i> 'nin amilaz aktivitesi görünümü	51
Şekil 4.2.3.3. <i>Alternaria citri</i> 'nin amilaz aktivitesi görünümü	51
Şekil 4.2.3.4. <i>Penicillium brevicompactum</i> 'un amilaz aktivitesi görünümü	51
Şekil 4.2.4.1. <i>Cladosporium oxysporum</i> 'un proteaz aktivitesi görüntüsü	53
Şekil 4.2.4.2. <i>Penicillium glabrum</i> 'un proteaz aktivitesi görüntüsü	53
Şekil 4.2.4.3. <i>Aspergillus wentii</i> 'nin proteaz aktivitesi görüntüsü	54
Şekil 4.2.5.1. <i>Curvularia hawaiiensis</i> 'in lipaz aktivitesi görüntüsü	56
Şekil 4.2.5.2. <i>Trichoderma viride</i> 'nin lipaz aktivitesi görüntüsü	56
Şekil 4.2.5.3. <i>Aspergillus fumigatus</i> 'un lipaz aktivitesi görüntüsü	56
Şekil 4.2.5.4. <i>Penicillium pinophilum</i> 'un lipaz aktivitesi görüntüsü	56
Şekil 4.2.6.1.1. PCR Ürünlerinin Agaroz Jel Görüntüsü	57
Şekil 4.2.6.2.2. Tanımlanan Mikrofungusların Tıp Türleri ve Evrimsel ilişkileri	59

TABLÖLER DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 3.1. İstasyon isimleri ve koordinatları	13
Tablo 3.2. Örnekleme yapılan günlere ve aylara ait ortalama sıcaklık ve Nem değerleri ve yağışlı gün sayıları	15
Tablo 3.5.1. PCR ile ürün eldesi için belirlenen koşullar	21
Tablo 3.5.2. PCR Reaksiyonu bileşenleri ve konsantrasyonları	21
Tablo 4.1. Mevsimlere ve istasyonlara göre fungusların görülme sıklığı	24
Tablo 4.2.2.1. Tanımlanan mikrofungusların hemolitik aktiviteleri değerleri	45
Tablo 4.2.3.1. Tanımlanan fungusların amilaz aktivite değerleri	50
Tablo 4.2.4.1. Tanımlanan fungusların proteaz aktivite değerleri	52
Tablo 4.2.5.1. Tanımlanan fungusların amilaz aktivite değerleri	55
Tablo 4.2.6.2.1. ITS1-5.8S-ITS2 rRNA Dizilerinin Gen Bankası Verileri ile Karşılaştırılması	58

İÇİNDEKİLER

ÖZET	ii
ABSTRACT	iii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
TABLolar DİZİNİ	vii
İÇİNDEKİLER	viii
GİRİŞ	1

BİRİNCİ BÖLÜM GİRİŞ

İKİNCİ BÖLÜM LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. Enzimler	8
2.1.1. Amilazlar	8
2.1.1.1. Ekzoamilazlar	9
2.1.1.2. Endoamilazlar	9
2.1.1.3. Dallanma Kırıcı Enzimler	9
2.1.1.4. Transferazlar	9
2.1.2. Proteazlar	9
2.1.3. Lipazlar	10
2.1.4. Hemolitik Aktivite	10

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM MATERYAL – YÖNTEM

3.1. Çalışma Alanı	13
3.2. Yöntem	15
3.2.1. Çalışmada Kullanılan Besiyerleri ve Çözeltiler	16
3.3. Hemoliz Tiplerinin Belirlenmesi	19
3.4. İzole Edilen Fungus Türlerinin İdentifikasyonu	19
3.5. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ve Gen Amplifikasyonu	20
3.6. Sekans Verilerinin Analizi, Gen Bankasındaki Dizilerle Karşılaştırılması ve Filogenetik Dendogramların Oluşturulması	22

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

BULGULAR

4.1. Genel Bulgular	23
4.2. Hava Örneklerinden İzole Edilip Tanımlanan Fungus Türleri	25
4.2.1. Tanımlanan Mikrofungusların Deskripsiyonu	25
4.2.1.1. <i>Alternaria alternata</i>	25
4.2.1.2. <i>Alternaria citri</i>	26
4.2.1.3. <i>Alternaria tenuissima</i>	27
4.2.1.4. <i>Aspergillus flavus</i>	28
4.2.1.5. <i>Aspergillus fumigatus</i>	29
4.2.1.6. <i>Aspergillus niger</i>	30
4.2.1.7. <i>Aspergillus wentii</i>	31
4.2.1.8. <i>Cladosporium cladosporoides</i>	32
4.2.1.9. <i>Cladosporium herbarum</i>	33
4.2.1.10. <i>Cladosporium oxysporum</i>	34
4.2.1.11. <i>Curvularia hawaiiensis</i>	35
4.2.1.12. <i>Epicoccum nigrum</i>	36
4.2.1.13. <i>Fusarium proliferatum</i>	37
4.2.1.14. <i>Penicillium brevicompactum</i>	38
4.2.1.15. <i>Penicillium glabrum</i>	39
4.2.1.16. <i>Penicillium italicum</i>	40
4.2.1.17. <i>Penicillium verrucosum</i>	41
4.2.1.18. <i>Penicillium pinophilum</i>	42
4.2.1.19. <i>Rhizopus oryzae</i>	43
4.2.1.20. <i>Trichoderma viride</i>	44
4.2.2. Mikrofungusların Hemolitik Aktiviteleri	45
4.2.3. Mikrofungusların Amilaz Aktiviteleri	50
4.2.4. Mikrofungusların Proteaz Aktiviteleri	52
4.2.5. Mikrofungusların Lipaz Aktiviteleri	55
4.2.6. Seçilen Mikrofungusların Moleküler İdentifikasyonu	57
4.2.6.1. ITS1-5.85-ITS2 rRNA Gen Bölgesinin	57
PCR Amplifikasyonu	

4.2.6.2. ITS1-5.8S-ITS2 rRNA Gen Dizi Verilerinin Analizi, Gen Bankasındaki Sıralarla Karşılaştırılması ve Filogenetik Dendogramın Oluşması	58
--	-----------

BEŞİNCİ BÖLÜM	
TARTIŞMA – SONUÇ	60

ALTINCI BÖLÜM	
KAYNAKLAR	66



1. GİRİŞ

Funguslarla insanların etkileşimi çok eski zamanlara dayanmaktadır. Mikroskopun keşfi ile bilim insanları fungusların morfolojik yapıları ve gelişimleri hakkında bir çok bilgi elde etmişlerdir. Genel olarak 1.500.000 fungus türünün bulunduğu düşünülmesine rağmen sadece 120.000 kadarının keşfedildiği ve tanımlamasının yapıldığı bilinen bir gerçektir. Bu durum fungal alemin, canlı alemleri arasında en az keşfedileni olduğunu göstermektedir (Webster, 2006). Funguslar kozmopolit organizmalardır ve dünya üzerindeki tüm iklim kuşaklarında çeşitli substratlar üzerinde bulunmaktadır (Kirtsideli et al. 2017).

Dünya atmosferi gazların yanı sıra, polenler, fungal sporlar, bakteri ve virüsler de dahil çeşitli mikroorganizmalara ev sahipliği yapmaktadır (Bhattacharjee et al. 2012). Mikroorganizmaların bir yerden başka bir yere taşınması için en önemli araç havadır (Atik ve Tamer, 1994). 1860'lı yıllarda Pastör'ün, mikroorganizmaların cansız maddelerden kendiliğinden oluştuğu fikrini reddeden deneyleri, atmosferde mikroorganizmaların varlığını ortaya koymuştur. Havadaki mikroorganizmaların çeşitliliği ve konsantrasyonu konum ve rakımla bağlantılıdır (Smith et al. 2009).

Fungusların hava içerisinde yaşamlarını sürdürebilmelerini hidrofobin olarak isimlendirilen proteinler sağlamaktadır ve bunların yirmiye yakını tanımlanmıştır. Hidrofobinler, fungusların bünyelerinde bulunan suyu koruyarak dış ortam havası ile funguslar arasındaki nem dengesini sağlamaktadırlar (Talbot, 1997). Atmosferde bulunan fungal partiküller hava ile taşınarak bitkiler üzerinde çeşitli hastalıklara sebep olabilirler, aynı zamanda solunum yolu ile insan ve hayvanların bünyesine alınırlar (Burik and Magee, 2001). Dış ortamda bulunan funguslar hava akımı ile bina içerisine taşınırlar (Chao, 2002). Günlük ısı değişimleri iç ve dış mekan havasındaki mikrofungus miktarını etkileyen faktörlerden biridir. Funguslara ait görülme sıklığı cinsler arasında farklılık gösterir. Havada *Cladosporium* konidileri gündüz saatlerinde, *Sporobolomyces* ve *Epicoccum* konidileri ise akşam saatlerinde daha çok bulunur. *Alternaria*, *Penicillium*, *Nigrospora*, *Curvularia* ise gündüz dış ortamlarda çok rastlanır. *Aspergillus* ve *Penicillium* cinsine ait olan türler genellikle Mart ve Kasım aylarında atmosferde maksimum yoğunluğa ulaşırlar. Aynı zamanda doğal gübreler içerisinde sıkça rastlanan *Aspergillus glaucus*, *A. clavatus*, *A. flavus* gibi

mikrofunguslar saksı toprağında gelişim gösterir, bina içi atmosfere geçer ve yoğun bir kirlilik oluşturabilirler (Özyaral, 2003).

Funguslar bina içerisine girdikten sonra kolayca çoğalabilecekleri değişik ortamlara yerleşirler. Ortamda sıcaklık, nem ve besin kaynağı olması mikrofungusların üreyebilmesi için uygun koşulları sağlar. Özellikle nemli duvarlar, karanlık köşeler, banyo dolapları, kaplama malzemeleri, duvar kağıtları, ahşap kaplama ve döşemeler gibi malzemeler fungusların gelişebileceği ortamlardır (Morey, 2007). İç mekan havasının mikrobiyotası, neredeyse her bina ve tesiste biyoaerosollerin önemli bir parçasıdır ve hem bina yapısının bozulmasını hem de insan sağlığını etkileyebilir (Gravesen, 1979). Funguslar tarafından üretilen uçucu organik bileşikler (VOC's) yaşam alanlarının hava kalitesini olumsuz etkilemektedirler (Fischer and Dott, 2003). Uçucu organik bileşiklerin neden olduğu fungus kokusu insanlarda “istenmeyen kötü koku sendromu” nun (kakosmi) gelişmesine neden olmakta ve aynı zamanda kronik yorgunluk ve isteksizlik görülmektedir (Özyaral, 2003). Fungal ajanların insan sağlığına etki yolları üç ana başlık altında sınıflandırılmaktadır. Söz konusu etkiler, enfeksiyon gelişimi, alerjik duyarlılık ve toksisitedir. İnhalasyon ile akciğer dokusuna kadar ilerleyen fungal sporlar, elverişli ortamlarda kolonize olarak *aspergillozis* ya da *mukormikozis* benzeri hastalık tablolarına neden olabilmektedir (Burik and Magee, 2001). Alerjik Bronkopulmoner Aspergillozis (ABPA), *Aspergillus fumigatus*'un sebep olduğu ve dünyada 4 milyondan fazla insanı etkisi altına alan bir akciğer hastalığıdır. *A. fumigatus* sporlarının boyutları 2,0-3,0 µm arasında değişiklik gösterdiği için sporlar kolayca taşınabilirler. Ayrıca, *A. fumigatus* kolay ve hızlı üreme kapasitesine sahip olmasından dolayı insan solunum yolu her zaman ABPA enfeksiyonuna açık durumdadır (Latgé, J. P, 2001).

Alerjik hastalıklar toplumda her yaş grubundan çok sayıda kişiyi etkileyen ve zaman içerisinde hasta sayısında ciddi artış gösteren önemli bir sağlık problemidir. Sanayileşmenin hızlanmasıyla birlikte atmosfer kirliliği de artış göstermiş ve bu da allerjik hastalıkların dünya üzerinde artış göstermesine sebebiyet vermiştir. Alerji, genetik yolla aktarılır ve bir çok çevresel faktörün etkisi altında ortaya çıkabilir. En önemli biyolojik faktörler arasında akarlar, polenler, fungus sporları bulunmaktadır. Funguslara karşı alerjik reaksiyonların sık görülmesinin başlıca sebebi insanların yaşadığı mekanlarda fungus yoğunluğunun artışıdır. Solunum havasının 1 m³'ünde 106 oranında fungus bulunması insanlarda ekstra rahatsızlıkların görülmesine neden

olmaktadır (Asan et al., 2002). Yeryüzünde alerjen özellik gösteren yaklaşık 50 fungus cinsine atmosferik örneklemelerde sıklıkla rastlandığı bildirilmiştir. Bu grupta *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Ganoderma*, *Mucor*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Trichoderma* ve *Ulocladium* gibi cinsler öne çıkmaktadır. Türkiye’de gerçekleştirilen çalışmalarda ise; Adana’da 34, Samsun’da 29, Kastamonu ve Ankara’da 35 farklı alerjen fungus cinsinin atmosferde varlığı saptanmıştır. Bu tespitlerde özellikle *Alternaria*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Nigrospora*, *Periconia* ve *Sporormiella* gibi türler daha yaygın olarak kaydedilmiştir. (Çeter et al., 2008).

Fungal duyarlılığı olan alerji hastalarında çeşitli klinik semptomlar rapor edilmiştir. Bu hastaların önemli bir bölümünde kas ağrıları (%71), halsizlik ve aşırı yorgunluk (%70), bilişsel işlev bozuklukları (%67), sinüzit ve baş ağrısı (%65) gibi şikâyetler görülmektedir. Ayrıca sindirim sistemi (%58) ve solunum sistemi (%54) ile ilişkili bozukluklar, depresyon (%54), hafıza kaybı (%46) ve nöropsikiyatrik sorunlar da sık bildirilen semptomlar arasındadır. Daha düşük oranlarda ise görme problemleri (%42), göğüs ağrısı ve sıkışma hissi (%42), uykusuzluk ve solunum problemleri (%40), sersemlik (%38), uyuşukluk ve larenjit (%35), mide bulantısı (%33), fibromiyalji (%29), cilt kızarıklıkları (%27), titreme ve kolon rahatsızlıkları (%25) ile kalp çarpıntısı (%21) gözlenmiştir. (Curtis et al., 2004).

Bu tez çalışması ile Manisa İli, Yunusemre ilçesinde bina dışı havadan izole edilen mikrofungusların tanımlanması, amilaz, lipaz ve proteaz enzimleri yönünden taranması ve hemolitik aktivite gösterip göstermediklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

Robert Koch, 1881 yılında gerçekleştirdiği çalışmada, içerisinde besiyeri bulunan petri kaplarını iç ve dış ortamlarda belirli sürelerle açık bırakarak hava örnekleri toplamış; ardından gelişen kolonileri inceleyerek mikroorganizmaların dağılımını ve yoğunluğunu ortaya koymuştur (Portnoy et al., 2004).

Alabama’da yürüttükleri çalışmada Louise ve Cason (1955), bir yıl boyunca havadan izole edilen fungusları değerlendirmiş; 468 petri plağı üzerinde toplam 4488 koloni tespit etmişlerdir.

Delhi’de atmosferik alerjenik fungus sporlarının incelendiği bir yıllık araştırmada Agarwal et al. (1969), elde edilen kolonilerin %85’inin *Aspergillus*, *Alternaria*, *Curvularia*, *Cladosporium* ve *Fusarium* cinslerine ait türlerden oluştuğunu bildirmiştir.

Williams et al. (1973), Toronto - Kanada’da bir yıllık süre boyunca atmosferik fungal türlerin dağılımını incelemişlerdir. Çalışma sonuçlarına göre, en yaygın olarak *Alternaria* ve *Hormodendrum* cinslerine ait türler tespit edilmiştir.

Macher et al. (1991), San Francisco – California ’da gerçekleştirdikleri iki yıllık araştırmada, yeni bir apartmanın iç ve dış mekanındaki hava kalitesini incelemişlerdir. Bulgular, iç mekandaki fungal yoğunluğun 198 cfu/m³, dış mekandaki yoğunluğun 362 cfu/m³ olduğunu göstermiştir.

1992 yılında Ayata ve Ekmekçi İzmir’in çeşitli bölgelerinde bina içi ve dışından fungal örneklemeler yapmış ve 140 petride toplam 1348 koloni saymışlardır.

Hjelmoors (1993), Stockholm’de gerçekleştirdiği çalışmada, 1980-1989 yılları arasında *Cladosporium* ve *Alternaria* cinslerine ait fungal spor yoğunluklarını belirleyerek dış mekan hava florası ile atmosferik parametreler arasındaki ilişkiyi araştırmıştır.

Li ve Kuo (1994) tarafından Tayvan’da yürütülen çalışmada, subtropik iklim koşullarına sahip mekanların havasındaki fungal türleri değerlendirmiştir. *Aspergillus*, *Penicillium* ve *Cladosporium* cinslerine ait türlerin diğer fungal türlere oranla daha fazla olduğu bildirilmiştir.

Atik ve Tamer (1994), Eskişehir merkez ilçesinde yürütülen çalışmada, hava kirliliği kapsamında 360 petri üzerinde 4506 fungal koloni sayılmış ve 12 farklı cins izole edilmiştir.

Tamer et al. (1994) tarafından Manisa'nın merkez ilçesinde yürütülen çalışmada, atmosferdeki *Cladosporium* ve *Alternaria* cinslerinin spor yoğunlukları ile meteorolojik parametreler arasındaki ilişkiler araştırılmıştır. Çalışma neticesinde, cm² başına 3476 adet spor tespit edilmiştir.

Romero et al. (1999), Cordoba-İspanya'da yürütülen çalışmada, atmosferdeki *Alternaria* sporları ile meteorolojik parametreler arasındaki ilişkiler değerlendirilmiştir. Günlük ortalama 74,3 konidium/m³ *Alternaria* saptanmış olup, Spor yoğunluğunun hava sıcaklığı ile pozitif, yağış ile negatif yönde ilişkili olduğu belirlenmiştir.

Wilson et al. (2001) tarafından Kuzey Amerika'da gerçekleştirilen çalışmada, hasta bina sendromu (sick building syndrome) ile bağlantılı fungal türler araştırılmış ve *Penicillium chrysogenum* ile *Stachybotrys chartarum* türlerinin yaygın olarak gözlemlendiği belirlenmiştir.

Yazıcıoğlu et al. (2004) tarafından Edirne'de astımlı çocukların bulunduğu ortamlardaki havadaki fungal popülasyonu incelemiştir. Bulgular, *Cladosporium* cinsine ait türlerin hakim olduğunu ve çocukların %25,23'ünün bu fungal türlere karşı alerjik reaksiyon gösterdiğini saptamıştır.

Kalyoncu (2004) tarafından yürütülen çalışmada, 12 ay boyunca Manisa il merkezinde 11 dış mekan ve 4 iç mekan olmak üzere toplam 15 istasyondan her ay birer kez hava örnekleri alınmış ve Merck MAS 100 hava örnekleme cihazı kullanılmıştır. Çalışma boyunca 540 petri kullanılmış toplam 10323 fungus koloni sayılmış ve identifikasyon sonucunda 48 fungal tür teşhis edilmiştir. Elde edilen bulgular, Manisa il merkezindeki bina içi ve dışı havadaki fungal florasının mevsimsel değişimlerini ortaya koymaktadır.

Gelincik et al. (2005), İstanbul'da yürüttükleri çalışmada, bina içi fungal türlerin alerjik rinitli hastalar üzerindeki etkilerini incelemiş ve 10 cinsin dahil olduğu toplam 13 fungal türü izole etmişlerdir.

Özmay (2007), Adana'da 6 farklı istasyondan havasal fungusların izolasyonu, identifikasyonu, yoğunluğu, dağılımı ve alerjik hastalıklarla ilişkisini incelemiştir.

Şubat 2005-Ocak 2006 tarihleri arasında toplam 12 örnekleme gerçekleştirilmiş ve 3220 koloni izole edilmiştir. Elde edilen bulgular, 9 farklı fungal cinsin varlığını ortaya koymuş olup; bunların %44,5'i *Cladosporium*, %20'si *Penicillium*, %17'si *Aspergillus*, %5,4'ü *Alternaria*, %1,36'sı *Rhizopus*, %0,90'ı *Fusarium*, %0,55'i *Acremonium*, %0,27'si *Trichoderma* ve %0,03'ü *Chatemonium* olarak belirlenmiştir. Rutubetli binalarda sıkça izole edilen funguslar *Aspergillus*, *Pencillium*, *Cladosporium*, *Stachybotrys*, *Epicoccum*, *Ulacladium* olmuştur (Kaleli, 2007).

İmalı et al. (2008), Çorum'da yürütülen çalışmada, il merkezine bağlı 5 farklı mahallede bina içi ve bina dışı havadaki alerjen fungal sporların aylık dağılımları, 8 aylık bir süre boyunca değerlendirilmiştir. Neticede, 240 petri plağı incelenmiş, 2468 koloni sayılmıştır. Bu kolonilerin 642 (%26,02)'i iç mekan havasından, 1826'sı (%73,98) dış ortam havasından elde edilmiştir. Koloni yoğunluğunun en yüksek olduğu dönem, 814 (%34,0) koloni ile Ekim ayında belirlenmiştir. İdentifikasyon sonucunda toplam 23 cins (*Acremonium*, *Alternaria*, *Arthoderma*, *Aspergillus*, *Ceratocystis*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Fusarium*, *Geotrichum*, *Monilia*, *Mucor*, *Mycelia*, *Penicillium*, *Phialophora*, *Phoma*, *Pleospora*, *Rhizopus*, *Stachbotrys*, *Stemphylium*, *Scolecobasidium*, *Torula*, *Ulocladium*) tespit edilmiştir.

Codina et al. (2008) tarafından Florida'da yürütülen çalışmada, rutubet problemi olmayan iç mekanlarda yağış döneminde havadaki fungal sporlar değerlendirilmiş ve hem iç hem dış mekan havasında *Aspergillus*, *Penicillium* ve *Cladosporium* cinslerinin diğer fungus cinslerine göre daha fazla olduğunu saptamışlardır.

Haleem Khan et al. (2009) çeşitli iç mekanlardan izole edilen ve identifikasyonunu gerçekleştirdikleri fungal türlerin alerji testlerini yapmışlardır. Araştırma kapsamında, *Aspergillus niger*, *A. oryzae*, *A. fumigatus*, *A. terreus*, *A. nidulans*, *A. versicolor*, *A. parasiticus*, *Penicillium citrinum*, *Fusarium oxysporum*, *Trichoderma viride*, *Neurospora crassa* ve *Alternaria alternata* olmak üzere 12 türün izolasyonunu yapmışlardır. Bu çalışma ile iç ortamlardaki havalandırmaların fungusların yayılması üzerinde kritik rol oynadığı ve bu mekanlarda bulunan bireylerde alerjik semptomların ortaya çıkmasına katkıda bulunduğu sonucuna varılmıştır.

Kalyoncu (2010) tarafından Ocak 2004-Aralık 2005 tarihleri arasında Manisa’da şehir merkezinde 11 farklı istasyonda hava kaynaklı fungal alerjenler üzerinde sıcaklık, nem, rüzgarın etkilerini araştırmıştır. Merck MAS100 hava örnekleme cihazı ile 792 örnek almış ve toplam 12988 koloni saymıştır. Bunlardan 14 tanesi tanımlanmıştır. Sonuç olarak en yaygın olan genusların *Cladosporium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria* olduğu bildirilmiştir.

Uztan et al. (2010), İzmir’de şehir merkezine uzak konumdaki ilköğretim okullarında olan alerjik florayı incelemek amacıyla yaptıkları çalışmada, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria* ve *Cladosporium* cinslerini tespit etmişlerdir. Ek olarak, bu genusların okulda bulunan öğretmen ve öğrencilerde alerjiye neden olabileceğini düşünerek 55 öğretmene deri testi uygulanmış ve sonuç olarak 17 öğretmenin mikrofunguslara karşı hassas olduğu bulunmuştur.

Bhattacharjee et al. (2012), otobüs terminalinde yaptıkları örneklemeler sonucunda, *Aspergillus* cinsine ait 11 tür, *Cladosporium* cinsine ait 3 tür, *Curvularia*, *Fusarium* ile *Monilia* cinslerine ait 2 tür belirlemişlerdir. Spor yoğunluğuna bakıldığında *Cladosporium* cinsine ait spor sayısı toplam spor sayısının %20,7’sini oluşturmaktadır.

Kochar et al. (2014), Hindistan’ın Rohtak şehrinde iki yıl (2008 Mart – 2010 Şubat) boyunca hava örnekleri toplamışlardır. Araştırmada 45 farklı fungal spor belirlenmiş olup, en yüksek spor konsantrasyonları Şubat-Nisan ve Temmuz-Kasım aylarında gözlenmiştir. *Cladosporium*’un en yüksek konsantrasyonu %25,14 olarak kaydedilirken, *Alternaria* %18,05, *Aspergillus niger* %7,66, *Curvularia* %5,31 ve *Epicoccum*’un %5,29 olarak belirlenmiştir. Bazı atmosferik fungus türleri için deri testi uygulanarak alerjik yanıtlar değerlendirilmiştir. *Penicillium*, %17,3 ile en yüksek reaksiyona neden olmuştur. *Cladosporium herbarum* için %8 ve *Alternaria solani* için %3,3 pozitif sonuç elde edilmiştir.

Dallongeville et al. (2015), Britanny, Fransa’da 150 evden hava örnekleri toplamış ve yapılan analizler sonucunda, konutların %90’ından fazlasında *Cladosporium* ve *Penicillium* türlerine, %46’sında *Aspergillus* türlerine, %6’sında *Alternaria* türlerine rastlanmışlardır.

Kirtsideli et al. (2017), Arktik yerleşim bölgesi olan Tiksi’nin farklı yerleşim bölgelerindeki iç ve dış ortam havasından fungus izole etmiş ve açık alanlarda spor

konsantrasyonlarını en düşük, terk edilmiş binalarda ise spor konsantrasyonlarını en yüksek olarak saptamışlardır. Çalışmada bağışıklığı düşük olan insanlar için “mikrofungus” alerjisi hastalıkları riski olduğu sonucuna varılmıştır.

2.1. Enzimler

Enzimler, biyokimyasal reaksiyonları katalizleyen ve reaksiyonların maksimum verimle sonuçlanmasını sağlayan, hayvansal, bitkisel, mikrobiyal orijinli olabilen, aynı zamanda endüstrinin bir çok alanında geniş kullanım yelpazesine sahip olan düzenleyicilerdir. Kendileri hiç bir değişikliğe uğramadan reaksiyonların tepkime hızlarına etki ederler. Enzimler amino asit zincirlerinin katlanması sonucunda üç boyutlu yapıya sahip olan proteinlerdir. Onların birbirlerinden farklılaşmasını sağlayan kendilerine özgü olan amino asit dizilimleridir (Karaca, 2018).

Günümüzde 2000’den fazla enzim kaynağının olduğu bilinmekle birlikte, 100 tanesinin ticari kullanım için uygun olduğu, ama sadece 18 tanesinin endüstriyel amaçlar doğrultusunda kullanıldığı rapor edilmektedir. *Aspergillus sp*, *Penicillium sp*, *Trichoderma sp*, *Rhizopus sp*, enzim üretimi için gerekli özellikleri sağlayan ve aynı zamanda büyük bir pazar payına sahip olan fungal cinsler olarak öne çıkmaktadır. Endüstriyel uygulamalarda genellikle yüksek sıcaklıklarda stabilitesini koruyan enzimler tercih edilmektedir. Termofilik mikroorganizmalardan üretilen amilazlar endüstride büyük önem taşımaktadır (Tanrıseven et al., 2002).

Çok çeşitli substrat ve komplekslerin biyolojik dönüşümü için gerekli olan çok sayıda hücre içi ve hücre dışı enzim üretebilen funguslar doğanın ayrıştırıcıları olarak kabul edilir (Berbee, 2017). Fungal proteaz, amilaz, lipaz ve selülozlar ticari olarak en çok talep gören sınıflardır (Singh, 2016).

Amilolitik enzimler (α -amilaz, β -amilaz ve glukoamilaz) ve proteazlar (asit ve alkali proteazlar) tekstil, kağıt, gıda prosesleri, deterjan, mayalama, şeker gibi birçok endüstri alanında kullanılan enzimlerdir (Negi and Banerjee, 2010). *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus foetidus*, *Rhizomucor miehei*, *Rhizomucor pusillus* türleri α -amilaz üretme potansiyeli yüksek olan mikrofunguslardır (Velioglu and Çelikyurt, 2016).

2.1.1. Amilazlar

Amilazlar, yapısal ve fonksiyonel özelliklerine göre dört ana gruba ayrılmaktadır: ekzoamilazlar, endoamilazlar, dallanma kırıcı enzimler ve transferazlar.

2.1.1.1. Ekzoamilazlar: Nişasta içerisindeki α -1,4 veya α -1,6 bağlarını redükleyici olmayan uç kısımdan hidrolize ederler ve hidroliz sonucunda α veya β -anomerik ürünler oluştururlar.

2.1.1.2. Endoamilazlar: Bu enzimler, nişastadaki α -1,4 glikozid bağlarını hidrolize ederek hidroliz sonucu α -anomerik ürünlerin oluşumunu sağlar. Bilinen bir endoamilaz örneği ise α -amilazdır. (Pandey et al., 2000).

2.1.1.3. Dallanma Kırıcı Enzimler: Nişastadaki α -1,6 bağlarını hidrolize ederek uzun ve doğrusal yapıda ürünlerin oluşumunu katalize eder.

2.1.1.4. Transferazlar: Bu enzim grubu, donör moleküldeki α -1,4 glikozidik bağları keserek, elde ettikleri glikoz birimlerini alıcı moleküle transfer ederek yeni glikozidik bağların oluşumunu sağlarlar. (Van der Maarel et al., 2002).

(α)-Amilazlar ve Glükoamilazlar amilaz grubu enzimlerin iki temel sınıfını oluşturmakta olup, çeşitli mikroorganizmalardan elde edilebilmektedir. Buna karşın, genellikle bitki orijinli olan β -amilaz, mikrobiyal kaynaklardan daha sınırlı düzeyde elde edilmektedir.

2.1.2 Proteazlar

Proteazlar polipeptit zincirlerinde olan amid bağlarını hidrolize ederek gıdalardaki proteinleri parçalamaktadır, bunun yanı sıra spesifik hidroliz reaksiyonları için kullanımları biliniyor. Bazı hormonların işi proteazlar tarafından düzenlenmektedir. Örneğin, kan pıhtılaşmasında çok sayıda serin proteaz kullanılmaktadır (Gerze, 2003). Proteazlar, hücre dışı büyük peptitlerin sindirimi ve patojenlere karşı savunma mekanizmalarında önemli bir role sahiptir (Yike, 2011). Üç ana gruba ayrılmaktadırlar: alkalın proteazlar, asidik proteazlar, nötr. Alkalın proteazlar için optimum pH 7.0'ın üstü, nötr proteazlar için optimum pH 7.0, asidik proteazlar için optimum pH 2.0 ila 5.0 arasında değişmektedir (Niyonzima et al., 2013).

Proteazları etki mekanizmasına göre iki önemli grupta toplayabiliriz: ekstrasellüler ve intrasellüler proteazlar. Ekstrasellüler proteazlar, büyük protein moleküllerinin hücreler tarafından absorbe edilebilecek kadar küçük moleküllere hidrolizini sağlar. İntrasellüler proteazlar ise metabolizmanın düzenlenmesinde önemli rol oynar.

Son yıllarda fungal proteazlara olan talep artmaktadır. *Aspergillus sp*, *Penicillium sp*, *Rhizopus sp*, genuslarının proteaz üretimi yüksek olarak kabul edilmektedir. Filamentli yapısıyla bilinen funguslardan *Aspergillus sp*. türleri, yüksek proteaz üretim kapasitesiyle karakterize edilir (De Souza et al., 2015). Proteazlar, filamentli fungusların yanısıra *Schizophyllum commune*, *Armillariella mellea*, *Pleurotus ostreatus* ve *Phanerochaete chrysosporium*, *Irpex lacteus* gibi basidiomisetlerden de elde edilmektedir (Burdasall et al., 2008).

Biyomühendislik ve biyoteknoloji uygulamalarında sürekli proteazlar kullanılmaktadır, bunun nedeni proteazların yüksek sıcaklıklarda aktivite göstermesi ve aynı zamanda stabilitesini koruyabilmesidir. Deterjan endüstrisinde genel olarak pH 9.0-12.0 aralığında değerlere sahip olan alkali proteazlar kullanılmaktadır (Gül Güven, 2011). Biyokatalitik mekanizmalara göre proteazlar 4 gruba ayrılır. Bunlar ; Serin proteazlar, sistein proteazlar, aspartik proteazlar ve metaloproteazlardır (Bulut, 2007).

2.1.3. Lipazlar

Lipazlar (triasilgliserol hidrolaz, EC. 3.1.1.1.3) hidrolazlar grubuna dahildir ve peptit bağlarıyla birbirine bağlanan, içerisinde 20 amino asitin de bulunduğu, büyük ve karmaşık yapılı proteinlerdir. Lipazlar, orijinlerine bağlı olarak 20000- 200000 molekül ağırlığa sahip, pH 4.0 -9.0 aralığında ve 70°C'ye varan sıcaklıklarda trigliseridleri di- ve mono- asil gliseridlere, serbest yağ asitleri ve gliserole hidrolizini sağlayan, enzim grubudur.

Mikroorganizma orijinli lipazlar genellikle, *Bacillus licheniformis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Geobacillus thermodenitrificans* gibi bakteriler ve *Aspergillus niger*, *A. terreus*, *Penicillium verrucosum*, *Fusarium solani*, *Rhodosporidium babjevae*, *Rhizopus niveus*, *Rhizopus japonicus* gibi funguslar tarafından üretilirler (Nema et al. 2019). Lipazlar, deterjan, ilaç, tekstil, kozmetik ve kağıt endüstrisinde, atık suların arıtılmasında, biyodizel üretiminde, derinin yağdan arındırılmasında kullanılmaktadır (Chandra et al. 2020).

2.1.4. Hemolitik aktivite

Hemolizinler, kırmızı kan hücrelerinin yanı sıra çekirdekli hücreleri de parçalayabilen ekzotoksinlerdir. Bunlar çeşitli hedef hücrelerin yüzeyindeki spesifik ligandlarla etkileşime girebilen gözenek oluşturuvcu toksinlerdir (Gonzalez et al.,

2008). Çeşitli bakteri türlerinde (Bhakdi et al., 1996) uzun süre çalışılmış olsa da , hemolizinler fungus (Nayak et al. 2012., Berne et al. 2002) , bitki (Sousa et al. 1994), omurgasızlar (Macek, 1992., Sher, 2005), memelilerde de rapor edilmiştir (Pipkin and Lieberman, 2007).

Bakteriyel hemolizinler, proteinlerin patogenezdaki rolü nedeniyle kapsamlı bir şekilde öğrenilmiş ve hemoliz mekanizmaları, yapısal detayları, hedef hücrelerde bulunan ligand farklılıkları tanımlanmıştır (Callegan et al. 1999).

Hemolizinler ilk olarak 1907 ve 1911 yıllarında W. W. Ford tarafından *Amanita*, *Entoloma*, *Lactarius* ve *Inocybe* gibi çeşitli mantarlarda bildirilmiştir (Ford, 1911). 1939 yılında Minneapolis'teki Minnesota Üniversitesi'nde mikrobiyolog olarak çalışan Henrici, *Aspergillus fumigatus* ve *Aspergillus flavus*'u incelerken filamentli funguslarda ilk hemolitik aktiviteyi raporlamıştır (Henrici, 1939). Salvin tarafından 1951 yılında Hamilton, Montana'daki Rocky Mountain Laboratuvarında yapılan çalışmalarda, *Histoplasma capsulatum* ve *Blastomyces dermatidis*'in yanı sıra *Candida albicans* ve *Cryptococcus neoformans* gibi patojenlerde de hemolitik aktivite saptanmıştır (Salvin, 1951).

Asp-hemolizin ilk kez 1977 yılında saflaştırılmıştır (Yokota et al. 1977). Çok sonralar, üçü sistein olmak üzere 131 amino asit içerdiği saptanmıştır (Ebina et al.,1994). Asp-hemolizin, spesifik bir reseptör olan düşük yoğunluklu lipoprotein reseptörüne (L-DLR) (Fukuchi et al. 1998) bağlanan salgısal bir glikoproteindir (Ebina et al. 1983).

Biyoinformatik yaklaşımların kullanımı sayesinde araştırmacılar fungus türlerinin hemolitik proteinlerini tanımlayabilmektedirler. Bu proteinlerin bir kümesi aegerolysin ailesidir. Aegerolysinler, en büyük fungal hemolizin grubudur. Genel olarak boyutları küçüktür (15-20 kDa), çok sayıda aromatik ve asidik kalıntı ile karakterize edilirler. Bu proteinler geniş bir pH aralığında stabil olurlar ama 60-65°C sıcaklıkların üzerinde dayanıksızdırlar (Berne , Lah, Sepcic , 2009).

Çok sayıda patojen mikroorganizma için hemolitik aktivite virülans faktörü olarak kabul edilmektedir (Aktaş and Yiğit, 2014). Vesper and Vesper (2004) fungal hemolizinlerin bazı hasta bina sendromu (SBS) semptomlarının ortaya çıkmasında önemli rol oynadığını varsaymıştır. Hemoliz, eritrositlerin parçalanması ve içeriğin çevreye salınması olarak tanımlanan bir süreçtir. Hemolizin iki tipi bilinmektedir: (I)

tam hemoliz, mikroorganizmalardan salgılanan hücre dışı metabolitler tarafından tamamen eritrosit parçalanmasını gösteren (β) hemoliz ve (II) kısmi hemoliz, hemoglobinin (Fe^{2+}) methemoglobin (Fe^{3+}) ve ferry hemoglobine (Fe^{4+}) oksidasyonu sonucu (α) hemoliz, hemolizin gerçekleşmemesi ise (γ) hemoliz olarak adlandırılır (Buxton, 2005). Serbest hemoglobin veya hem eritrosit parçalandığında hücreden salınır ve patojen mikroorganizmalar bu moleküllerde olan demiri farklı mekanizmalar yoluyla kullanırlar (Subramanian et al. 2014). Memeli konakçı hücrelerinde yaşayabilmeleri ve enfeksiyona neden olmaları patojenlerin demir edinme kabiliyetine bağlıdır (Aktaş and Yiğit, 2014). Sonuç olarak, insanların sürekli bulunduğu kapalı alanlarda, potansiyel patojenlerin varlığı göz ardı edilmemelidir.

Daha önce fungusdan izole edilen hemolitik ajanların çoğu peptitler, proteinler (Greenhill et al., 2010) ve hemolizinler olarak sınıflandırılan hemolitik aktivitede rol oynayan spesifik enzimlerdir (Linerias et al. 2007).

3. MATERYAL - YÖNTEM

3.1. Çalışma alanı

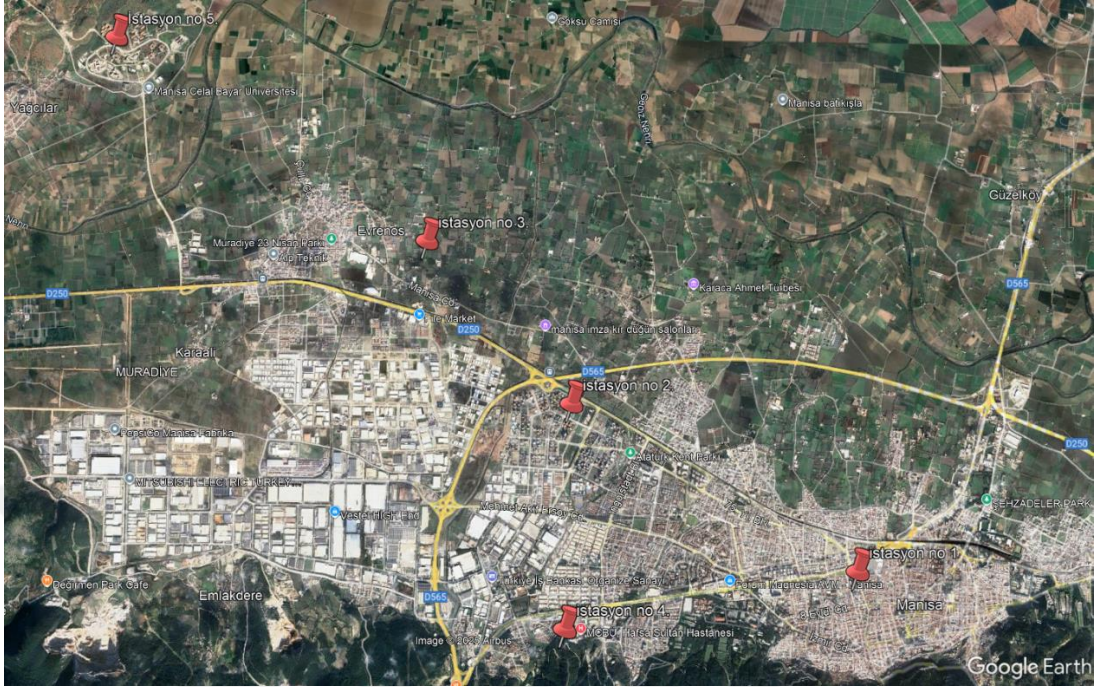
Çalışmamızda Manisa İli Yunusemre ilçesinde belirlenen 5 bina dışı istasyondan Ekim 2023 – Temmuz 2024 tarihleri arasında 3 aylık periyotlar şeklinde (Ekim, Ocak, Nisan, Temmuz) hava örnekleri alınmıştır. Örneklerin alındığı istasyonların numaraları, isimleri, koordinatları Tablo 3.1’de verilmiş ve şehir haritası (Şekil 3.1) üzerinde işaretlenmiştir.

Tablo 3.1. İstasyon isimleri ve koordinatları

İstasyon Numarası	İstasyonun Yeri	İstasyonun Koordinatları
1	Atatürk Ortaokul Bahçesi	38°36'56"N / 27°25'10"E
2	Manisa Fen Lisesi Bahçesi	38°38'05"N / 27°22'34"E
3	Muradiye	38°39'14.46"N / 27°21'13.18"E
4	M.C.B.Ü. Tıp Fakültesi Bahçesi	38°36'30.52"N / 27°22'31.22"E
5	M.C.B.Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi Bahçesi	38°40'42"N / 27°18'17"E

Manisa İli, Ege Bölgesi’nde yer almakta olup, yaklaşık 13.810 km²’lik bir yüzölçümüne sahiptir. İl sınırları içerisindeki rakımlar 43 ile 750 metre arasında değişmekte ve doğuya doğru gidildikçe yükselti artışı gözlenmektedir; şehir merkezinin ortalama yükseltisi ise 74 metredir. İdari açıdan Manisa, doğuda Uşak ve Kütahya, kuzeyde Balıkesir, güneyde Aydın, güneydoğuda Denizli ve batı ile güneybatıda İzmir illeri ile çevrilidir. Yüzey şekilleri bakımından il alanının %54,3’ünü dağlar, %27,8’ini platolar ve %17,9’unu ovalar oluşturmaktadır. Arazi morfolojisi, doğu-batı doğrultusunda uzanan ve kuzey-güney ile güneydoğu-kuzeybatı doğrultularına çatallanan oluk biçimli çukurlar tarafından şekillendirilmektedir. Bu çukurların kenarındaki yüksek kütleler dağ sıralarını meydana getirirken, doğudan batıya doğru eğimli geniş alanlar ovaları oluşturmaktadır. Toprak kullanımına göre, il topraklarının yaklaşık %33,8’i tarıma elverişli alanlardan oluşurken, çayır ve meralar %4,6, orman ve fundalıklar ise %36 oranında yer kaplamaktadır. Geriye kalan %25,6’lık alan, yerleşim birimleri, yollar, nehir ve göl yatakları ile ekonomik açıdan tarıma elverişsiz ve verimsiz arazileri kapsamaktadır. Bu durum, Manisa’nın hem doğal morfolojik yapısını hem de arazi kullanım potansiyelini açıkça ortaya

koymaktadır. Manisa İline ait demografik, jeolojik, coğrafik ve tarımsal veriler ile vejetasyon bilgileri Manisa Valiliği'nden alınmıştır.



Şekil 3.1. İstasyonların uydu görüntüsü

Manisa İli, Ege Bölgesi'nde geniş bir alanı kapsamakta olup, Akdeniz iklimi ile İç Anadolu'ya özgü karasal iklim özelliklerinin etkileşiminde yer almaktadır. Ovalar ve bunları çevreleyen vadilerde karasal nitelikli Akdeniz iklimi hakimken, yüksek dağlık alanlar, platolar ve ilin kuzey ile kuzeydoğusundaki yükseltilerde İç Anadolu'ya özgü karasal iklim etkileri gözlenmektedir. Batıdan doğuya ilerledikçe toprak yapısı, iklim ve topografya gibi çevresel parametrelerde kademeli değişimler meydana gelmekte ve buna bağlı olarak bitki örtüsü farklılık göstermektedir. Bitki örtüsü batıdan doğuya doğru; ova bitkileri, makiler, ormanlar ve alpin bitkileri olarak çeşitlenmekte, ancak bu türler düzenli bir sıra hâlinde birbirini izlememektedir. İl genelinde egemen bitki örtüsü ormanlar ve makilerden oluşmakta olup, doğal bitki örtüsünün büyük kısmı kuraklığa dayanıklı, sert yapraklı ve sürekli yeşil kalan Akdeniz bitki türlerinden meydana gelmektedir. İlin yıllık ortalama sıcaklığı 17,0 °C olarak belirlenmiş olup, en sıcak aylar Haziran, Temmuz ve Ağustos'tur. Kış aylarında (Ocak) ortalama sıcaklık 6 °C'nin altına düşmemekte, yıllık ortalama 25 gün donlu geçmektedir. Ortalama olarak yılda 107,5 gün boyunca sıcaklık 30 °C'nin üzerinde seyrederken, yıllık ortalama yağış miktarı metrekare başına 750,3 kg olup, yağışlı gün sayısı yılda yaklaşık 91 gün olarak kaydedilmiştir. En yoğun yağışlar Aralık, Ocak ve

Şubat aylarında gözlemlenmektedir. Örneklemeye gününe ait ortalama sıcaklık ve nem değerleri ile diğer meteorolojik veriler Manisa İl Meteoroloji Müdürlüğü'nden alınmıştır.

Tablo 3.2. Örneklemeye günlerine ve aylarına ait olan ortalama sıcaklık ve nem değerleri ile yağışlı gün sayıları

	Sıcaklık		Nem		Yağışlı Gün Sayısı
	Günlük	Aylık	Günlük	Aylık	
Ekim	18.0	19.0	63.0	64.0	6
Ocak	8.0	7.0	72.0	71.0	12
Nisan	16.0	15.0	62.0	62.0	7
Temmuz	28.0	28.0	47.0	46.0	2

3.2. Yöntem

Çalışmamız sürecinde hava örneklerinin alınmasında gravimetrik yöntem kullanılmıştır. Örnekler, belirtilen aylarda son haftalarında hava koşullarının örneklemeye için uygun hava koşullarının sağlandığı (örneklemenin gerçekleştirileceği gün ve bir önceki günün yağışsız olması gibi kriterler göz önünde bulundurulmuştur) günlerde sabah saat 08.00 ile 11.00 saatleri arasında alınmıştır. Rose Bengal Kloramfenikol Agar içeren petri kapları yerden 1,0 m yüksekliğe konulmuştur. 15-20 dakika süre ile petri kapakları açık vaziyette bekletilerek örneklemeye tamamlanmıştır. Etrafları parafilmle kapatılarak, etil alkol ile dezenfekte edilmiş etüv içerisinde 27⁰C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun üç, beş ve yedinci günlerinde agar yüzeyinde gelişen fungal koloniler kayıt altına alınmıştır(Asan et al., 2004). Gelişme gösteren koloniler, birer numara verilmek suretiyle aseptik koşullarda yatık malt extract agar (MEA) içeren tüplere aktarılmıştır. Bu kültürler, sonraki aşama olan identifikasyon çalışmalarında kullanılmak üzere +4⁰C'de muhafaza edilmişlerdir. İnkübasyon sonucu, mikroorganizma koloni oluşturan birim (cfu) ya da partikül sayısı olarak tespit edilmektedir. Gravimetrik yöntem, basit ve düşük maliyetli bir yöntem olmakla birlikte kantitatif özellik taşımamaktadır, bu nedenle havadaki

mikroorganizma yoğunluğunu yalnızca tahmini olarak belirlemekte, ancak kesin sayısal değerler sunmamaktadır (Salustiano et al., 2003). Ayrıca yöntemin sınırlılıkları arasında incelenen hava hacminin belirsizliği, rüzgar hızının ve aerodinamik etkilerin sonuçlar üzerindeki etkisi ile yalnızca belirli boyuttaki partiküllerin yakalanabilmesi yer almaktadır (İmalı et al., 2008).

3.2.1. Çalışmada Kullanılan Besiyerleri ve Çözeltiler

Çalışmamız süresince kullandığımız genel besiyerleri patates dekstroza agar, malt ekstrakt agar, czapek agar ve rose bengal kloramfenikol agardır. Bu besiyerlerinin ticari hazır formları kullanılmıştır. Kullanılan tüm besiyerleri hazırlandıktan sonra 1.1 atm basınç ve 121⁰C sıcaklıkta 15 dakika süreyle otoklavda sterilizasyon işlemine tabi tutulmuştur. Enzimatik aktivite tarama testlerinde ise aşağıdaki formüllere göre hazırlanan selektif besiyerlerine ekim yapılarak elde edilen sonuçlar değerlendirilmiştir. Hemolitik aktivitenin belirlenebilmesi için de hazır halde, koyun kanı içeren ticari kanlı agar tercih edilmiştir. Amilaz ve proteaz enzim tarama testleri ile hemolitik aktivite testi petri kaplarında, lipaz tarama testi ise tüplerde gerçekleştirilmiştir. Petri kaplarında yapılan testlerde cam pastör pipeti yardımıyla kesilen 6 mm çapındaki misel kaplı agar parçası besiyeri yüzeyinin orta noktasına ters çevrilerek yerleştirilmiştir. Tüpte yapılan testlerde ise transfer iğnesi yardımı ile alınan fungal partiküller agar içine dik bir şekilde batırılarak inoküle edilmiştir. Besiyerlerine ekim sonrası tüm örnekler 27⁰C'de yaklaşık 5-7 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Enzimatik aktivitenin değerlendirilmesinde;

Amilaz için; inkübasyon sonrası lugol çözeltisi eklenerek nişastanın hidrolizi ile oluşan zonun varlığı ve genişliği,

Proteaz için; kazeinin hidrolizi ile oluşan şeffaf zonun varlığı ve genişliği,

Lipaz için; tributrinin parçalanması ile oluşan berrak zonun varlığı gözlenmiş ve ölçümleri yapılmıştır.

Amilaz Besiveri

Çözünebilir Nişasta	4,0 gr
Yeast Extract	1,0 gr
Pepton	3,0 gr
Agar	20,0 gr
NaCl	1,0 gr
Distille su	1,0 lt

Proteaz Besiveri

Skim milk	10,0 gr
Glikoz	5,0 gr
Agar	20,0 gr
Distille su	1,0 lt

Lipaz Besiveri

Pepton	1,0 gr
Yeast Extract	1,0 gr
Agar	6.4 gr
Tributrin	1,1 ml
Distille su	250 ml

TBE Tamponu (Tris-Borik asit-EDTA; 10x, pH 8)

Tris	121.10 gr
EDTA (susuz)	5.84 gr
Borik asit (Merck)	61.83 gr
dDH ₂ O	1000 ml

Bütün içerikler 1000 ml'lik beher içerisine konularak üzerine 500 ml dDH₂O eklenmiş ve berraklaşınca kadar manyetik karıştırıcıda bekletilmiştir. Son hacim 1000 mL'ye tamamlanarak pH 8.0'a ayarlanmış ve +4°C'de saklanmıştır. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ürünlerinin agaroz jel elektroforezinde yürütülmesinde tampon olarak kullanılmıştır.

%1 Agaroz Jel

Agaroz	1 gr
TBE tamponu	100 ml

1 g agaroz tartılarak 100 ml TBE tamponuna alınmış, eriyinceye kadar mikrodalga fırında bekletilmiştir. Yaklaşık 60 °C'ye kadar soğutulduktan sonra üzerine 5 µL DNA boyası ilave (Intron Biotechnology, RedSafe Nucleic Acid Staining Solution; 21141, 20,000x) edilerek manyetik karıştırıcıda homojen karışımı sağlanmış, uygun şekilde dökümü yapılarak donması beklenmiştir. Fungusların PCR amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel elektroforezi ile görüntülenmesi ve saflıklarının kontrolü uygulamalarında kullanılmıştır.

Laktofenol Blue Çözeltisi

Çalışmamızda, ticari olarak 100 ml'lik şişelerde temin edilen Merck marka Laktofenol Blue çözeltisi kullanılmıştır. Bu çözelti, pamuk mavisi boyası içermekte olup saydamlaştırıcı ajan olarak kullanılmaktadır.

3.3. Hemoliz Tiplerinin Belirlenmesi

Beta hemoliz (β), kırmızı kan hücrelerinin tam veya gerçek lizisi olarak tanımlanır. Temel ortamın renk ve şeffaflığına yaklaşan berrak bir bölge koloniyi çevreler. Birçok bakteri türü ve funguslar kırmızı kan hücrelerini yok edebilen toksik yan ürünler üretirler. Ayrıca beta hemolizde hücrelerin kahverengi veya yeşil renk değişimi olmaz.

Alfa hemoliz (α), koloniyi çevreleyen ortamda kırmızı kan hücresi hemoglobininin methemoglobine indirgenmesidir. Bu, ortamda yeşil veya kahverengi bir renk değişikliğine neden olur. Alfa hemolize uğramış kırmızı kan hücrelerinin mikroskopik incelemesi, hücre zarının sağlam olduğunu gösterir, bu nedenle aslında gerçek lizis değildir. Bazı literatürlerde zayıf, kısmi veya yetersiz hemoliz diye de geçer. Gamma hemoliz (γ), bu tipte herhangi bir reaksiyon söz konusu değildir (Buxton, 2005).

3.4. İzole Edilen Fungus Türlerinin İdentifikasyonu

Fungal türlerin identifikasyonu sürecinde, farklı besiyerlerinde (MEA, CZ, PDA) elde edilen büyüme özellikleri, kolonilerin makro ve mikroskopik morfolojik yapıları ile boyutları, ayrıca koloni alt ve üst yüzeylerindeki renklenme özellikleri değerlendirilmiştir. İdentifikasyon amacıyla uygun ortamlara aktarılmış funguslar, 25–27 °C sıcaklık aralığında 7–14 gün süreyle inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresinin tamamlanmasının ardından koloni çapları ölçülmüş ve kültürler, koloni karakteristiklerinin belirlenmesi amacıyla ışık mikroskobu altında ayrıntılı olarak incelenmiştir. Mikro yapı özelliklerin incelenmesinde Laktofenol Blue çözeltisi kullanılmış, hazırlanan preparatlar üzerinde organizmalara ait mikroskopik morfolojik özellikler belirlenerek identifikasyon için gerekli ölçümler gerçekleştirilmiştir. Elde edilen bulgular ilgili literatürle karşılaştırılarak tür teşhisi yapılmıştır. Bu kapsamda, Aspergillus türlerinin tanımlanmasında Raper ve Fennell (1965) ile Klich (2002), Penicillium türlerinin teşhisinde Raper ve Thom (1949), Pitt (1979, 2000) ve Samson ve Pitt (2000), diğer cinslerin tanımlanmasında ise Barnett (1960), Domsch et al. (1980), Hasenekoğlu (1991) ve Samson et al. (2004) kaynaklarından yararlanılmıştır.

3.5. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ve Gen Amplifikasyonu

Mikrofunguslarda, diğer ökaryotlarda olduğu gibi, rRNA genleri kümeler halinde birkaç yüz defaya kadar tekrarlanır. Fungal İç Transkripsiyon Dizileri (Fungal Internal Transcribe Sequences, ITS) bölgeleri hızla evrimleşir ve bu bölgelerdeki dizi farklılıkları sıklıkla yakın ilişkili türler arasında veya aynı türün popülasyonları arasında bulunur. Mikrofunguslarda bu bölgenin heterojenliği belgelenmiştir (Martin et al., 2005). Moleküler olarak tanımlanacak seçilen mikrofungusların ITS1-5.8S-ITS2 fragmentini kodlayan DNA gen bölgesinin amplifikasyonu ITS1 (5'-TCC GTA GGT GAA CCT TGC GG-3') ve ITS4 (5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3') primerleri kullanılarak çoğaltılmıştır (White et al. 1990).

Tanımlama için seçilen mikrofungusların PCR ile gen amplifikasyonu Oskay 2025'de belirtilen yöntem modifiye edilerek gerçekleştirilmiştir. Kısaca; mikrofungusların miseliyal gelişimi PDA besiyerinde 5-7 gün süreyle 28 °C'de büyütülerek hazırlanmıştır. Aşağıdaki Tablo 3.5.2'de verilen konsantrasyon ve PCR reaktifleri sırayla 2 mL'lik steril bir mikrosantrifüj tüpüne aktararak master mix hazırlanmış ve bu karışımdan aseptik koşullarda 0.2 mL'lik PCR tüplerine uygun miktarlarda ilave edilmiştir. Sonrasında steril bir kürdan kullanarak, doğrudan besiyerinde gelişen fungal miselyumdan (Kloni PCR) az miktarda (hemen hemen gözle görülebilecek kadar) besiyerindeki agara temas etmeden alınarak reaksiyon için reaktiflerin bulunduğu PCR tüplere daldırılmıştır (Oskay, 2025). Vakit kaybetmeden hazırlanan PCR karışımları aşağıdaki Çizelge 3.5.2' de verilen PCR koşulları uygulanarak işlem tamamlanmıştır.

PCR için optimize edilen reaksiyon karışımları Çizelge 3.5.1' de ve optimize PCR koşulları Çizelge 3.5.2' de görülmektedir. Bu koşullarla PCR ürünü için çalışmalar Applied Biosystems Veriti Thermal Cycler ile gerçekleştirilmiş ve nihayetinde elde edilen PCR ürünleri için elektroforez; 5 µL nükleik asit boyası (Intron Biotechnology, RedSafe Nucleic Acid Staining Solution; 21141, 20,000x) katkılı %1 agaroz jelde, ilk kuyucuğa DNA marker (100 bp DNA marker, Takara Bio Inc. 3428A) diğerlerine PCR ürünü aktararak (1.2 µL DNA loading boyası-biotechrabbit 6x DNA loading dye + 5 µL PCR ürün örneği) TBE tamponu ile 100 V'da 34 dk. süreyle yapılmıştır. Sonrasında PCR ürünleri UV transillüminatör'de (gLite gel scanner) incelenerek tek saf olarak bank oluşturanlar sekans analizleri için ayrılarak -20 °C'de saklanmıştır.

Tablo 3.5.1. PCR ile Ürün Eldesi için Belirlenen Koşullar.

Adım	Sıcaklık	Süre	Çevrim
Başlangıç Denatürasyonu	95 °C	5 dk	1
Denatürasyon	95 °C	30 s	36
Bağlanma	53 °C	30 s	
Uzama	72 °C	60 s	
Son Uzama	72 °C	5 dk	1

Tablo 3.5.2. PCR Reaksiyonu Bileşenleri ve Konsantrasyonları.

Bileşen	Stok Konsantrasyonu	Reaksiyondaki Son Konsantrasyonu	Son Hacim (µL)
Gliserol	100 %	10 %	5.0
Triton-X100	100 %	0.5 %	0.25
PCR Buffer	10X	1X	5
Mg solüsyonu *	20 mM	2.0	5
dNTP ^a	2.5 mM (her birinden)	0.2 mM (her birinden)	4
Forward primer	20 µM	0.5 µM	1.25
Reverse primer	20 µM	0.5 µM	1.25
Polimeraz *	5.0 U/µL	2.0 U/µL	0.40
Template DNA	50/70 ng/µL	50	0.5
PCR grade su	--	--	32.35
Toplam reaksiyon hacmi	--	--	50

* ThermoScientific, DreamTaq DNA polymerase, EP0702. Bu enzimle beraber gelen PCR buffer bileşiminde 20 mM MgCl₂ bulunduğu için ayrıca reaksiyon bileşimine MgCl₂ eklenmemiştir. ^a dNTP = Takara 4030.

Elde edilen PCR ürünleri sekans analizi için Medsantek (İstanbul) firmasına gönderilmiş ve firmadan rDNA kromatogramları alınmıştır.

3.6. Sekans Verilerinin Analizi, Gen Bankasındaki Dizilerle Karşılaştırılması ve Filogenetik Dendogramlarının Oluşturulması

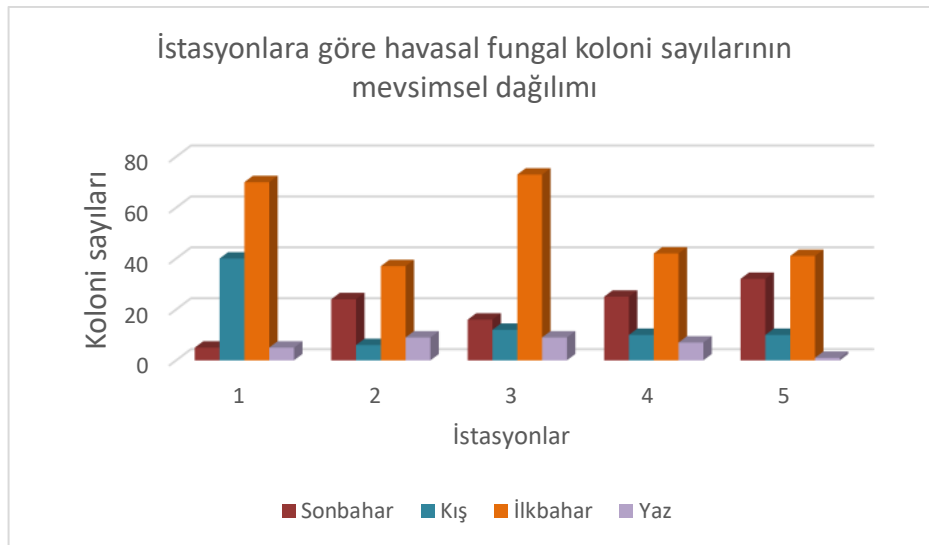
PCR ile elde edilen sekans analizleri hizmet alımları kapsamında yaptırılmıştır. Elde edilen ham sekans verileri degenaratif bazların karşılığı için BioEdit Sequence Alignment Editor programı (V, 7.7.1.) ile değerlendirilmiş, yanlış eşleşmeler düzeltilmiş ve yine aynı program kullanılarak ileri ve geri okuma sekansları birleştirilmiştir. Elde edilen sekansların düzenlenmesi ise MEGA 12 (V, 12.0.11) programı ile gerçekleştirilmiştir. Sonrasında işlenmiş ve düzenlenmiş sekans verileri muhtemel türlerin belirlenmesi amacıyla gen bankasındaki (National Center for Biotechnology Information, NCBI) verilerle karşılaştırmak için blastlanmıştır. Filogenetik dendogramların oluşturulması için tanılama amacıyla seçilen mikrofungusların rDNA gen dizileri, gen databanklarından (NCBI) elde edilen tip örneği referans sekansları ile karşılaştırılarak elde edilmiş ve mikrofungusların tür veya cins seviyesinde tanılamaları yapılmıştır. Filogenetik dendogramları Neighbour-joining (Saitou and Nei 1987; Tamura et al., 2004), Maximum Composite Likelihood algoritmaları kullanılarak oluşturulmuştur. Filogenetik analizler için MEGA 12 (V, 12.0.11) paket programından yararlanılmıştır (Kumar et al., 2024).

4. BULGULAR

4.1. Genel Bulgular

Manisa ili Yunusemre ilçesinde belirlenen toplam 5 farklı istasyondan 2023 Ekim- 2024 Temmuz tarihleri arasında (Ekim, Ocak, Nisan ve Temmuz aylarının son haftaları) gravimetrik yöntem kullanılarak hava örnekleme yapılmıştır. Çalışma süresince toplam 200 adet petri kabı kullanılmış ve bu petrilere 4694 fungus kolonisi sayılmıştır (Şekil 4.1). Sayının ardından fungal koloniler tanımlama aşamasına kadar MEA içeren tüplerde muhafaza edilmişlerdir. Daha sonra izolatlar, literatürde belirtilen uygun besiyerlerine aktarılmış ve gerekli inkübasyon süresinin tamamlanmasının ardından mikroskopik ve makroskopik özellikleri değerlendirilerek tanımlama işlemleri gerçekleştirilmiştir. Tanımlama işlemleri sonucunda dokuz farklı genusa ait toplam yirmi fungus türü teşhis edilmiştir. Teşhisi yapılan fungusların mevsimlere göre hangi istasyonlarda görüldüğü Tablo 4.1’de verilmiştir.

Çalışmada tespit edilen tür sayılarının dağılımına göre en baskın dört genus sırasıyla *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria* ve *Cladosporium* olarak belirlenmiştir. *Aspergillus* genusu, tanımlanan tüm türlerin % 25’ini oluştururken, *Alternaria* türlerinin oranı % 20, *Penicillium* ve *Cladosporium* cinslerine ait türlerin oranı ise % 15 olarak kaydedilmiştir. Araştırma süresince en sık rastlanan ilk üç genus *Aspergillus*, *Alternaria* ve *Cladosporium*’dur. Özellikle *Cladosporium* genusu nispeten düşük tür çeşitliliğine sahip olmasına rağmen, çalışmada değerlendirilen istasyonların büyük çoğunluğundan izole edilmiştir.



Şekil 4.1. İstasyonlara göre fungal koloni sayılarının mevsimsel dağılımı

Tablo 4.1. Mevsimlere ve istasyonlara göre fungusların görülme sıklığı

Tür Adı	Örnekleme Mevsim ve İstasyonları
<i>Alternaria</i>	
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissl.	İB ⁽²⁾ , K ⁽⁴⁾ .
<i>Alternaria citri</i> (Penz.) Mussat.	SB ^(1,5) , K ⁽⁵⁾ , İB ⁽¹⁾ , Y ⁽³⁾
<i>Alternaria tenuissima</i> (Kunze) Wiltshire.	SB ⁽⁵⁾ , K ⁽⁴⁾ , İB ^(4,5) .
<i>Aspergillus</i>	
<i>Aspergillus flavus</i> Link.	Y ⁽¹⁾ .
<i>Aspergillus fumigatus</i> Thom & Raper.	SB ^(2,3,5) , K ⁽¹⁾ , Y ⁽¹⁾
<i>Aspergillus niger</i> var. <i>niger</i> Tiegh.	SB ^(1,3) , K ^(2,4) .
<i>Aspergillus wentii</i> Wehmer.	K ^(1,5) .
<i>Cladosporium</i>	
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fresen.) Vries.	SB ⁽¹⁾ , K ^(3,4) , İB ⁽⁵⁾ .
<i>Cladosporium herbarum</i> (Pers.) Link.	K ⁽³⁾ , Y ⁽¹⁾ .
<i>Cladosporium oxysporum</i> Berk. & Curtis.	SB ^(1,4) , İB ^(1,2) .
<i>Curvularia</i>	
<i>Curvularia hawaiiensis</i> Ellis.	İB ⁽³⁾ .
<i>Epicoccum</i>	
<i>Epicoccum nigrum</i> Link.	SB ⁽⁵⁾ .
<i>Fusarium</i>	
<i>Fusarium proliferatum</i> Nirenberg.	İB ⁽³⁾ .
<i>Penicillium</i>	
<i>Penicillium brevicompactum</i> Dierckx.	İB ⁽³⁾ .
<i>Penicillium glabrum</i> (Wehmer) Westling.	SB ⁽²⁾ .
<i>Penicillium italicum</i> Wehmer.	SB ⁽¹⁾ .
<i>Penicillium verrucosum</i> Dierckx.	İB ⁽²⁾ .
<i>Penicillium pinophilum</i> Hedge.	İB ⁽³⁾ .
<i>Rhizopus</i>	
<i>Rhizopus oryzae</i> Went & Prins. Geerl.	Y ⁽³⁾ .
<i>Trichoderma</i>	
<i>Trichoderma viride</i> Pers.	İB ⁽⁴⁾ .

İB: İlkbahar, K: Kış, Y: Yaz, SB: Sonbahar,

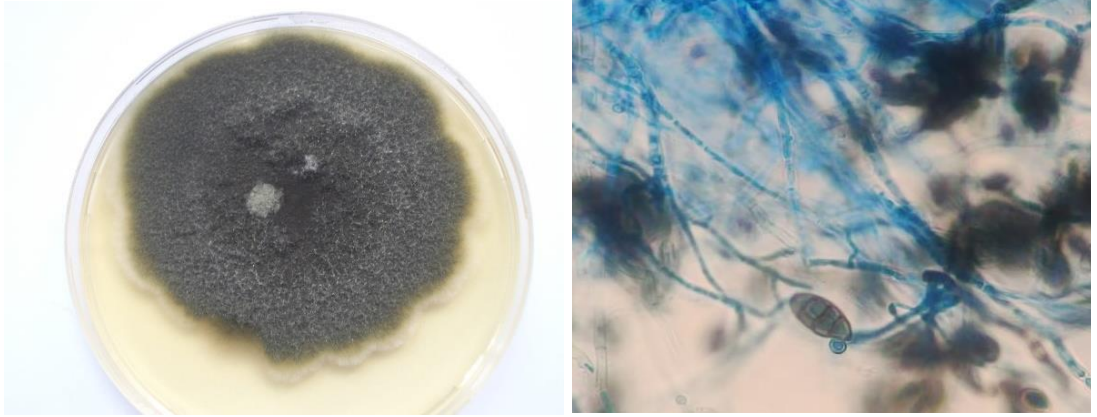
4.2. Hava Örneklerinden İzole Edilip Tanımlanan Fungus Türleri

4.2.1. Tanımlanan Mikrofungusların Deskripsiyonu

4.2.1.1. *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. 1912

Koloni Özellikleri: MEA besiyerinde gelişen koloniler, zeytin tonlarında ya da siyah renkte yüzey özellikleri göstermiş, koloni alt yüzeyi ise siyah renkte gözlemlenmiştir. Koloni gelişimi hızlı olup, inkübasyonun yedinci gününde koloni çapı 4–5 cm'ye ulaşmıştır (Şekil 4.2.1.1).

Mikroskopik Özellikler: MEA besiyerinde gelişen konidioforlar soluk ya da açık sarı renkte olup, düz çeperli bir yapıya sahiptir ve 2–4 µm kalınlığında, 30–40 µm uzunluğunda ölçülmüştür. Konidiumlar ise yoğun miktarda gözlenmiş, elipsoidal ya da ovoid formda, altın sarısı renkte ve hem enine hem de boyuna bölmeli yapılar sergilemiştir. Ölçümler, konidiumların 5–7 µm genişliğinde ve 10–14 µm uzunluğunda olduğunu ortaya koymuştur (Şekil 4.2.1.1).

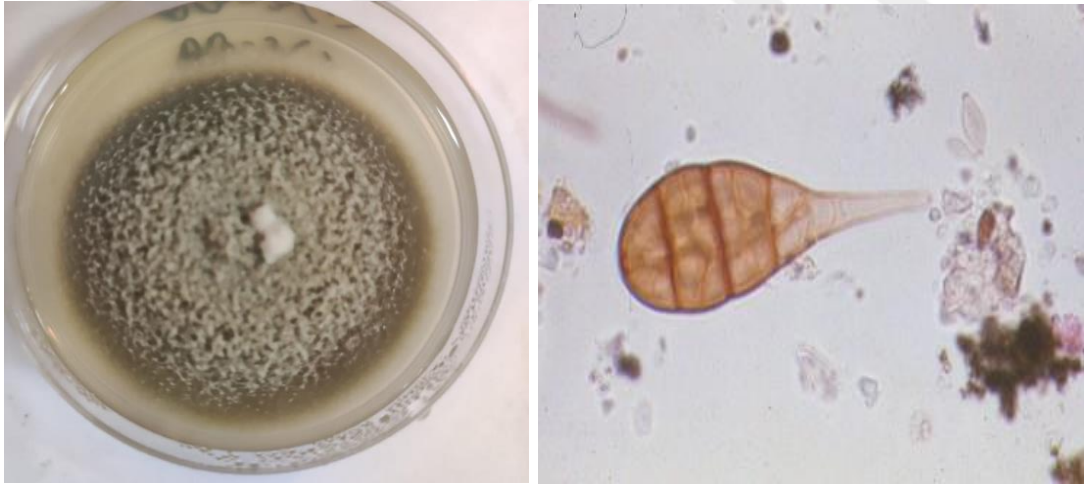


Şekil 4.2.1.1. *Alternaria alternata*'nın koloni görünümü ve konidiumları (400X)

4.2.1.2. *Alternaria citri* (Penz.) Mussat 1901

Koloni Özellikleri: MEA besiyerinde gelişen kolonilerin yüzeyi gri ile zeytinimsi siyah tonlarında gözlenmiş, alt yüzeyi ise koyu siyah renkte kaydedilmiştir. Koloni gelişimi hızlı olup, inkübasyonun yedinci gününde koloni çapı 5–6,5 cm'ye ulaşmıştır (Şekil 4.2.1.2).

Mikroskopik Özellikler: MEA besiyerinde gelişen konidioforlar basit yapılı, septalı olup, çeperleri hafif dalgalı bir görünüme sahiptir ve soluk kahverengi renkte gözlemlenmiştir. Konidioforların ölçüleri 3–5 µm eninde ve 100–150 µm uzunluğundadır. Konidiler ise tekil olarak ya da 2–5 konididen oluşan zincirler halinde bulunmuş, çeperleri düz, genellikle oval formda ve soluk kahverengi renkte kaydedilmiştir. Ayrıca konidilerin 2–5 septalı olduğu belirlenmiş, boyutlarının ise 7–25 µm uzunlukta ve 3–15 µm eninde olduğu tespit edilmiştir(Şekil 4.2.1.2).

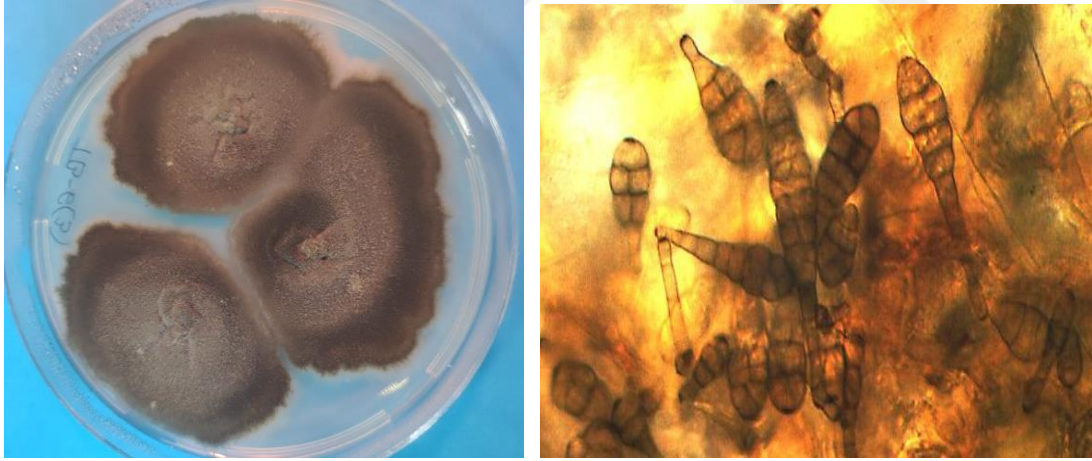


Şekil 4.2.1.2. *Alternaria citri*'nin koloni görünümü ve konidiumları (400X)

4.2.1.3. *Alternaria tenuissima* (Kunze) Wiltshire 1933

Koloni Özellikleri: MEA besiyerinde gelişen kolonilerin yüzeyi koyu yeşil ile siyah tonlarında gözlenmiş, koloni alt yüzeyi ise koyu siyah renkte kaydedilmiştir. Hızlı gelişim gösteren kolonilerin çapı, inkübasyonun yedinci gününde 5–6 cm'ye ulaşmıştır. (Şekil 4.2.1.3).

Mikroskopik Özellikler: MEA besiyerinde gelişen konidioforlar basit yapılı olup, çeperleri düz ya da hafif dalgalı, septalı ve soluk kahverengi renkte gözlenmiştir. Konidioforların boyutları 45–65 μm uzunlukta ve 4–6 μm genişliktedir. Konidiler ise tekil veya kısa zincirler halinde bulunmuş, çeperleri düz, çoğunlukla elipsoidal formda ve soluk altın sarısı renkte kaydedilmiştir. Ayrıca, konidilerin hem enine hem de boyuna birkaç septaya sahip olduğu belirlenmiş olup, ölçülerinin 20–45 μm x 5–15 μm aralığında değiştiği tespit edilmiştir. (Şekil 4.2.1.3).

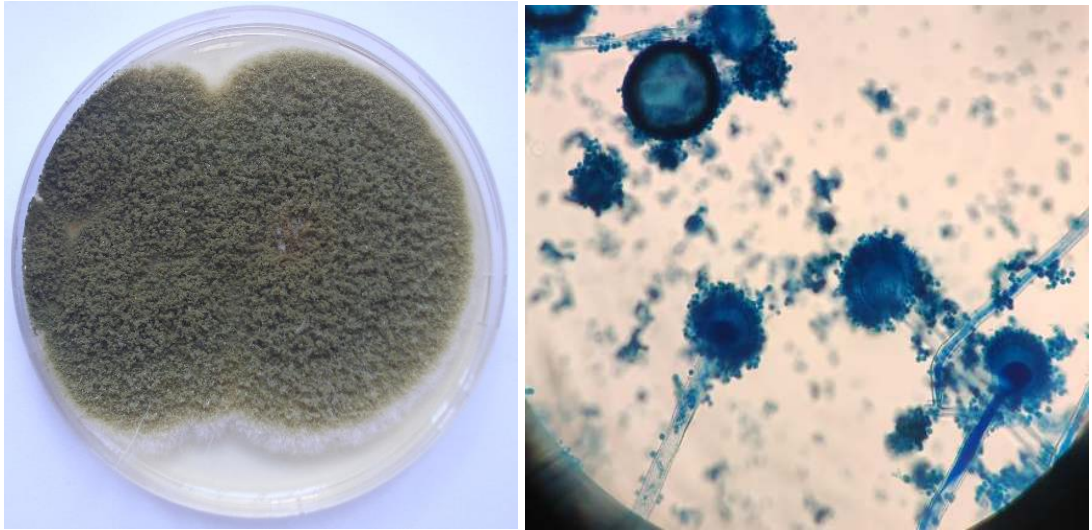


Şekil 4.2.1.3. *Alternaria tenuissima*'nın koloni görünümü ve konidiumları (400X)

4.2.1.4. *Aspergillus flavus* Link, 1809

Koloni Özellikleri: CYA25 besiyerinde gelişen kolonilerin yüzeyi koyu yeşil renkte, alt kısımları ise renksiz ya da açık sarı tonlarında gözlenmiştir. Koloniler hızlı gelişim göstermiş olup, inkübasyonun yedinci gününde çapları 5–6 cm’ye ulaşmıştır. Sporlanma yoğun düzeydedir. Koloni yüzeyinin dokusu flokkose özellik sergilemekte, yaşlanma döneminde ise eksuda oluşumu dikkati çekmektedir (Şekil 4.2.1.4).

Mikroskopik Özellikler: CYA25 besiyerinde gelişen yapılar incelendiğinde, konidial başların radyal formda olduğu, veziküllerin küresel morfolojiye sahip bulunduğu ve sterigmataların biseriat düzenlenme gösterdiği belirlenmiştir. Konidioforlar renksiz olup, hafif dalgalı çeper yapısına sahiptir; boyları 250–500 µm, genişlikleri ise 5–15 µm arasında değişmektedir. Konidiler çoğunlukla küresel, yer yer elipsoidal şekilli, koyu yeşil renkte, genellikle düz çeperli ve 2–5 µm çapında gözlenmiştir (Şekil 4.2.1.4).

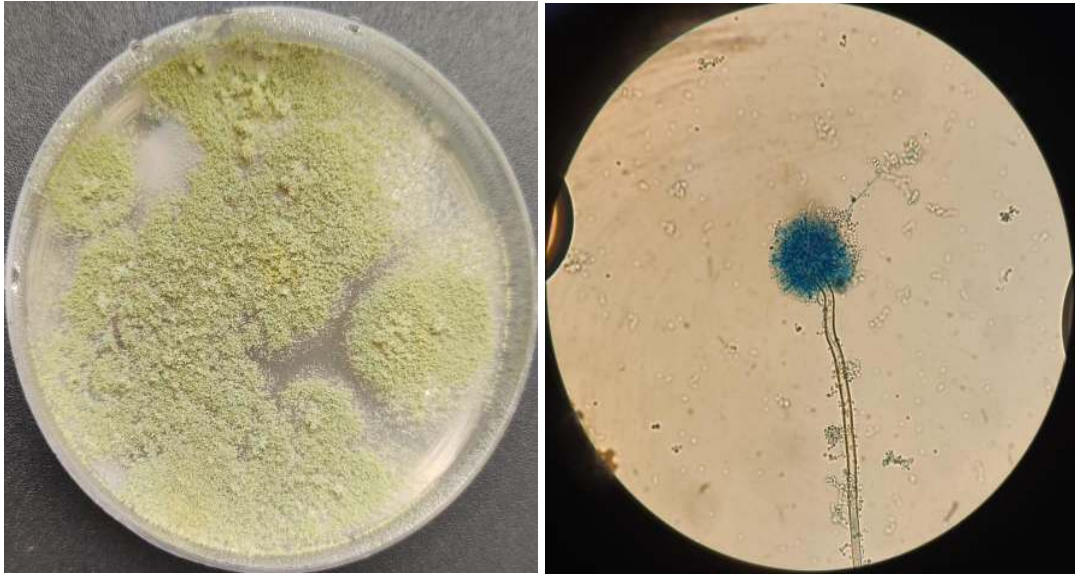


Şekil 4.2.1.4. *Aspergillus flavus*’un koloni görünümü ve konidial baş yapısı (400X)

4.2.1.5. *Aspergillus fumigatus* Fresen. 1863

Koloni Özellikleri: CYA25 besiyerinde gelişen kolonilerin yüzeyi gri-yeşil tonlarında, alt yüzeyi ise renksiz veya açık sarı olarak gözlenmiştir. Koloniler hızlı gelişim göstermiş olup, inkübasyonun yedinci gününde çapları 4–6 cm'ye ulaşmıştır. Koloni yüzeyinin dokusu flokkose özellik sergilemekte ve koloniler yaşlandıkça eksuda oluşumu gözlenmektedir (Şekil 4.2.1.5).

Mikroskopik Özellikler: CYA25 besiyerinde gözlenen konidial başlar kolumnar yapıda olup, veziküller küresel formda ve sterigmatalar uniseriat düzenlenmiştir. Konidioforlar genellikle renksiz, düz veya hafif dalgalı çeperli olup, uzunlukları 100–250 µm, genişlikleri ise 4–10 µm arasında değişmektedir. Konidiler çoğunlukla küresel, nadiren elipsoidal formda, düz çeperli ve 3–4 µm çapında gözlemlenmiştir (Şekil 4.2.1.5).



Şekil 4.2.1.5. *Aspergillus fumigatus*'un koloni görünümü ve konidial baş yapısı (400X)

4.2.1.6. *Aspergillus niger* var. *niger* Tiegh. 1867

Koloni Özellikleri: CYA25 besiyerinde gelişen kolonilerin yüzeyi siyah, alt yüzeyi ise renksiz veya çok açık sarı tonlarında gözlenmiştir. Koloniler hızlı gelişim göstermiş olup, inkübasyonun yedinci gününde çapları 6–7 cm'ye ulaşmıştır. Sporlanma yoğun olarak gerçekleşmiştir. (Şekil 4.2.1.6).

Mikroskopik Özellikler: CYA25 besiyerinde gözlenen konidial başlar radyal formda olup, veziküller küresel ve sterigmatalar biseriat düzenlenmiştir. Konidioforlar düz çeperli, 200–350 µm uzunluğunda ve 10–15 µm genişliğinde ölçülmüştür. Konidiler ise küresel şekilli, çoğunlukla düz çeperli ve 3–5 µm çapında gözlenmiştir. (Şekil 4.2.1.6).

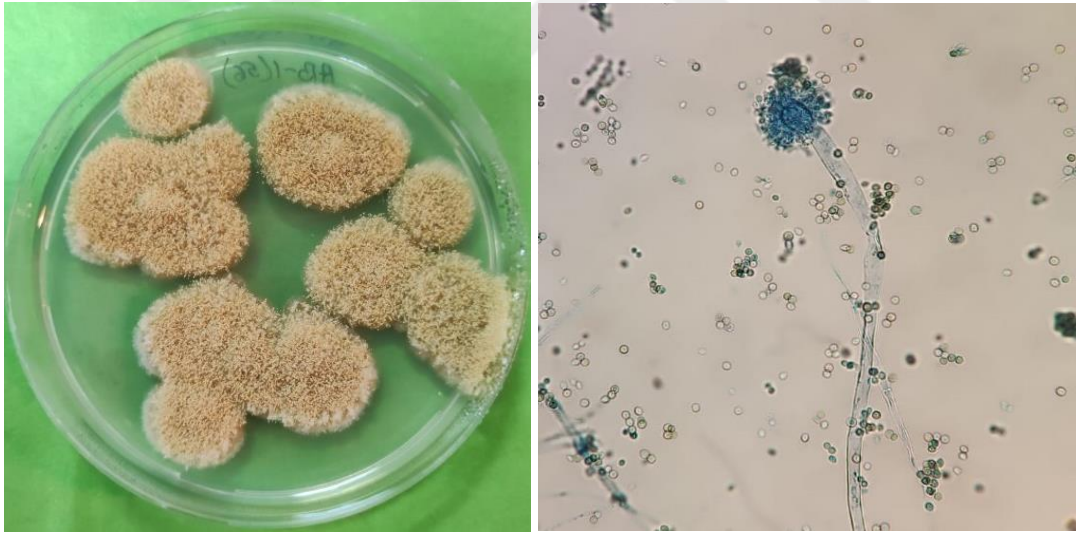


Şekil 4.2.1.6. *Aspergillus niger*'in koloni görünümü ve konidial baş yapısı (400X)

4.2.1.7. *Aspergillus wentii* Wehmer. 1896

Koloni Özellikleri: CYA25 besiyerinde gelişen kolonilerin yüzeyi koyu sarı renkte, alt yüzeyi ise renksiz veya açık sarı tonlarında gözlenmiştir. Koloniler hızlı gelişim göstermiş olup, inkübasyonun yedinci gününde çapları 6–7 cm'ye ulaşmıştır. Sporlanma yoğun düzeydedir (Şekil 4.2.1.7).

Mikroskopik Özellikler: CYA25 besiyerinde gözlenen konidial başlar radyal formda olup, veziküller genellikle küresel, nadiren elipsoidal şekillidir ve sterigmatalar uniseriat düzenlenmiştir. Konidioforlar renksiz olup, çeperleri düz veya hafif dalgalı yapıdadır; uzunlukları 150–250 µm, genişlikleri ise 5–10 µm arasında ölçülmüştür. Konidiler çoğunlukla küresel, düz çeperli ve 4–6 µm çapındadır (Şekil 4.2.1.7).

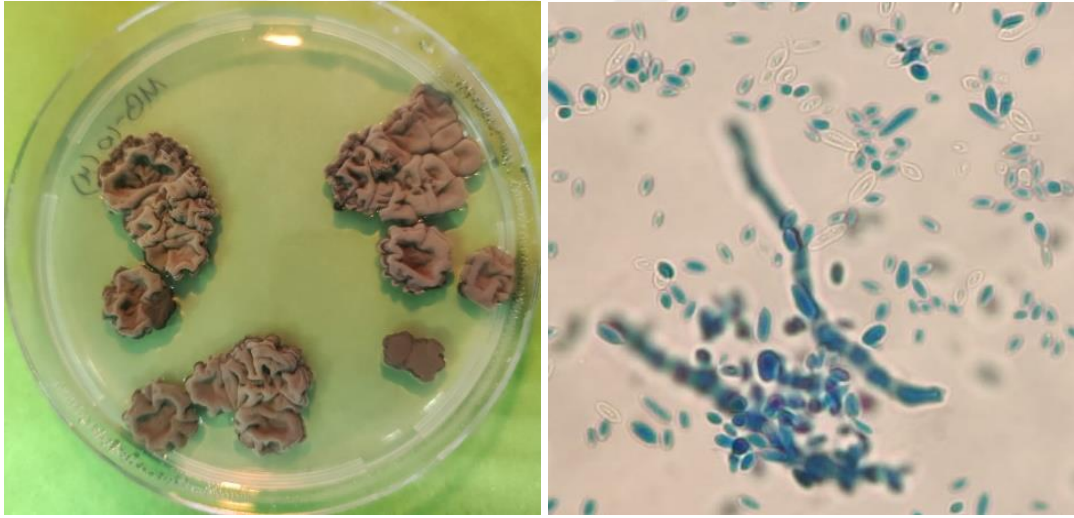


Şekil 4.2.1.7. *Aspergillus wentii* 'nin koloni görünümü ve konidial baş yapısı (400X)

4.2.1.8. *Cladosporium cladosporioides* (Fresen.) Vries 1952

Koloni Özellikleri: MEA besiyerinde gelişen kolonilerin yüzey rengi zeytin yeşili ile koyu yeşil tonlarında, alt yüzeyi ise koyu yeşil ile siyah arasında gözlenmiştir. Kolonilerin büyüme hızı yavaş olup, inkübasyonun yedinci gününde çapları 2,5–3 cm'ye ulaşmıştır. Koloni yüzeyi velvet dokulu bir yapı sergilemektedir (Şekil 4.2.1.8).

Mikroskopik Özellikler: MEA besiyerinde gelişen konidioforlar soluk zeytin yeşili renkte olup, düz çeperli yapıya sahiptir ve 100–200 µm uzunluğunda, 2–6 µm genişliğinde ölçülmüştür. Konidiler tekil ya da kısa zincirler halinde bulunmuş, çoğunlukla elipsoidal formda, soluk zeytin renginde ve düz çeperli olup, boyutları 3–11 µm uzunluğunda ve 2–5 µm genişliğindedir. (Şekil 4.2.1.8).

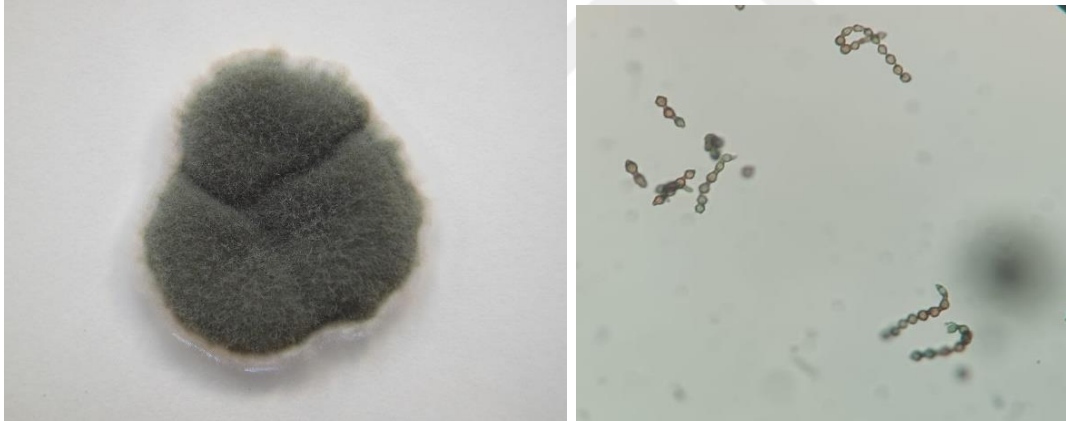


Şekil 4.2.1.8. *Cladosporium cladosporioides*'in koloni görünümü ve konidiumları (400X)

4.2.1.9. *Cladosporium herbarum* (Pers.) Link 1816

Koloni Özellikleri: MEA besiyerinde gelişen kolonilerin yüzeyi zeytin yeşili ile koyu yeşil tonlarında, alt yüzeyi ise yeşilimsi siyah renkte gözlenmiştir. Koloniler hızlı büyüme göstermiş olup, inkübasyonun yedinci gününde çapları 3–5 cm'ye ulaşmıştır. Koloni yüzeyi velvet dokulu bir yapıya sahiptir (Şekil 4.2.1.9).

Mikroskopik Özellikler: MEA besiyerinde gelişen konidioforlar düz veya hafif dalgalı bir görünüme sahip, soluk kahverengi renkte ve düz çeperli olup, 3–6 μm genişliğinde ve 100–150 μm uzunluğundadır. Konidiler elipsoidal formda, zeytinimsi kahverengi renkte, düz veya hafif siğilli çeperli ve 5–15 μm uzunluğunda, 3–8 μm genişliğinde ölçülmüştür. (Şekil 4.2.1.9).

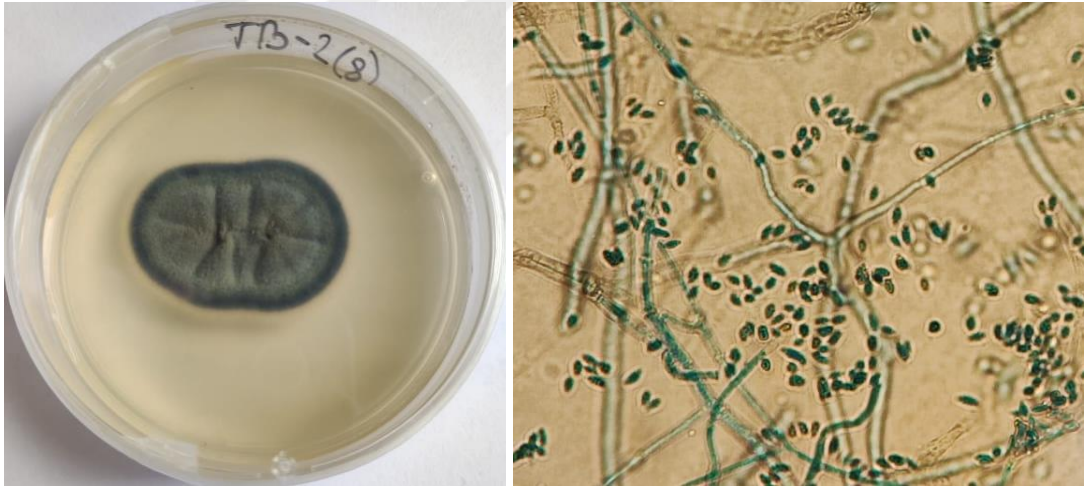


Şekil 4.2.1.9. *Cladosporium herbarum* 'un koloni görünümü ve konidiumları (400X)

4.2.1.10. *Cladosporium oxysporum* Berk. & Curtis 1868

Koloni Özellikleri: MEA besiyerinde gelişen kolonilerin yüzeyi koyu yeşil, alt yüzeyi ise koyu kahverengi ile siyah tonlarında gözlenmiştir. Koloniler hızlı büyüme göstermiş olup, inkübasyonun yedinci gününde çapları 4–5 cm’ye ulaşmıştır (Şekil 4.2.1.10).

Mikroskopik Özellikler: MEA besiyerinde gelişen konidioforlar düz veya hafif dalgalı bir görünüme sahip, soluk kahverengi renkte ve düz çeperli olup, 150–300 µm uzunluğunda ve 3–5 µm genişliğinde ölçülmüştür. Konidiler tekil veya kısa zincirler halinde bulunmuş, genellikle elipsoidal şekilli, soluk kahverengi renkte, düz çeperli ve 3–6 µm uzunluğunda, 5–15 µm genişliğinde ölçülmüştür. (Şekil 4.2.1.10).



Şekil 4.2.1.10. *Cladosporium oxysporum*’un koloni görünümü ve konidiumları (400X)

4.2.1.11. *Curvularia hawaiiensis* Ellis 2012

Koloni özellikleri: MEA besiyerinde gelişen koloniler genellikle gri, kahverengi veya siyah renkte olup, velvet dokulu yüzey ve batık miselyum yapısı sergilemektedir. Koloniler hızlı büyüme göstermiş ve inkübasyonun dördüncü gününde çapları 5–6 cm'ye ulaşmıştır (Şekil 4.2.1.11).

Mikroskopik özellikleri: MEA besiyerinde gelişen konidiyoforlar 120 µm'ye kadar uzunlukta, 2–3 µm kalınlığında olup, düz veya dalgalı bir yapı göstermektedir. Konidiler 2–7 bölmeli, 12–37 µm uzunluğunda ve 5–11 µm genişliğinde ölçülmüş; basit, düz veya kıvrık, klavat veya silindirik biçimli olup, uçları yuvarlak, ellipsoidal veya furiformdur. Bazal hücreler farklı renk tonları sergilerken, uç hücreler aradaki hücrelere kıyasla daha açık renktedir ve düz çeperli yapıdadır (Şekil 4.2.1.11).



Şekil 4.2.1.11. *Curvularia hawaiiensis*'in koloni görünümü ve konidiumları (400X)

4.2.1.12. *Epicoccum nigrum* Link 1816

Koloni Özellikleri: MEA besiyerinde gelişen kolonilerin yüzeyi koyu sarı, alt yüzeyi ise sarı veya soluk kahverengi tonlarında gözlenmiştir. Koloniler hızlı büyüme göstermiş olup, inkübasyonun yedinci gününde genellikle petri kabını kaplamaktadır. (Şekil 4.2.1.12).

Mikroskopik Özellikler: MEA besiyerinde, konidiyoforlar yoğun bir şekilde bir arada bulunmakta ve stromanın yüzeyini kaplamakta, kültürde ise genellikle kümeler halinde, dallanmış, kısa, düz veya dalgalı, konidiyoforlar 5 – 15 X 3 – 6 µm, konidiler tek, yarı küresel veya priform, koyu altın rengi (Şekil 4.2.1.12).



Şekil 4.2.1.12. *Epicoccum nigrum* 'un koloni görünümü ve konidiumları (400X)

4.2.1.13. *Fusarium proliferatum* Nirenberg 1976

Koloni Özellikleri: MEA besiyerinde gelişen kolonilerin yüzeyi açık pembe ile mor tonlarında, alt yüzeyi ise açık kırmızı renkte gözlenmiştir. Koloniler hızlı büyüme göstermiş olup, inkübasyonun yedinci gününde çapları 4,5–6 cm'ye ulaşmaktadır. (Şekil 4.2.1.13).

Mikroskopik Özellikler: MEA besiyerinde gelişen konidioforlar şeffaf olup, mikrokonidiler bol miktarda bulunmakta ve oval ile elipsoidal şekillidir; boyutları 5–8 μm uzunluğunda ve 2–3 μm genişliğindedir. Makrokonidiler ise seyrek olup, 3–5 bölmeli, 20–30 μm uzunluğunda ve 3–5 μm genişliğinde ölçülmüştür. (Şekil 4.2.1.13).

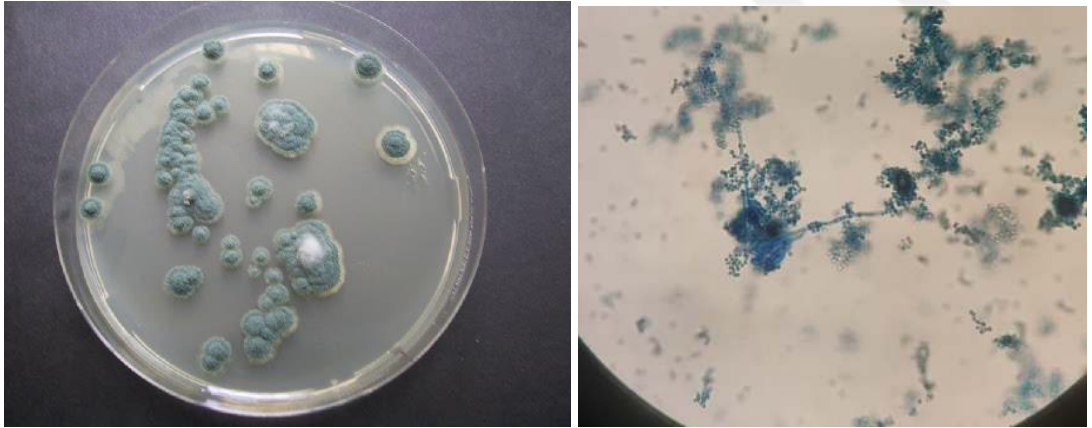


Şekil 4.2.1.13. *Fusarium proliferatum* 'un koloni görünümü ve makrokonidiumları (400X)

4.2.1.14. *Penicillium brevicompactum* Dierckx 1901

Koloni Özellikleri: CYA25 besiyerinde gelişen kolonilerin yüzeyi donuk yeşil, alt yüzeyi ise yeşilimsi kahverengi tonlarında gözlenmiştir. Koloniler yavaş büyüme göstermiş olup, inkübasyonun yedinci gününde çapları 2–3 cm'ye ulaşmaktadır. Koloni yüzeyi velutinoz dokulu olup, koloniler yaşlandıkça eksuda oluşumu gözlemlenmiştir (Şekil 4.2.1.14).

Mikroskopik Özellikler: CYA25 besiyerinde gelişen konidioforlar düz çeperli olup, 250–400 µm uzunluğa ve 5–10 µm genişliğe sahiptir. Penisilli asimetrik bivertisillat yapısı gösterirken, sterigmalar 8–12 µm uzunluğunda ve 3–5 µm genişliğindedir. Konidiler çoğunlukla küresel, nadiren subgloboz şekilli ve 3–4 µm çapındadır (Şekil 4.2.1.14).

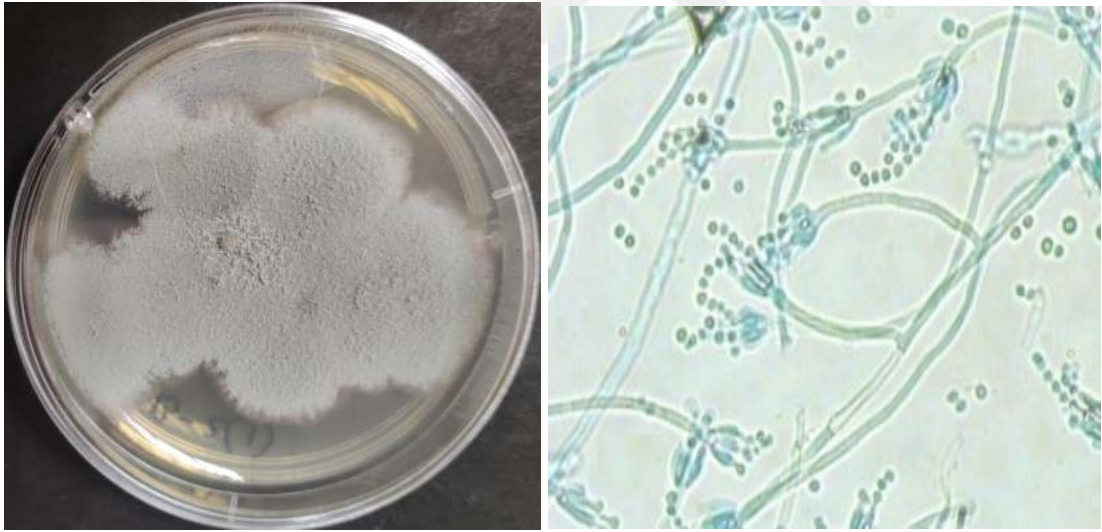


Şekil 4.2.1.14. *Penicillium brevicompactum*'un koloni görünümü ve penisilli yapısı (400X)

4.2.1.15. *Penicillium glabrum* (Wehmer) Westling 1911

Koloni Özellikleri: CYA25 besiyerinde gelişen kolonilerin yüzeyi donuk yeşil, alt yüzeyi ise yeşilimsi sarı tonlarında gözlenmiştir. Koloniler hızlı büyüme göstermiş olup, inkübasyonun yedinci gününde çapları 5–6 cm'ye ulaşmaktadır. Koloni yüzeyi velutinoz dokulu olup, koloniler yaşlandıkça eksuda oluşumu gözlemlenmektedir (Şekil 4.2.1.15).

Mikroskopik Özellikler: CYA25 besiyerinde gelişen konidioforlar 100–200 μm uzunluğunda ve 4–7 μm genişliğinde olup, düz veya nadiren hafif pürüzlü çeperli ve renksizdir. Penisillus yapısı bivertisillat şeklindedir. Sterigmalar 8–12 μm uzunluğunda ve 3–4 μm genişliğinde ölçülmüş olup, konidiler düz çeperli, küresel şekilli ve 3–4 μm çapındadır. (Şekil 4.2.2.15).

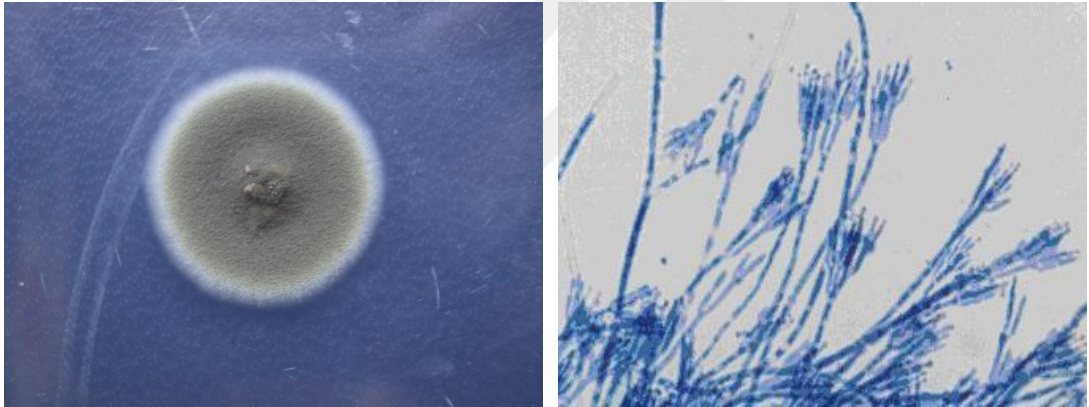


Şekil 4.2.1.15. *Penicillium glabrum*'un koloni görünümü ve penisilli yapısı (400X)

4.2.1.16. *Penicillium italicum* Wehmer 1894

Koloni Özellikleri: CYA25 besiyerinde gelişen kolonilerin yüzeyi donuk yeşil-gri renkte, alt yüzeyi ise açık kahverengi tonlarında gözlenmiştir. Koloniler yavaş büyüme göstermiş olup, inkübasyonun yedinci gününde çapları 3–4 cm'ye ulaşmaktadır. Koloni yüzeyi velutinoz dokulu bir yapıya sahiptir (Şekil 4.2.1.16).

Mikroskopik Özellikler: CYA25 besiyerinde gelişen konidioforlar 200–250 μm uzunluğunda ve 4–6 μm genişliğinde olup, renksiz ve düz çeperli yapıdadır. Penisillus tervertisillat şeklindedir. Sterigmalar silindirik formda, 10–12 μm uzunluğunda ve 3–4 μm genişliğinde ölçülmüş; konidiler elipsoidal, düz çeperli ve 3–5 μm uzunluğunda, 4–8 μm genişliğinde bulunmuştur. (Şekil 4.2.1.16).

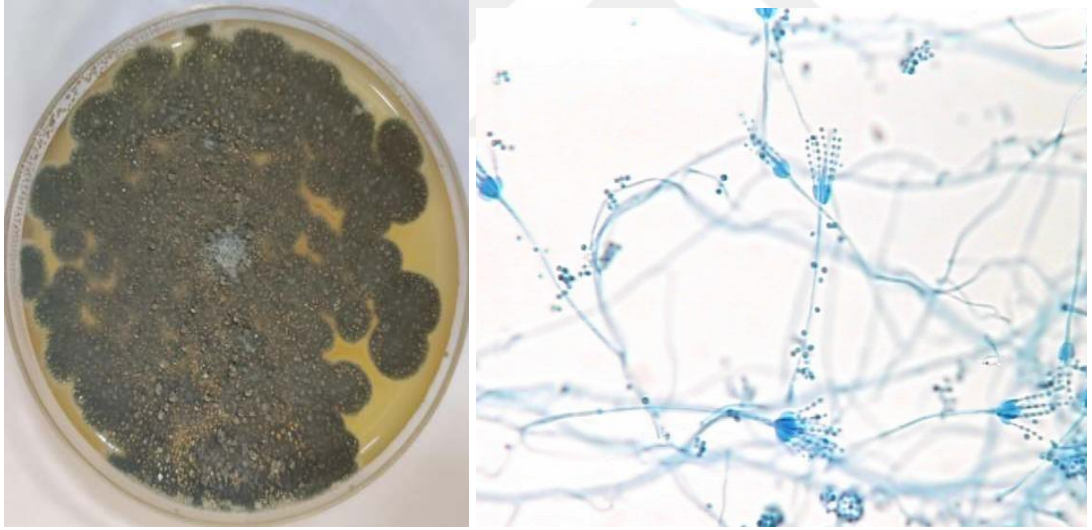


Şekil 4.2.1.16. *Penicillium italicum*'un koloni görünümü ve penisilli yapısı (400X)

4.2.1.17. *Penicillium verrucosum* Dierckx 1901

Koloni Özellikleri: CYA25 besiyerinde gelişen kolonilerin yüzeyi donuk yeşil, alt yüzeyi ise açık sarı renkte gözlenmiştir. Koloniler yavaş büyüme göstermiş olup, inkübasyonun yedinci gününde çapları 2,5–3 cm'ye ulaşmaktadır. Koloni yüzeyi velutinoz dokulu olup, eksuda oluşumu gözlemlenmiştir. (Şekil 4.2.1.17).

Mikroskopik Özellikler: CYA25 besiyerinde gelişen konidioforlar dalgalı çeperli, renksiz olup 200–250 µm uzunluğa ve 4–6 µm genişliğe sahiptir. Penisillus yapısı tervertisillat şeklindedir. Sterigmalar 7–9 µm uzunluğunda ve 4–6 µm genişliğinde ölçülmüştür. Konidiler çoğunlukla küresel, nadiren elipsoidal olup, düz çeperli ve 2–3 µm çapındadır (Şekil 4.2.1.17).

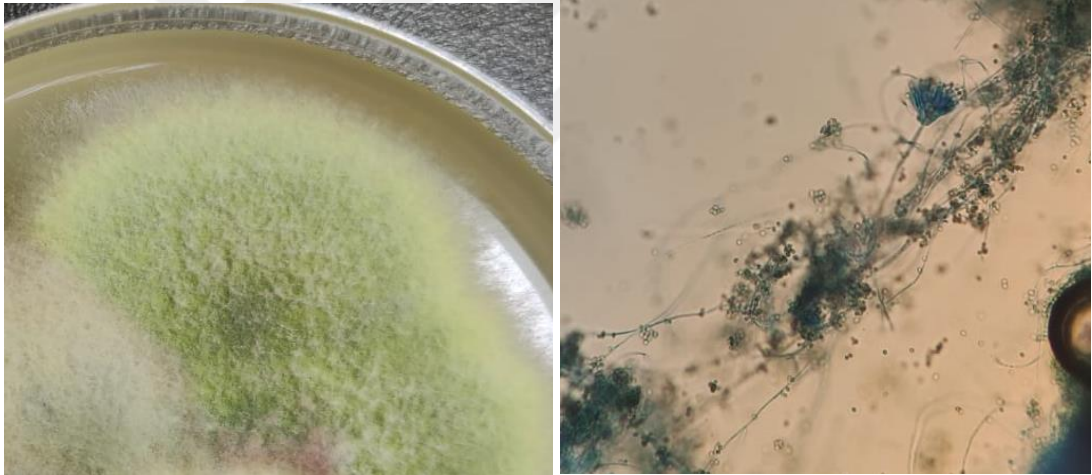


Şekil 4.2.1.17. *Penicillium verrucosum* 'un koloni görünümü ve penisilli yapısı (400X)

4.2.1.18. *Penicillium pinophilum* Hedge 1910

Koloni Özellikleri: PDA besiyerinde gelişen kolonilerin yüzeyi yeşil, alt yüzeyi ise açık sarı renkte gözlenmiştir. Koloniler hızlı büyüme göstermiş olup, inkübasyonun yedinci gününde çapları 6–7 cm'ye ulaşmaktadır. Koloni yüzeyi velvet dokulu bir yapı sergilemektedir. (Şekil 4.2.1.18).

Mikroskopik Özellikler: PDA besiyerinde gelişen konidioforlar düz yapılı olup, 200 µm uzunluğunda ve 3–5 µm genişliğindedir. Sterigmalar 6–8 µm uzunluğunda ve 3–5 µm genişliğinde ölçülmüştür. Konidiler genellikle küresel, nadiren eliptik şekilli, düz çeperli ve 2–3 µm çapındadır (Şekil 4.2.1.18).

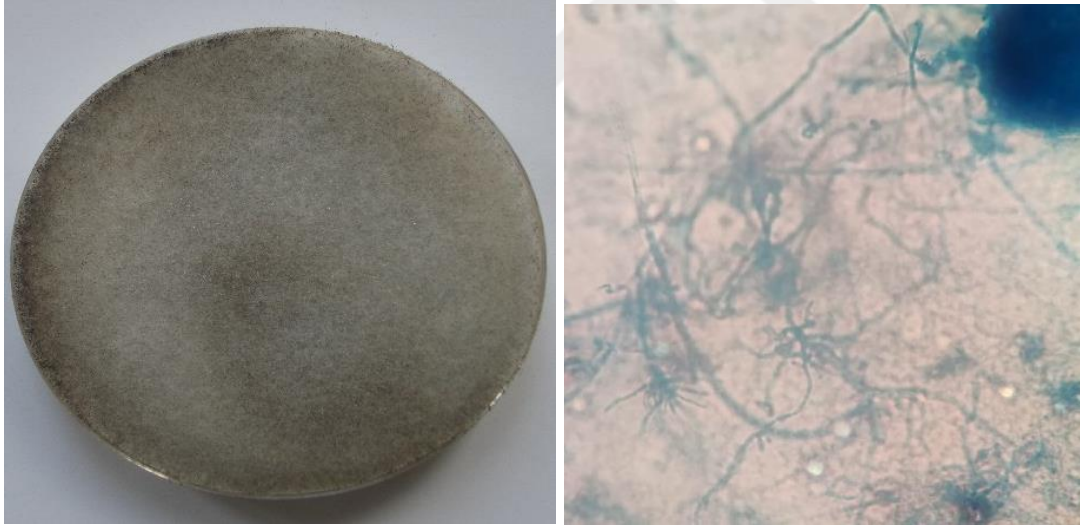


Şekil 4.2.1.18. *Penicillium pinophilum* 'un koloni görünümü ve penisilli yapısı (400X)

4.2.1.19. *Rhizopus oryzae* Went & Prins. Geerl. 1895

Koloni Özellikleri: MEA besiyerinde koloni, üst yüzeyinde koyu gri, alt kısmında ise açık kahverengi renkte gözlenmiştir. Koloni gelişimi hızlı olup, inkübasyonun dördüncü gününde petri kabının tamamını kaplamaktadır (Şekil 4.2.1.19).

Mikroskopik Özellikler: MEA besiyerinde sporangioforlar genellikle düz çeperli olup, 500–700 µm uzunluğunda ve 8–15 µm genişliğinde gözlenmiştir. Rizoidler koyu kahverengi renkte, sporangiumlar ise globoz şekilli, koyu kahverengi ve 50–80 µm çapındadır. Sporangiosporlar çoğunlukla elipsoidal, nadiren globoz formda, düz çeperli ve 5–8 × 3–4 µm boyutlarındadır (Şekil 4.2.19).

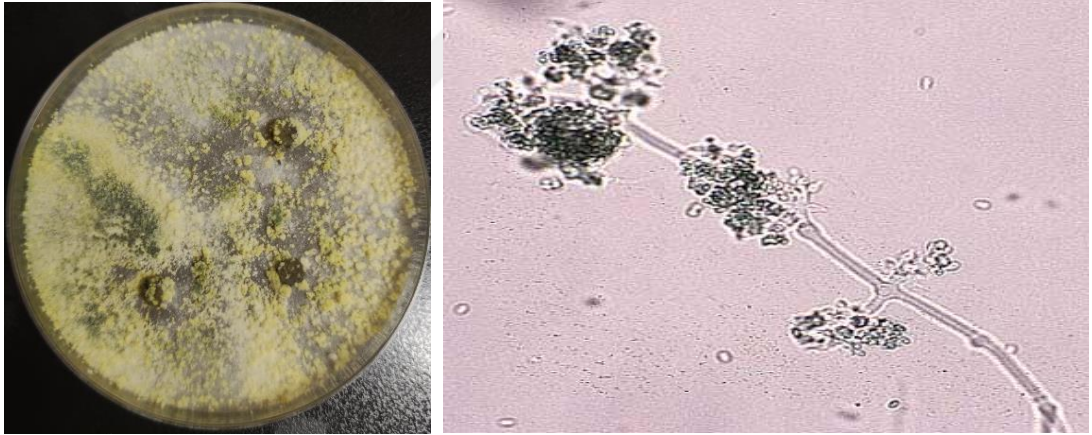


Şekil 4.2.1.19. *Rhizopus oryzae* 'nin koloni görünümü ve sporangium yapısı (400X)

4.2.1.20. *Trichoderma viride* Pers. 1794

Koloni Özellikleri: MEA besiyerinde koloni, üst yüzeyinde koyu yeşil, alt kısmında ise açık sarı renkte gözlenmiş olup, koloni gelişimi oldukça hızlıdır ve genellikle inkübasyonun beşinci gününde petri kabının tamamını kaplamaktadır (Şekil 4.2.1.20).

Mikroskopik Özellikler: MEA besiyerinde konidioforlar dallanmış ve bölmeli yapıda olup, 200–250 μm uzunluğunda ve 4–5 μm genişliğindedir; üzerinde çok sayıda kısa yan dal bulunur. Sterigmalar, bir yan dal üzerinde genellikle 3–4 adet olup, boyutları $8-10 \times 2-3 \mu\text{m}$ 'dir. Konidiler çoğunlukla globoz, nadiren elipsoidal, pürüzlü çeperli, koyu yeşil renkte ve 3–4 μm çapındadır (Şekil 4.2.1.20).



Şekil 4.2.1.20. *Trichoderma viride*'nin koloni görünümü ve konidiumları (400X)

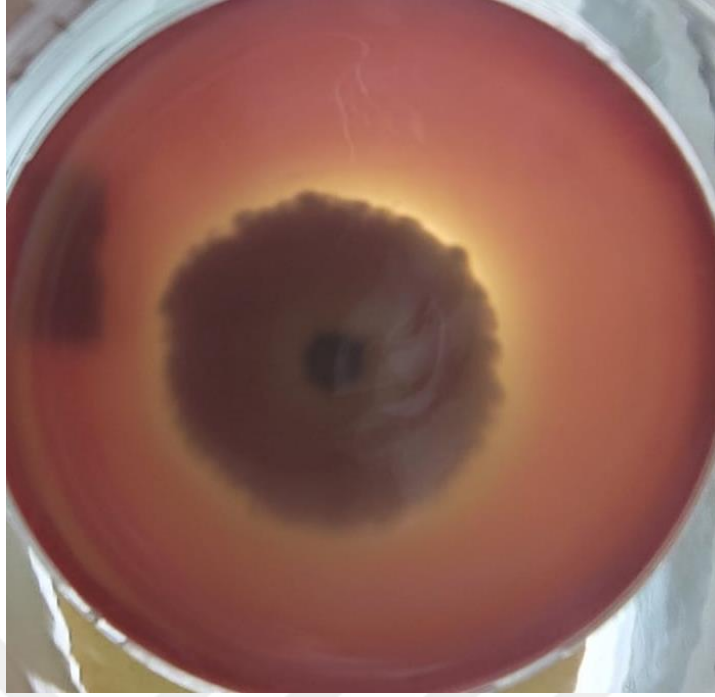
4.2.2. Mikrofungusların Hemolitik Aktiviteleri

Tablo 4.2.2.1. Mikrofungusların hemolitik aktivite değerleri

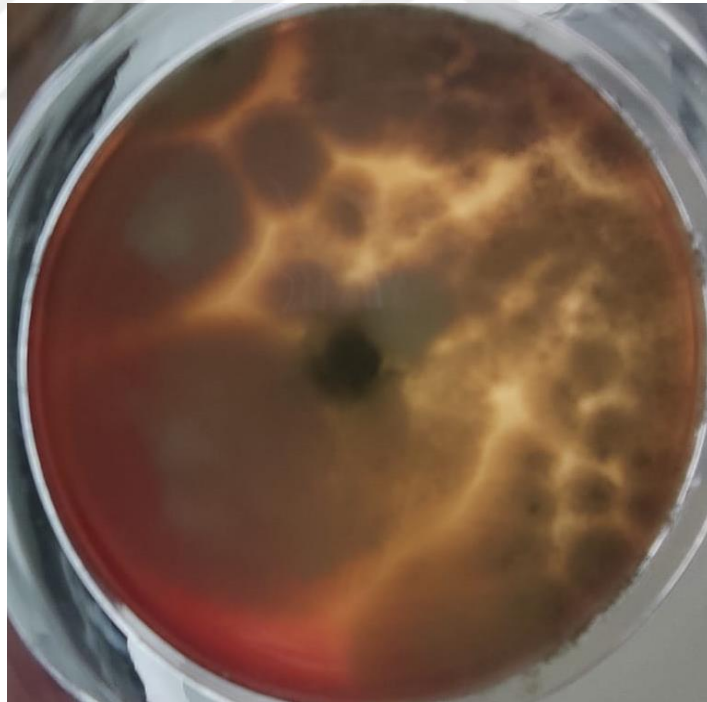
Tür isimleri	α	β	γ
<i>A.alternata</i> TB-6(3)		++	
<i>A.citri</i> AB-3(1)	++++		
<i>A.tenuissima</i> FEF-2(7)			++++
<i>A.flavus</i> AB-9(1)	++		
<i>A.fumigatus</i> FB-2(37)	++++		
<i>A.niger</i> MB-2(3)		++	
<i>A.wentii</i> FEF-7(4)		+++	
<i>C.cladosporidies</i> FEF-3(3)		++++	
<i>C.herbarum</i> MB-7(6)		++++	
<i>C.oxysporum</i> AB-2(6)		+++	
<i>C.hawaiiensis</i> MB-9(47)		++++	
<i>E.nigrum</i> FEF-2(1)	++		
<i>F.proliferatum</i> MB-1(101)			++++
<i>P.brevicompactum</i> MB-5(1)		+++	
<i>P.glabrum</i> FB-3(33)		++++	
<i>P.italicum</i> AB-2(1)		+++	
<i>P.pinophilum</i> MB-1(2)		++++	
<i>P.verrucosum</i> FB-4(1)		+++	
<i>R.oryzae</i> MB-6(1)			++
<i>T.viride</i> TB-1(33)			++++

“+” aktivite yok; “++” aktivite düşük; “+++” aktivite iyi; “++++” aktivite çok iyi

Hemolitik besiyerine ekimi gerçekleştirilen 20 türden dördünün (% 20,0) alfa, onikisinin (% 60,0) beta ve dördünün (% 20,0) gama hemoliz yaptığı belirlenmiştir.



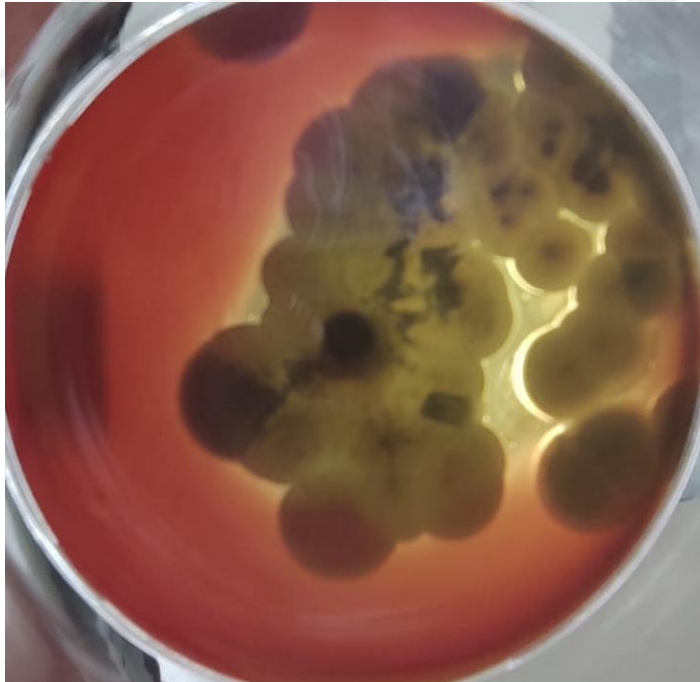
Şekil 4.2.2.1. *Alternaria citri*'nin alfa hemoliz görüntüsü.



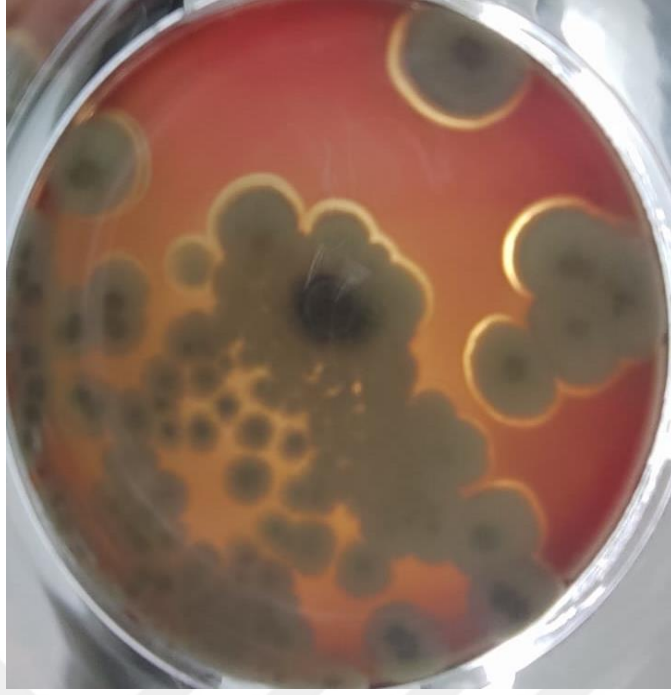
Şekil 4.2.2.2. *Aspergillus fumigatus* 'un alfa hemoliz görüntüsü



Şekil 4.2.2.3. *Cladosporium cladosporidies*'in beta hemoliz görüntüsü



Şekil 4.2.2.4. *Penicillium glabrum* ' un beta hemoliz görüntüsü



Şekil 4.2.2.5. *Penicillium italicum* 'un beta hemoliz görüntüsü



Şekil 4.2.2.6. *Penicillium pinophilum* 'un beta hemoliz görüntüsü.



Şekil 4.2.2.7. *Fusairum proliferatum* 'un gama hemoliz görüntüsü

4.2.3. Mikrofungusların Amilaz Aktiviteleri

Tablo 4.2.3.1. Mikrofungusların amilaz aktivite değerleri

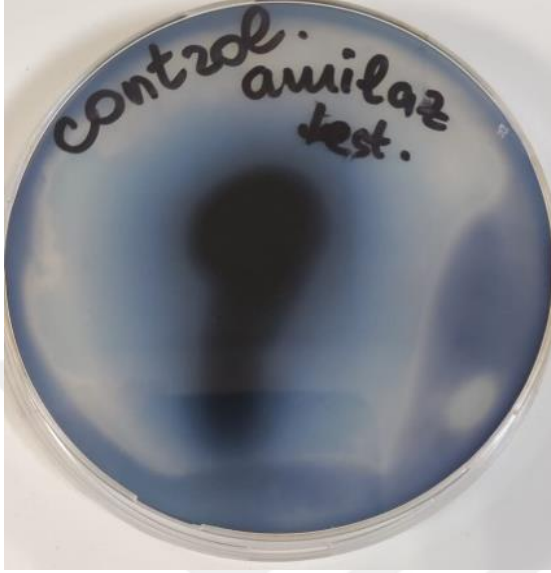
Tür isimleri	Amilaz aktiviteleri
<i>Alternaria alternata</i> TB-6(3)	++++
<i>Alternaria citri</i> AB-3(1)	++++
<i>Alternaria tenuissima</i> FEF-2(7)	+
<i>Aspergillus fumigatus</i> FB-2(37)	++
<i>Aspergillus niger</i> MB-2(3)	+++
<i>Aspergillus wentii</i> FEF-7(4)	+
<i>Cladosporium cladosporidies</i> FEF-3(3)	+++
<i>Cladosporium oxysporum</i> AB-2(6)	++
<i>Curvularia hawaiiensis</i> MB-9(47)	+
<i>Epicoccum nigrum</i> FEF-2(1)	+
<i>Fusarium proliferatum</i> MB-1(101)	+
<i>Penicillium brevicompactum</i> MB-5(1)	++++
<i>Penicillium glabrum</i> FB-3(33)	+++
<i>Penicillium pinophilum</i> MB-1(2)	+++
<i>Trichoderma viride</i> TB-1(33)	+

“+” aktivite yok; “++” aktivite düşük; “+++” aktivite iyi; “++++” aktivite çok iyi

Amilaz enzimi açısından taranan mikrofungus türleri içerisinde *Alternaria alternata*, *Alternaria citri* ve *Penicillium brevicompactum* diğerlerine göre daha geniş zonlar oluşturmuşlardır (Tablo 4.2.3.1).

Seçilen mikrofungusların amilaz aktivitesini belirlemek amacıyla karbon kaynağı olarak sadece nişasta içeren besiyerine ekimleri yapılmış ve 26°C’de 4 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresinin sonunda gelişen mikrofungus kolonilerinin çevresine lugol çözeltisi damlatılmıştır. Lugol, parçalanmamış nişasta ile mavi-siyah renk kompleksi oluşturduğundan, nişastanın hidrolize edildiği bölgelerde renk açılması gözlenmesi amilaz aktivitesinin varlığını göstermiştir. Elde ettiğimiz pozitif sonuçlarda, mikrofunguslar nişastayı parçalayan amilaz enzimi üretmiş ve nişasta moleküllerini daha küçük şeker birimlerine hidrolize etmiştir. Bu durum, kolonilerin çevresinde iyot etkisiyle oluşan şeffaf zonlarla kanıtlanmıştır. Dolayısıyla ilgili fungusların amilolitik potansiyel taşıdığı

belirlenmiştir. Elde ettiğimiz negatif sonuçlarda, mikrofunguslar nişastayı parçalayan amilaz enzimi üretmemiştir. Bu nedenle, besiyerinde nişastanın varlığı korunmuş ve iyot ile tüm besiyerinin mavi-siyah renk aldığı gözlenmiştir. Bu durum, ilgili mikrofungusların amilaz aktivitesine sahip olmadığını göstermektedir.



Şekil 4.2.3.1. Kontrol besiyeri



Şekil 4.2.3.2. *Alternaria alternata* 'nın amilaz aktivitesi görünümü



Şekil 4.2.3.3. *Alternaria citri* 'nin amilaz aktivitesi görünümü



Şekil 4.2.3.4. *P. brevicompactum* 'un amilaz aktivitesi görünümü

4.2.4. Mikrofungusların Proteaz Aktiviteleri

Tablo 4.2.4.1. Mikrofungusların proteaz aktivite değerleri

Tür isimleri	Proteaz aktivitesi
<i>Alternaria alternata</i> TB-6(3)	++
<i>Alternaria citri</i> AB-3(1)	+++
<i>Aspergillus flavus</i> AB-9(1)	+++
<i>Aspergillus fumigatus</i> FB-2(37)	+
<i>Aspergillus niger</i> MB-2(3)	+
<i>Aspergillus wentii</i> FEF-7(4)	++++
<i>Cladosporium cladosporidies</i> FEF-3(1)	++
<i>Cladosporium oxysporum</i> AB-2(6)	++++
<i>Penicillium brevicompactum</i> MB-5(1)	+++
<i>Penicillium glabrum</i> FB-3(33)	++++
<i>Penicillium italicum</i> AB-2(1)	+++
<i>Penicillium pinophilum</i> MB-1(2)	+
<i>Penicillium verrucosum</i> FB-4(1)	+++
<i>Trichoderma viride</i> TB-1(33)	+

“+” aktivite yok; “++” aktivite düşük; “+++” aktivite iyi; “++++” aktivite çok iyi

Mikrofungusların proteaz aktivitesini belirlemek amacıyla besiyerine süt tozu (skim milk) eklenmiştir. İnokülasyon sonrası 26°C’de 5 gün inkübasyona bırakılmışlardır. İnkübasyon sonrası fungus kolonilerinin çevresinde protein hidrolizine bağlı renk açılması (saydamlaşma zonu) gözlenmiştir. Elde ettiğimiz pozitif sonuçlarda, mikrofunguslar besiyerindeki süt proteini olan kazeini hidrolize eden proteaz enzimi üretmişler ve bunun sonucu olarak kolonilerin çevresinde saydam zonlar oluşmuştur. Çalışmamızda *Aspergillus wentii*, *Cladosporium oxysporum* ve *Penicillium glabrum* türlerine ait izolatlar diğer izolatlara göre daha iyi sonuçlar vermiştir (Şekil 4.2.4.1 – 4.2.4.3).



Şekil 4.2.4.1. *C. oxysporum* 'un proteaz aktivitesi görüntüsü



Şekil 4.2.4.2. *P. glabrum* 'un proteaz aktivitesi görüntüsü



Şekil 4.2.4.3. *Aspergillus wentii*'nin proteaz aktivitesi görüntüsü

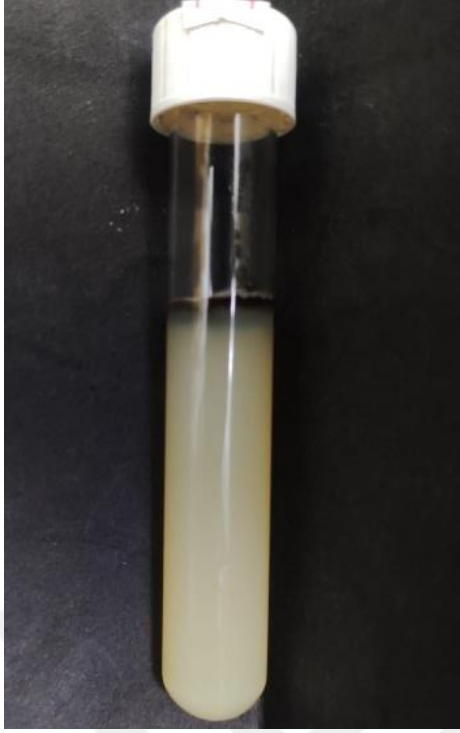
4.2.5. Mikrofungusların Lipaz Aktiviteleri

Tablo 4.2.5.1. Mikrofungusların lipaz aktivite değerleri

Tür isimleri	Lipaz aktivitesi
<i>Alternaria alternata</i> TB-6(3)	+++
<i>Alternaria citri</i> AB-3(1)	++
<i>Alternaria tenuissima</i> FEF-2(7)	++
<i>Aspergillus fumigatus</i> FB-2(37)	++++
<i>Aspergillus niger</i> MB-2(3)	++
<i>Aspergillus wentii</i> FEF-7(4)	++
<i>Cladosporium oxysporum</i> AB-2(6)	++
<i>Curvularia hawaiiensis</i> MB-9(47)	++++
<i>Epicoccum nigrum</i> FEF-2(1)	+
<i>Fusarium proliferatum</i> MB-1(101)	+++
<i>Penicillium brevicompactum</i> MB-5(1)	+++
<i>Penicillium glabrum</i> FB-3(33)	+++
<i>Penicillium pinophilum</i> MB-1(2)	++++
<i>Penicillium verrucosum</i> FB-4(1)	+++
<i>Trichoderma viride</i> TB-1(33)	++++

“+” aktivite yok; “++” aktivite düşük; “+++” aktivite iyi; “++++” aktivite çok iyi

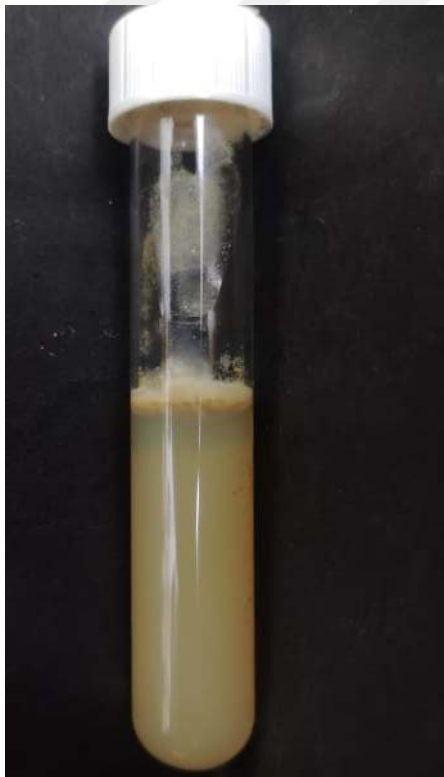
Mikrofungus izolatlarının lipaz üretim kapasitelerini belirlemek amacıyla besiyerine tribütrin ilave edilmiş sonrasında deney tüplerine eşit miktarda dağıtılmıştır. Mikrofungus inokülasyonları yapıldıktan sonra tüpler 26⁰C’de 7 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Tribütrin içeren ortam, lipaz varlığında hidrolize uğrayarak görünür değişikliklere yol açmaktadır. Elde ettiğimiz pozitif sonuçlarda, mikrofunguslar tribütrini hidrolize edebilen lipaz enzimi üretmiştir. Bunun sonucunda inokülasyon bölgesinden tüpün aşağı kısımlarına doğru saydamlaşma (çökme görünümü) oluşmuştur. Bu durum, ilgili mikrofungusların lipolitik aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda *Aspergillus fumigatus*, *Curvularia hawaiiensis*, *Penicillium pinophilum* ve *Trichoderma viride* türlerine ait izolatlar lipaz pozitif olarak belirlenmiştir (Şekil 4.2.5.1 – 4.2.5.4).



Şekil. 4.2.5.1. *C. hawaiiensis*'in
lipaz aktivitesi görüntüsü



Şekil. 4.2.5.2. *T. viride*'nin
lipaz aktivitesi görüntüsü



Şekil 4.2.5.3. *A. fumigatus*'un
lipaz aktivitesi görüntüsü

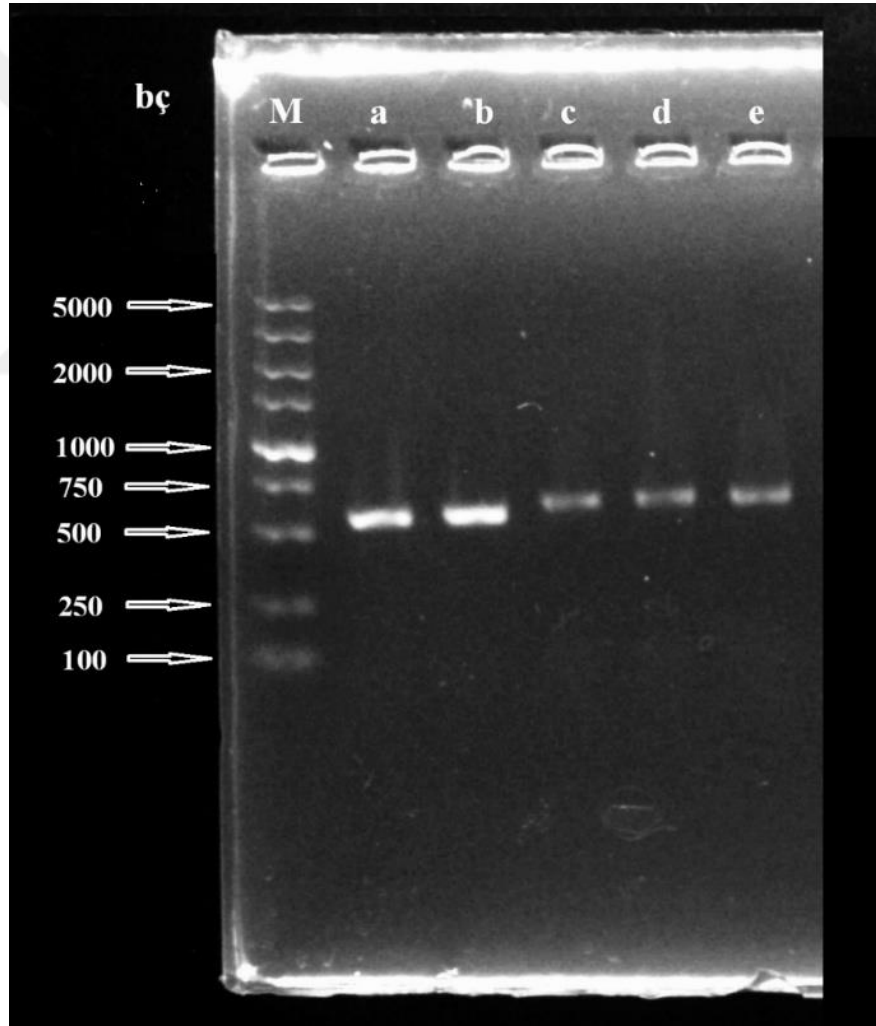


Şekil 4.2.5.4. *P. pinophilum*
lipaz aktivitesi görüntüsü

4.2.6. Seçilen Mikrofungusların Moleküler İdentifikasyonu

4.2.6.1. ITS1-5.8S-ITS2 rRNA Gen Bölgesinin PCR Amplifikasyonu

İdentifikasyon amacıyla seçilen her bir mikrofungusun ITS1-5.8S-ITS2 rRNA gen bölgesinin amplifikasyonu, Bölüm 3.5’te belirtilen yöntem, PCR bileşenleri ve koşulları kullanılarak, evrensel primerler ITS1 ve ITS4 aracılığıyla gerçekleştirilmiştir. Elde edilen PCR ürünleri, UV transillüminatörde (gLite gel scanner) incelenmiş; tek saf ve bank oluşturan örnekler sekans analizine hazırlanmak üzere ayrılarak -20 °C’de saklanmıştır. Toplam beş mikrofungusun PCR ürünleri sekans analizi için gönderilmiş ve sonuçlar elde edilmiştir. PCR ürünlerine ait agaroz jel görüntüsü Şekil 4.2.6.1.1’de sunulmaktadır.



Şekil 4.2.6.1.1. PCR Ürünlerinin Agaroz Jel Görüntüsü (M= 100 baz çifti (bç) DNA markır, a - e mikrofungus izolatlarının PCR ürünü).

4.2.6.2. ITS1-5.8S-ITS2 rRNA Gen Dizi Verilerinin Analizi, Gen Bankasındaki Sıralarla Karşılaştırılması ve Filogenetik Dendogramın Oluşması

ITS1-5.8S-ITS2 rRNA sekans verileri elde edildikten sonra, ham diziler BioEdit Sequence Alignment Editor (v. 7.7.1) ve MEGA 12 (v. 12.0.11) programları kullanılarak düzenlenmiştir. Muhtemel türlerin belirlenmesi amacıyla diziler, GenBank veritabanındaki verilerle karşılaştırılarak BLAST analizi yapılmıştır. Düzenlenen izolat sekanslarının GenBank ile karşılaştırılması sonucunda, en yüksek benzerliği (%97 ve üzeri) gösteren ve tanımlanan mikrofungusların bilgileri Çizelge 4.2.6.2.1’de sunulmuştur.

Tablo 4.2.6.2.1. ITS1-5.8S-ITS2 rRNA Dizilerinin Gen Bankası (NCBI: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) Verileri ile Karşılaştırılması.

İzolat No:	Eşleşen (En yüksek benzerlik gösteren) Muhtemel Cins/Tür	Sekans boyutu (bç)	Benzerlik (%)	Gen Bank Erişim No*	Atanan Cins/Tür**
MB-1-101	<i>Fusarium proliferatum</i> strain F8	576	96.48	OP482394	<i>Fusarium proliferatum</i>
MB-1-2	<i>Talaromyces pinophilus</i> isolate L22	602	98.24	JX684010	<i>Penicillium pinophilum</i>
FEF-7-4	<i>Aspergillus wentii</i> strain Asp38	608	98.90	MZ158613	<i>Aspergillus wentii</i>
FEF-3-3	<i>Cladosporium cladosporioides</i> strain CGF2	564	98.13	PQ821842	<i>Cladosporium cladosporioides</i>
TB-1-33	Kromatogram sonuçlarının kalitesi düşük olduğundan dolayı sekans verileri kullanılamamıştır.				

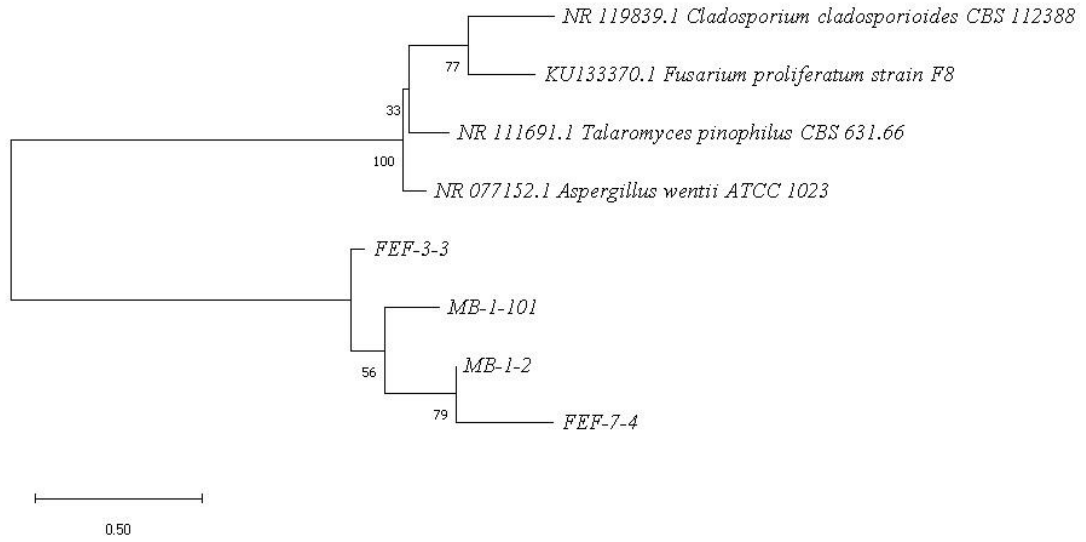
* GenBank erişim numaraları, en yüksek benzerlik gösteren muhtemel türleri temsil etmektedir.

**Son olarak belirlenen (atanan) türlerin tespitinde kültürel karakterlerden faydalanılmıştır.

Sonuçlarımıza göre mikrofunguslardan % 97 ve üzerinde benzerlik gösteren türler tabloda listelenmiştir. Toplamda yüksek benzerlik gösteren ve tür bazında

belirlenebilen mikrofungus sayısı 4'dür. MB-1-101 kodlu mikrofungus izolatımız %96.48 benzerlik oranıyla *Fusarium* sp. cinsine benzerlik göstermiş diğer kültürel testlerle desteklenerek *Fusarium proliferatum* olarak tanımlanmıştır. MB-1-2, FEF-7-4 ve FEF-3-3 kodlu mikrofungus izolatlarımız %98.24, %98.90 ve %98.13 benzerlik oranları ile sırasıyla *Penicillium pinophilum* (*Talaromyces pinophilus*), *Aspergillus wentii* ve *Cladosporium cladosporioides* olarak tür bazında tanımlamaları yapılmıştır.

ITS1-5.8S-ITS2 rRNA gen analizi filogenetik dendogramları için MEGA 12 (V, 12.0.11) programından yararlanılmış, databanklardan elde edilen yakın benzer mikrofungusların tip örneği gen dizileri ile seçilen mikrofungus izolatlarının gen dizileri karşılaştırılarak oluşturulan filogenetik ağaç Şekil 4.2.6.2.2'de verilmiştir.



Şekil 4.2.6.2.2. Seçilen ve Tanımlanan Mikrofungusların Tip Türleri ile Evrimsel İlişkileri. (Evrimsel analizler Neighbor-Joining metot ile 1000 replikattan elde edilen bootstrap (Felsenstein, 1985) konsensüs ağacı kullanılarak çıkarılmıştır. %50'den daha az filogenetik dallanmalar gösterilmemektedir. Evrimsel uzaklık Maksimum Kompozit Likelihood yöntemi kullanılarak hesaplanmıştır. Boşluklar ve eksik veriler içeren tüm pozisyonlar elenmiştir).

5. TARTIŞMA - SONUÇ

Çalışmamızda, 2023 Ekim ayı ile 2024 yılı Temmuz ayları arasında Manisa İl merkezinde belirlenen 5 istasyondan bina dışı havasal mikrofungusların Ekim, Ocak, Nisan, Temmuz aylarında gravimetrik yöntem kullanılarak izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Çalışma kapsamında 200 petri kabında toplam 4694 mikrofungus kolonisi sayılmış, tanımlama işlemleri neticesinde 9 genusa ait 20 tür teşhis edilmiştir. Belirlenen türlerin sayısal dağılımına göre, en yaygın dört cins sırasıyla *Aspergillus*, *Alternaria*, *Cladosporium* ve *Penicillium*'dur.

Örnekleme aylarına bakıldığında, ortalama en çok mikrofungus kolonisinin izole edildiği ay Nisan ayı olmuştur. 25 Nisan tarihinde güneyden esen rüzgarın ve çöl tozunun etkili olduğu, bundan dolayı mikrofungus koloni sayısının yüksek çıktığı düşünülmektedir. Bu örneklemede *Cladosporium spp.* baskın olmuştur.

Ortalama en az mikrofungus kolonisinin izole edildiği ay Temmuz ayı olmuştur. Temmuz ayında olan sıcaklığın mevsim normallerinin üstünde olması, yağışlı gün sayısının çok az olması ve havadaki nem oranının çok düşük olmasından dolayı izole edilen mikrofungus kolonilerinin sayısında azalma gözlemlenmiştir. Bu örneklemede *Alternaria spp.* baskın olmuştur.

Ekim ayında yağışlı ve rüzgarlı havanın etkisi, nem düzeyinde yükselme ve sıcaklığın fungal gelişim için ideal koşulları sağlaması, bitkisel ve hayvansal faaliyetlerin ve etkileşimlerin gittikçe azalması, yeterli sayıda mikrofungus kolonisinin izole edilmesini sağlamıştır. Bu örneklemede *Aspergillus spp.* baskın olmuştur.

Ocak ayı boyunca, yağışlı günlerin çok olması ve havanın rüzgarlı olmasından dolayı izolasyonda çıkması beklenen mikrofungusların sayısında düşüş ve soğuk havada bulunma olasılığı yüksek olan fungusların sayısında artış gözlemlenmiştir. Bu örneklemede *Cladosporium spp.* baskın olmuştur.

İstasyonlar açısından bakıldığında, en yüksek mikrofungus koloni izolasyonu gerçekleştirilen istasyon bir numaralı istasyon, Atatürk Ortaokulu Bahçesi olmuştur. Öğrencilerin okul bahçesinde aktif olduğu saatlerin ve ortaokulun şehrin merkezi konumunda olması gibi etkenlerden dolayı tespit edilen mikrofungus sayısının diğer istasyonlardan daha yüksek olduğu düşünülmektedir.

İzolasyonun gerçekleştirildiği ikinci istasyon olan Manisa Fen Lisesi Bahçesi bir numaralı istasyon ile karşılaştırıldığında lisenin şehrin merkezi konumundan uzak,

nispeten sakin olduğu alanda bulunması gibi etkenlerden dolayı mikrofungusların sayısında düşüş olduğu gözlemlenmiştir.

Üçüncü istasyon olan Muradiye’de izolasyon yapılan alanın karayoluna uzaklığı, sakin ve insani faaliyetlerin az olduğu alan olduğu için izole edilen mikrofungus sayısının az, ama genus çeşitliliğinin yüksek olduğu belirlenmiştir.

Örnekleme gerçekteştirildiği dördüncü istasyon olan MCBÜ Tıp Fakültesi Bahçesinin, Hastanenin Acil Girişine ve Otoparkına yakın olmasından dolayı izole edilen mikrofungus sayısının yüksek olduğu sonucuna varılmıştır.

İzolasyonun gerçekteştirildiği beşinci istasyon olan MCBÜ Fen-Edebiyat Fakültesi Bahçesi’nde, alanın genişliği, örneklemelerin öğrencilerin derste olduğu zamanlarda yapılması ve yaz aylarında öğrencilerin bulunmaması gibi faktörlerin, tespit edilen mikrofungus koloni sayısının diğer istasyonlara kıyasla daha düşük olmasına neden olduğu düşünülmektedir.

İç ve dış mekanlardaki havadaki fungusların yoğunluğu ve dağılımının belirlenmesi, insan yoğunluğunun fazla olduğu alanlarda yaşam kalitesini artırmak ve fungus kaynaklı sağlık problemlerini azaltmak açısından büyük önem taşımaktadır. Manisa İl merkezinin nüfus yoğunluğu ve tarımsal üretim bölgesi olması göz önüne alındığında havasal fungusların ve onların mevsimsel dağılımının belirlenmesi gerekmektedir. Ek olarak, uygun iklimsel koşulları sebebiyle bu bölge fungal gelişim için elverişli bir ortamdır.

Dünya genelinde pek çok ülkede gerçekteştirilen havasal fungus araştırmaları, ülkemizde özellikle son yıllarda artış göstermiştir. Bu kapsamda, İstanbul, Edirne ve Eskişehir’de birçok çalışma yapılmıştır (Asan et al., 2002, 2003, 2004). Ayrıca geçmiş yıllarda İzmir, Manisa, Bursa, Burdur ve Ankara gibi illerde de havasal fungusların tespiti amacıyla araştırmalar yürütülmüştür. (Şakıyan & İnceoğlu, 2003., Tatlıdıl et al. 2001, Şimşekli et al. 1999, Tamer et al. 1996, Ayata & Ekmekçi, 1992).

1994 yılında Manisa il merkezinde Tamer et al., tarafından gerçekteştirilen çalışmada, atmosferde bulunan *Cladosporium* ve *Alternaria* cinslerine ait sporlar sayılmış ve *Cladosporium* cinsine ait sporların daha yoğun olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuç çalışmamızda elde ettiğimiz sonuç ile az da olsa benzerlik göstermektedir. 1996 yılında Tamer et al., tarafından Manisa ilinde yapılan 2 farklı çalışmada seçilen bina içi istasyonların havasal fungal florası araştırılmıştır. Bu çalışmalarda sıklıkla

karşılaşılan genuslar olarak *Cladosporium*, *Alternaria*, *Penicillium* ve *Aspergillus* gösterilmiştir.

Şimşekli et al., 1998 yılında Bursa ilinde atmosferde *Aspergillus* ve *Penicillium* cinslerine ait türleri belirlemeyi ve bunların mevsimsel değişimlerini incelemeyi amaçlamıştır. Çalışma sonucunda, söz konusu türlerin özellikle ilkbahar ve sonbahar aylarında daha yoğun olarak gözlemlendiği tespit edilmiştir. Bu bulgular, bizim çalışmamızın sonuçlarıyla farklılık göstermektedir.

Dünya genelinde birçok ülkede havasal funguslarla ilgili çeşitli araştırmalar yürütülmektedir. Agarwal ve arkadaşları (1969), Hindistan'ın Delhi şehrinde fungal spor sayımlarını gerçekleştirmiş ve en sık rastlanan fungal cinslerin *Cladosporium*, *Alternaria* ve *Aspergillus* olduğunu belirlemişlerdir. Bu bulgular, çalışmamızın sonuçlarıyla kısmen benzerlik göstermektedir.

Menezes et al. (2004) Brezilya'nın Fortaleza şehrinde gerçekleştirdikleri çalışmada, *Aspergillus*, *Penicillium* ve *Cladosporium* cinslerine ait türlerin sıkça gözlemlendiğini rapor etmişlerdir. Bu bulgular, çalışmamızın sonucu ile benzerlik göstermektedir.

Fang et al. (2005) Çin'in başkenti Pekin'de yürüttükleri havasal fungus araştırmasında, genellikle *Cladosporium* cinsine ait türlerin daha baskın olduğunu ve bunu *Penicillium* ve *Aspergillus* cinslerinin takip ettiğini bildirmişlerdir. Bu bulgular çalışmamız ile benzerlik göstermektedir.

Bunun yanı sıra, hava gibi çeşitli ortamlardan fungus izolasyonu yapılırken karşılaşılan önemli sorunlardan biri, kullanılan besiyerlerinin tüm fungus türlerinin üreme ve gelişimi için uygun olmamasıdır. Olası en fazla sayıda fungusun izolasyonunu sağlamak amacıyla genel özellikte besiyerleri tercih edilse de, bazı funguslar bu besiyerlerinde yeterince gelişememekte veya diğer türlere kıyasla daha geç gelişim gösterdiklerinden rekabet edememektedir; bu nedenle, ortamda mevcut olsalar dahi izolasyonları mümkün olamamaktadır. Havadaki bazı fungus sporları insanlarda çeşitli alerjik reaksiyonlara yol açabilmektedir ve funguslar ile alerji arasındaki ilişkiyi inceleyen çok sayıda çalışma mevcuttur. (Agarwal et al. 1969, Tamer et al. 1994, Tatlidil et al. 2001, Yazıcıoğlu et al. 2004, Gelincik et al. 2005).

Genel olarak bakıldığında mikrofungusların enzim üretimi ve hemolitik aktiviteleri ile ilgili farklı yıllarda çeşitli çalışmalar yapılmıştır.

Salvin (1951) tarafından yapılan çalışmada, *Histoplasma spp.* *Blastomyces spp.* ve *Candida spp.* gibi patojenik mayaların hemolizin üretebilme potansiyeli araştırılmıştır. Bu çalışma bizim çalışmamız ile benzerlik göstermektedir.

Yokota et al. (1977), Ebina et al. (1983), Ebina et al. (1994) tarafından yapılan çalışmalarda *Aspergillus fumigatus*' un kültürlerinden saflaştırılan Asp- hemolizin proteininin güçlü hemolitik etki gösterdiği gösterilmiştir. Bu çalışma, bizim çalışmamız ile benzerlik göstermektedir.

Fischer et al. (1999) tarafından yapılan çalışmada kompost tesislerinde *Aspergillus fumigatus*'un toksin ve metabolitlerini içeren biyoaerosollerini rapor edilmiştir. Bu çalışma, bizim çalışmamız ile benzerlik göstermektedir.

Tanrisever et al. (2002) tarafından yapılan çalışmada, *Aspergillus niger* kaynaklı glükoamilazın, maltodekstrinden glikoz elde edilmesi amacıyla immobilizasyon yöntemi optimize edilmiştir. Bu çalışma bizim çalışmamız ile farklılık göstermektedir.

Linares et al. (2007) tarafından yapılan çalışmada HIV pozitif hastalardan elde edilen *Candida dubliniensis* ve *Candida albicans* suşları arasında virülanslarını, hyaluronidaz, kondritin sülfataz aktivitelerini ve hemolitik aktivitelerini karşılaştırmalı olarak incelemişlerdir. Bu çalışma, bizim çalışmamız ile enzimatik ve hemolitik aktivitelerin belirlenmesi gibi değerlere göre paralellik göstermektedir.

Greenhill et al. (2010) tarafından yaptıkları çalışmada gıdalardan izole ettikleri mantarların hemolitik aktivitelerini araştırmış ve bunun halk sağlığı açısından önemine dikkat çekmiştir. Bu çalışmanın verileri bizim çalışmamızın verileri ile paralellik göstermektedir.

Negi & Banerjee (2010) tarafından *Aspergillus awamori* (MTCC 6652) kullanılarak tek bir fermentasyon sisteminde hem amilaz hem de proteaz enzimlerinin üretimini kültür koşullarına bağlı olarak optimize etmeyi amaçlamışlardır. Bizim çalışmamızda ise çeşitli mikrofungusların 3 farklı enzim üretme potansiyeli araştırılmıştır. Bu çalışma, bizim çalışmamız ile farklılık göstermektedir.

Niyozima et al. (2013) tarafından *Aspergillus terreus* kaynaklı alkali proteazın fermentasyon ve saflaştırılması süreci, aynı zamanda deterjan formülasyonları gibi uygulamalarda potansiyelinin ortaya çıkarılması araştırılmıştır. Bu çalışma, bizim çalışmamız ile farklılık göstermektedir.

Aktaş & Yiğit (2015) tarafından yapılan çalışmada dermatofit funguslardan *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Trichophyton* ve *Candida* türlerinin hemolitik aktivite potansiyeli belirlenmeye çalışılmıştır. Bu çalışma, bizim çalışmamız ile benzerlik göstermektedir.

Velioğlu & Çelikyurt (2016) tarafından tarımsal atıklar kullanılarak *Bacillus amyloliquefaciens* ve *Aspergillus foeditus*'tan α -amilaz üretimi çalışması yapılırken bizim çalışmamızda doğal ortamdan izole edilen mikrofungusların enzim potansiyelini ortaya çıkarılmıştır. Bu çalışmada, kullanılan izolatların doğal ve çevresel kaynaklardan izole edilmesi bizim çalışmamız ile benzerlik göstermektedir.

Nema et al. (2019) *Aspergillus niger* (MTCC 872) suşunun katı hal fermentasyon ortamında lipaz üretimini agro-endüstriyel substrat bileşimlerinin etkisine göre optimize etmeyi amaçlamışlardır. Bu çalışma bizim çalışmamız ile farklılık göstermektedir.

Pandey et al. (2000), Van der Maarel et al. (2002), Chandra et al. (2020) tarafından yapılan araştırmalarda mikroorganizmalardan elde edilen amilaz, proteaz ve lipazların endüstrideki uygulamalarına dikkat çekilmiştir. Bizim çalışmamızda ise belirlenen enzim aktiviteleri, literatürdeki bu endüstriyel önemle paralellik göstermektedir.

Bhakdi et al. (1996), Gonzales et al. (2008) tarafından yapılan çalışmalarda bakterilerdeki por oluşturan toksinlere benzer olarak fungal hemolizinlerin de membranda por oluşturarak eritrositleri parçaladığı bilinmektedir. Bu çalışma, bizim çalışmamız ile benzerlik göstermektedir.

Anderluh & Macek (2002), Berne et al. (2002), Berne et al. (2009) tarafından yürütülen çalışmalarda ökaryotik mikroorganizmalardaki por oluşturan toksinlere benzer şekilde fungal hemolizinlerin de membranda por oluşturarak eritrositleri parçaladığı sonucuna varılmıştır. Bizim çalışmamızda gözlenen hemolitik zonlar, bu mekanizma ile uyumlu görünmüştür.

Literatürdeki çoğu çalışma genellikle tek bir mikroorganizma veya önceden seçilmiş bakteri veya fungus türleri ile optimizasyon ve endüstriyel üretim üzerine yoğunlaşmıştır. Bu çerçevede, bizim çalışmamız literatüre havadan izole edilen farklı genoslara ait olan fungal türlerin amilaz, proteaz, lipaz üretme ve hemolitik aktivite

potansiyelinin ortaya çıkarılmasında ve gelecekte optimizasyon çalışmaları ve endüstrinin çeşitli alanlarında uygulama için katkı sunmaktadır.

Çalışmamızda Manisa İl merkezi atmosferinde bulunan havasal fungusların tespiti, mevsimsel dağılımı, identifikasyonu ve belirlenen fungus türlerinin hem enzimatik hem de hemolitik açıdan değeriendirilmesi amaçlanmıştır. Araştırmamızdan elde edilecek verilerin tıp, eczacılık, ziraat ve gıda alanlarında yürütülecek olan gelecekteki çalışmalara rehberlik edeceği ve katkı sağlayacağı düşünölmektedir.



6. KAYNAKLAR

1. Agarwal, M. K., Shivpuri, D. N., & Mukerji, K. G. (1969). Studies on the allergenic fungal spores of the Delhi, India, metropolitan area. *Journal of Allergy*, 44(4), 193–203. [https://doi.org/10.1016/0021-8707\(69\)90086-0](https://doi.org/10.1016/0021-8707(69)90086-0)
2. Aktaş, E., & Yiğit, N. (2015). Hemolytic activity of dermatophytes species isolated from clinical specimens. *Journal de Mycologie Médicale*, 25(1), e25–e30. <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2014.10.014>
3. Anderluh, G., & Macek, P. (2002). Cytolytic peptide and protein toxins from sea anemones (Anthozoa: Actiniaria). *Toxicon*, 40(2), 111–124. [https://doi.org/10.1016/S0041-0101\(01\)00191-X](https://doi.org/10.1016/S0041-0101(01)00191-X)
4. Asan, A., Şen, B., & Sarıca, S. (2002). Airborne fungi in urban air of Edirne city (Turkey). *Turkish Journal of Botany*, 26(1), 59–68.
5. Asan, A., Kırız, T., Şen, B., Elipek, B. C., Güner, U., & Güher, H. (2003). Isolation, identification and seasonal distribution of airborne and waterborne fungi in Terkos Lake (Istanbul-Turkey). *Journal of Basic Microbiology*, 43(2), 83–95. <https://doi.org/10.1002/jobm.200390017>
6. Asan, A., İlhan, S., Şen, B., Erkara, I. P., Filik, C., Çabuk, A., Demirel, R., Türe, M., Ökten, S. S., & Tokur, S. (2004). Airborne fungi and actinomycetes concentrations in the air of Eskişehir City (Turkey). *Indoor and Built Environment*, 13(1), 63–74. <https://doi.org/10.1177/1420326X04033843>
7. Atik, S., & Tamer, A. Ü. (1994). Eskişehir (merkez ilçe)’de mikrofungal hava kirliliği. *Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Dergisi, Seri B*, 16(1), 1–10.
8. Ayata, C., & Ekmekçi, S. (1992). İzmir ilinin çeşitli semtlerinde ev içi ve ev dışı havasının mevsimsel fungal florası. *XI. Ulusal Biyoloji Kongresi Bildiri Kitabı*, Elazığ, Türkiye.
9. Battilani, P., Magan, N., & Logrieco, A. (2006). European research on ochratoxin A in grapes and wine. *International Journal of Food Microbiology*, 111(Suppl. 1), S2–S4. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.02.007>
10. Berne, S., Krizaj, I., Pohleven, F., Turk, T., Maček, P., & Sepčić, K. (2002). Pleurotus and Agrocybe hemolysins, new proteins hypothetically involved in fungal fruiting. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1570(2), 153–159. [https://doi.org/10.1016/S0304-4165\(02\)00190-3](https://doi.org/10.1016/S0304-4165(02)00190-3)
11. Berne, S., Lah, L., & Sepčić, K. (2009). Aegerolysins: Structure, function, and putative biological role. *Protein Science*, 18(4), 694–706. <https://doi.org/10.1002/pro.85>
12. Bhakdi, S., Bayley, H., Valeva, A., Walev, I., Walker, B., Kehoe, M., & Palmer, M. (1996). Staphylococcal alpha-toxin, streptolysin-O, and Escherichia coli hemolysin: Prototypes of pore-forming bacterial cytotoxins. *Archives of Microbiology*, 165(2), 73–79.
13. Bhattacharjee, K., Sarma, G. C., & Kalita, S. (2012). Aeromycological study in a bus terminus in Guwahati City, Assam. *Asian Journal of Experimental Biological Sciences*, 3(2), 311–319.
14. Buxton, R. (2005). Blood agar plates and hemolysis protocols. *American Society for Microbiology*. <https://asm.org/getattachment/7ec0de2b-bb16-4f6e-ba07-2aea25a43e76/protocol-28>
15. Burdsall, H. H., Jr., & Volk, T. J. (2008). Armillaria solidipes, an older name for the fungus called Armillaria ostoyae. *North American Fungi*, 3(7), 261–267. <https://doi.org/10.2509/naf2008.003.00717>

16. Van Burik, J. H., & Magee, P. T. (2001). Aspects of fungal pathogenesis in humans. *Annual Review of Microbiology*, 55, 743–772. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.55.1.743>
17. Callegan, M. C., Jett, B. D., Hancock, L. E., & Gilmore, M. S. (1999). Role of hemolysin BL in the pathogenesis of extraintestinal *Bacillus cereus* infection assessed in an endophthalmitis model. *Infection and Immunity*, 67(7), 3357–3366. <https://doi.org/10.1128/IAI.67.7.3357-3366.1999>
18. Chandra, P., Enespa, Singh, R., & Arora, P. K. (2020). Microbial lipases and their industrial applications: A comprehensive review. *Microbial Cell Factories*, 19, 169. <https://doi.org/10.1186/s12934-020-01428-8>
19. Chao, H. J., Schwartz, J., Milton, D. K., & Burge, H. A. (2002). Populations and determinants of airborne fungi in large office buildings. *Environmental Health Perspectives*, 110(8), 777–782. <https://doi.org/10.1289/ehp.02110777>
20. Codina, R., Fox, R. W., Lockey, R. F., DeMarco, P., & Bagg, A. (2008). Typical levels of airborne fungal spores in houses without obvious moisture problems during a rainy season in Florida, USA. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*, 18(3), 156–162.
21. Curiel, G. J., van Eijk, H. M. J., & Lelieveld, H. L. M. (1999). Process hygiene: Risk and control of airborne contamination. In R. K. Robinson, C. A. Batt, & P. Patel (Eds.), *Encyclopedia of food microbiology* (pp. 2372–2378). Academic Press.
22. Curtis, L., Lieberman, A., Stark, M., Rea, W., & Vetter, M. (2004). Adverse health effects of indoor moulds. *Journal of the Australasian College of Nutritional & Environmental Medicine*, 23(1), 38–42.
23. Çeter, T. (2008). *Kastamonu ili (Merkez) atmosferi polen ve sporları ve bunların meteorolojik faktörlerle değişimi Ocak 2006-Aralık 2007* (Doktora tezi). Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
24. Çeter, T., & Pınar, N. M. (2009). Studies on atmospheric aerofungi in Turkey and using methods. *Asthma Allergy Immunology*, 7(1), 3–10.
25. Dallongeville, A., Le Cann, P., Zmirou-Navier, D., Chevrier, C., Costet, N., Annesi-Maesano, I., & Blanchard, O. (2015). Concentration and determinants of molds and allergens in indoor air and house dust of French dwellings. *Science of the Total Environment*, 536, 964–972.
26. Ebina, K., Yokota, K., & Sakaguchi, O. (1983). Studies on the toxin of *Aspergillus fumigatus* XVI: Biological properties of Asp-hemolysin as a parasitic factor. *Japanese Journal of Medical Mycology*, 24(4), 245–252. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.06.039>
27. Ebina, K., Sakagami, H., Yokota, K., & Kondo, H. (1994). Cloning and nucleotide sequence of cDNA encoding Asp-hemolysin from *Aspergillus fumigatus*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Structure and Expression*, 1219(1), 148–150. [https://doi.org/10.1016/0167-4781\(94\)90258-5](https://doi.org/10.1016/0167-4781(94)90258-5)
28. Fang, Z., Ouyang, Z., Hu, L., Wang, X., Zheng, H., & Lin, X. (2005). Culturable airborne fungi in outdoor environments in Beijing, China. *Science of the Total Environment*, 350(1–3), 47–58. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2005.01.032>
29. Fischer, G., Müller, T., Ostrowski, R., & Dott, W. (1999). Mycotoxins of *Aspergillus fumigatus* in pure culture and in native bioaerosols from compost

- facilities. *Chemosphere*, 38(8), 1745–1755. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(98\)00391-9](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(98)00391-9)
30. Ford, W. W. (1911). The distribution of haemolysins, agglutinins, and poisons in fungi, especially the *Amanitas*, the *Entolomas*, the *Lactarius* and the *Inocybes*. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2(3), 285–318.
 31. Fukuchi, Y., Kudo, Y., Kumagai, T., Ebina, K., & Yokota, K. (1998). Oxidized low density lipoprotein inhibits the hemolytic activity of Asp-hemolysin from *Aspergillus fumigatus*. *FEMS Microbiology Letters*, 167(2), 275–280. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1998.tb13239.x>
 32. Gelincik, A. A., Büyüköztürk, S., Gül, H., Güngör, G., İşsever, H., & Çağatay, A. (2005). The effects of indoor fungi on the symptoms of patients with allergic rhinitis in İstanbul. *Indoor and Built Environment*, 14(5), 427–432. <https://doi.org/10.1177/1420326X05058107>
 33. Giorgio, C., Krempff, A., Guiraud, H., Binder, P., Tiret, C., & Dumenil, G. (1996). Atmospheric pollution by airborne microorganisms in the city of Marseilles. *Atmospheric Environment*, 30(1), 155–160. [https://doi.org/10.1016/1352-2310\(95\)00143-M](https://doi.org/10.1016/1352-2310(95)00143-M)
 34. Gonzalez, M. R., Bischofberger, M., Pernot, L., van der Goot, F. G., & Freche, B. (2008). Bacterial pore-forming toxins: The (w)hole story? *Cellular and Molecular Life Sciences*, 65(3), 493–507. <https://doi.org/10.1007/s00018-007-7434-y>
 35. Gravesen, S. (1979). Fungi as a cause of allergic disease. *Allergy*, 34(3), 135–154. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.11979.tb01562.x>
 36. Greenhill, A. R., Blaney, B. J., Shipton, W. A., Pue, A., Fletcher, M. T., & Warner, J. M. (2010). Haemolytic fungi isolated from sago starch in Papua New Guinea. *Mycopathologia*, 169(2), 107–115. <https://doi.org/10.1007/s11046-009-9235-3>
 37. Griffiths, W. D., & De Cosemo, G. A. L. (1994). The assessment of bioaerosols: A critical review. *Journal of Aerosol Science*, 25(8), 1425–1458. [https://doi.org/10.1016/0021-8502\(94\)90218-6](https://doi.org/10.1016/0021-8502(94)90218-6)
 38. Haleem Khan, A. A., Mohan, S., Manoharachary, C., Kunwar, I. K., & Waghay, S. (2009). Isolation, identification and testing for allergenicity of fungi from air-conditioned indoor environments. *Aerobiologia*, 25(2), 119–123. <https://doi.org/10.1007/s10453-009-9114-x>
 39. Henrici, A. T. (1939). An endotoxin from *Aspergillus fumigatus*. *Journal of Immunology*, 36(4), 319–338.
 40. Hjelmroos, M. (1993). Relationship between airborne fungal spore presence and weather variables. *Grana*, 32(1), 40–47. <https://doi.org/10.1080/00173139309436418>
 41. Hodgson, M. (2002). Indoor environmental exposures and symptoms. *Environmental Health Perspectives*, 110(Suppl 4), 663–667. <https://doi.org/10.1289/ehp.02110s4663>
 42. Holah, J. T., Rogers, S. J., Holder, J., Hall, K. E., Taylor, J., & Brown, K. L. (1995). *The evaluation of air disinfection systems* (R&D Report No. 13, pp. 1–22). Campden & Chorleywood Food Research Association.
 43. İmalı, A., Yalçınkaya, B., Koçak, M., & Koçer, F. (2008). Çorum ili atmosferinde hava ile taşınan alerjen funguslar. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR*, 6(1), 19–24.

44. Kaleli, İ. (2007). Firavunun laneti küf: *Stachybotrys chartarum*. *İnfeksiyon Dergisi*, 21(1), 33–36.
45. Kalyoncu, F. (2006). *Manisa il merkezinin bina içi ve bina dışı havasının fungus florasının ve mevsimsel dağılımlarının saptanması* (Doktora tezi). Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Manisa
46. Kalyoncu, F. (2010). Relationship between airborne fungal allergens and meteorological factors in Manisa City, Turkey. *Environmental Monitoring and Assessment*, 165(1–4), 553–558. <https://doi.org/10.1007/s10661-009-0966-x>
47. Kirtsideli, Y. İ., Vlasov, Y. D., Abakumov, V. E., Baranthsevich, P. E., Novozhilov, K. Y., Krylenkov, A. V., & Sokolov, T. V. (2017). Airborne fungi in Arctic settlement Tiksi (Russian Arctic coast of the Laptev Sea). *Czech Polar Reports*, 7(2), 300–310. <https://doi.org/10.5817/CPR2017-2-29>
48. Kochar, S., Ahlawat, M., Dahiya, P., & Chaudhary, D. (2014). Assessment of allergenicity to fungal allergens of Rohtak City, Haryana, India. *Allergy & Rhinology*, 5(2), 56–65. <https://doi.org/10.2500/ar.2014.5.0088>
49. Kumar, M., & Shukla, P. K. (2005). Use of PCR targeting of internal transcribed spacer regions and single-stranded conformation polymorphism analysis of sequence variation in different regions of rRNA genes in fungi for rapid diagnosis of mycotic keratitis. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(2), 662–668. <https://doi.org/10.1128/JCM.43.2.662-668.2005>
50. Kumar, S., Stecher, G., Suleski, M., Sanderford, M., Sharma, S., & Tamura, K. (2024). Molecular evolutionary genetics analysis version 12 for adaptive and green computing. *Molecular Biology and Evolution*, 41(1), 1–9. <https://doi.org/10.1093/molbev/msae263>
51. Latgé, J. P. (2001). The pathobiology of *Aspergillus fumigatus*. *Trends in Microbiology*, 9(8), 382–389. [https://pii: S0966-842X\(01\)02104-7](https://pii: S0966-842X(01)02104-7)
52. Li, C. S., & Kuo, Y. M. (1994). Characteristics of airborne microfungi in subtropical homes. *The Science of the Total Environment*, 155(2), 267–271. [https://doi.org/10.1016/0048-9697\(94\)90505-3](https://doi.org/10.1016/0048-9697(94)90505-3)
53. Lineras, B. E. C., Loreto, S. E., Silveira, P. C., Pozatti, P., Scheid, A. L., Santurio, M. J., & Alves, S. H. (2007). Enzymatic and hemolytic activities of *Candida dubliniensis* strains. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 49(3), 203–206. <https://doi.org/10.1590/S0036-46652007000400001>
54. Louise, R., & Cason, M. A. (1955). Fungus colony counts from airborne spores in Birmingham, Alabama. *Journal of Allergy*, 26(4), 367–372. [https://pii:0021-8707\(55\)90065-4](https://pii:0021-8707(55)90065-4)
55. Macek, P. (1992). Polypeptide cytolytic toxins from sea anemones (Actiniaria). *FEMS Microbiology Immunology*, 5(1–3), 121–129. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1992.tb05894.x>
56. Macher, J. M., Huang, F. Y., & Flores, M. (1991). A two-year study of microbiological indoor air quality in a new apartment. *Archives of Environmental Health*, 46(1), 25–29. <https://doi.org/10.1080/00039896.1991.9937448>
57. Martin, K. J., & Rygiewicz, P. T. (2005). Fungal-specific PCR primers developed for analysis of the ITS region of environmental DNA extracts. *BMC Microbiology*, 5(28), 1–11. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-5-28>
58. Menezes, E. A., Trindade, E. C. P., Costa, M. M., Freire, C. C. F., Cavalcante, M. S., & Cunha, F. A. (2004). Airborne fungi isolated from Fortaleza City, State of Ceará, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 46(3), 133–137. <https://doi.org/10.1590/S0036-46652004000300003>

59. Morey, P. R. (2007). Microbiological sampling strategies in indoor environments. In C. S. Yang & P. Heinsohn (Eds.), *Sampling analysis of indoor microorganism* (pp. 51–74). John Wiley & Sons, Inc. <https://doi.org/10.1002/0470112433>
60. Nayak, A. P., Green, B. J., Friend, S., & Beezhold, D. H. (2012). Development of monoclonal antibodies to recombinant terrelysin and characterization of expression in *Aspergillus terreus*. *Journal of Medical Microbiology*, 61(4), 489–499. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.039511-0>
61. Negi, S., & Banerjee, R. (2010). Optimization of culture parameters to enhance production of amylase and protease from *Aspergillus awamori* in a single fermentation. *African Journal of Biochemistry Research*, 4(3), 73–80.
62. Nema, A., Patnala, S. H., Mandari, V., Kota, S., & Devarai, S. K. (2019). Production and optimization of lipase using *Aspergillus niger* MTCC 872 by solid-state fermentation. *Bulletin of the National Research Centre*, 43(1), 82. <https://doi.org/10.1186/s42269-019-012-7>
63. Niyonzima, F. N., & More, S. S. (2013). Screening and optimization of cultural parameters for an alkaline protease production by *Aspergillus terreus* gr. under submerged fermentation. *International Journal of Pharmaceutical and Biological Sciences*, 4(1), 1016–1028.
64. Oskay, M. (2025). Optimization of colony polymerase chain reaction for the identification of actinobacteria by sequencing of the 16S rDNA. In L. Karthik (Ed.), *Protocols of Actinomycetes: Microbiology to gene editing* (1st ed., pp. 245–253). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781003398400>
65. Özmay, Y. A. (2007). *Adana'daki ev dışı (outdoor) fungusların izolasyonu, identifikasyonu, mevsimsel dağılımı ve alerjik hastalıklarla ilişkilendirilmesi* (Yüksek lisans tezi). Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
66. Özyaral, O. (2003, Eylül). Mikotoksinlerin sağlık üzerine etkileri. *Ulusal Mikotoksin Sempozyumu*, İstanbul.
67. Pandey, A., Nigam, P., Soccol, C. R., Soccol, V. T., Singh, D., & Mohan, R. (2000). Advances in microbial amylases. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 31(2), 135–152. <https://doi.org/10.1042/BA19990073>
68. Pipkin, M. E., & Lieberman, J. (2007). Delivering the kiss of death: Progress on understanding how perforin works. *Current Opinion in Immunology*, 19(3), 301–308. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2007.04.011>
69. Portnoy, J. M., Barnes, C. S., & Kennedy, K. (2004). Sampling for indoor fungi. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 113(2), 189–198. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2003.11.021>
70. Romero, J. A., Molina, A. M., & Vilches, E. D. (1999). Conidia of *Alternaria* in the atmosphere of the city of Córdoba, Spain in relation to parameters. *International Journal of Biometeorology*, 43(1), 45–49.
71. Salustiano, S. C., Andrade, N. L., Brandão, S. C. C., Azeredo, R. M. C., & Lima, S. A. K. (2003). Microbiological air quality of processing areas in a dairy plant as evaluated by the sedimentation technique and a one-stage air sampler. *Brazilian Journal of Microbiology*, 34(3), 255–259. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822003000300015>
72. Salvin, S. B. (1951). Hemolysin from the yeast-like phases of some pathogenic fungi. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 76(4), 852–854. <https://doi.org/10.3181/00379727-76-18653>

73. Saitou, N., & Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4(4), 406–425. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454>
74. Felsenstein, J. (1985). Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution*, 39(4), 783–791. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1985.tb00420.x>
75. Sher, D., Fishman, Y., Zhang, M., Nayak, S. K., Loya, Y., & Zlotkin, E. (2005). Hydralysins, a new category of β -pore-forming toxins in cnidaria. *Journal of Biological Chemistry*, 280(24), 22847–22855. <https://doi.org/10.1074/jbc.M414224200>
76. Smith, D. J., Griffin, D. W., & Schuerger, A. C. (2009). Stratospheric microbiology at 20 km over the Pacific Ocean. *Aerobiologia*, 26(1), 35–46. <https://doi.org/10.1007/s10453-009-9141-7>
77. Sousa, M. V., Richardson, M., Fontes, W., & Morhy, L. (1994). Homology between the seed cytolysin enterolobin and bacterial aerolysins. *Journal of Protein Chemistry*, 13(6), 659–667. [https://doi.org/0277-8033/94/1100-0659\\$07.00/0](https://doi.org/0277-8033/94/1100-0659$07.00/0)
78. Stepalska, D., & Wołek, J. (2009). Intradiurnal periodicity of fungal concentrations (*Alternaria*, *Botrytis*, *Didymella*, *Ganoderma*) in Cracow, Poland. *Aerobiologia*, 25(4), 333–340. <https://doi.org/10.1007/s10453-009-9137-3>
79. Subramanian, K., Winarsih, I., Keerthani, C., Ho, B., & Ding, J. L. (2014). Preferential silent survival of intracellular bacteria in hemoglobin-primed macrophages. *Journal of Innate Immunity*, 6(4), 515–529. <https://doi.org/10.1159/000358236>
80. Şakıyan, N., & İnceoğlu, Ö. (2003). Atmospheric concentrations of *Cladosporium Link* and *Alternaria Nees* spores in Ankara and the effects of meteorological factors. *Turkish Journal of Botany*, 27(1), 77–81. <https://journals.tubitak.gov.tr/botany/vol27/iss2/2>
81. Şimşekli, Y., Asan, A., & Gücin, F. (1998). Bursa ili'nin çeşitli semtlerinin ev dışı havasında bulunan *Penicillium*, *Aspergillus* türleri ve mevsimsel dağılımları. *Kökem Dergisi*, 21(1), 13–20.
82. Şimşekli, Y., Gücin, F., & Asan, A. (1999). Isolation and identification of indoor airborne fungal contaminants of food production facilities and warehouses in Bursa, Turkey. *Aerobiologia*, 15(3), 225–231.
83. Talbot, N. J. (1997). Fungal biology: Growing into the air. *Current Biology*, 7(2), 78–81.
84. Tamer, A. Ü., Ay, G., & Şahin, N. (1994). Manisa (merkez ilçe) atmosferindeki bazı alerjen fungus sporlarının belirlenmesi. *XII. Ulusal Biyoloji Kongresi*, Edirne.
85. Tamer, A. Ü., Kalmış, E., Şahin, N., & Turgut, R. (1996). Manisa'da yeni bir binadaki ev içi fungal hava kalitesinin bir yıllık incelenmesi. *XIII. Ulusal Biyoloji Kongresi*, İstanbul.
86. Tamura, K., Nei, M., & Kumar, S. (2004). Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(30), 11030–11035. www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0404206101
87. Tanrıseven, A., Uludağ, Y. B., & Doğan, S. (2002). A novel method for the immobilization of glucoamylase to produce from maltodextrin. *Enzyme and Microbial Technology*, 30(3), 406–409. [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(02\)00004-2](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(02)00004-2)

88. Tatlıdil, S., Bıçakçı, A., Akkaya, A., & Malyer, H. (2001). Burdur atmosferindeki allerjen *Cladosporium sp.* ve *Alternaria sp.* sporları. *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 8(4), 1–3.
89. Uztan, A. H., Ateş, M., Abacı, Ö., Gülbahar, O., Erdem, N., Çiftçi, Ö., & Boyacıoğlu, H. (2010). Determination of potential allergenic fungal flora and its clinical reflection in suburban elementary schools in Izmir. *Environmental Monitoring and Assessment*, 168(1–4), 691–702. <https://doi.org/10.1007/s10661-009-1144-x>
90. Van der Maarel, M. J. E. C., Van der Veen, B., Uitdehaag, J. C. M., Leemhuis, H., & Dijkhuizen, L. (2002). Properties and applications of starch-converting enzymes of the α -amylase family. *Journal of Biotechnology*, 94(2), 137–155. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(01\)00407-2](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(01)00407-2)
91. Velioğlu, H. M., & Çelikyurt, G. (2016). Farklı tarım artığı ürünlerden fungal ve bakteriyel α -amilaz enzimi üretiminin optimizasyonu. *JOTAF/Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 13(1), 27–35.
92. Vesper, S. J., & Vesper, M. J. (2004). Possible role of fungal hemolysins in sick building syndrome. *Advances in Applied Microbiology*, 55, 191–213. [https://doi.org/10.1016/S0065-2164\(04\)55007-4](https://doi.org/10.1016/S0065-2164(04)55007-4)
93. Wargocki, P., Sundell, J., Bischof, W., Brundrett, G., Fanger, P. O., Gynzelberg, F., Hanssen, S. O., Harrison, P., Pickering, A., Seppänen, O., & Wouters, P. (2002). Ventilation and health in non-industrial indoor environments: Report from a European multidisciplinary scientific consensus meeting (EUROVEN). *Indoor Air*, 12(2), 113–128. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0668.2002.01145.x>
94. White, T. J., Bruns, T., Lee, S., & Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, & T. J. White (Eds.), *PCR protocols: A guide to methods and applications* (pp. 315–322). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1>
95. Williams, C. C., Kuo, H. K., & Garey, D. N. (1973). Atmospheric mold counts in Toronto, Canada. *Annals of Allergy*, 31(2), 69–71.
96. Wilson, S. C., & Straus, D. C. (2002). The presence of fungi associated with sick building syndrome in North American zoological institutions. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 33(4), 322–327. <https://www.jstor.org/stable/20096231>
97. Yazıcıoğlu, M., Asan, A., Ones, U., Vatansever, U., Şen, B., Türe, M., Bostancıoğlu, M., & Pala, O. (2004). Indoor airborne fungal spores and home characteristics in asthmatic children from Edirne region of Turkey. *Allergologia et Immunopathologia*, 32(4), 197–203.
98. Yıldırım, Ş. T. (2009). Mikoloji. In A. Başustaoglu, A. Kubar, & M. Tanyüksel (Eds.), *Klinik Mikrobiyoloji* (9. baskı, ss. 1721–1936). Ankara: Atlas Kitapçılık.
99. Yokota, K., Shimada, H., Kamaguchi, A., & Sakaguchi, O. (1977). Studies on the toxin of *Aspergillus fumigatus*. VII. Purification and some properties of hemolytic toxin (Asp-hemolysin) from culture filtrates and mycelia. *Microbiology and Immunology*, 21(1), 11–22.