

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İsmail KESKİNKILIÇ

**MOLEKÜLER YÖNTEMLERİN KULLANIMI İLE TÜRKİYE
MORCHELLA (KUZUGÖBEĞİ) CİNSİ GENETİK
ÇEŞİTLİLİĞİNE KATKILAR**

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

ADANA-2019

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MOLEKÜLER YÖNTEMLERİN KULLANIMI İLE TÜRKİYE
MORCHELLA (KUZUGÖBEĞİ) CİNSİ GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİNE
KATKILAR**

İsmail KESKİNKILIÇ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

Bu tez ... /... /2017 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından oybirliği/oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Hatıra TAŞKIN
DANIŞMAN

Prof. Dr. Yeşim Yalçın MENDİ
ÜYE

Dr. Öğr. Üyesi Fuat BOZOK
ÜYE

Bu Tez Enstitümüz Biyoteknoloji Dalında hazırlanmıştır.
Kod No:

**Prof. Dr. Mustafa Gök
Enstitü Müdürü**

**Bu çalışma Ç. Ü. Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.
Proje No: FYL-2018-10495**

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirimlerin, çizelge ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri kanundaki hükümlere tabidir.

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MOLEKÜLER YÖNTEMLERİN KULLANIMI İLE TÜRKİYE MORCHELLA (KUZUGÖBEĞİ) CİNSİ GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİNE KATKILAR

İsmail KESKİNKILIÇ

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman : Doç. Dr. Hatıra TAŞKIN
Yıl: 2019, Sayfa: 71
Jüri : Doç. Dr. Hatıra TAŞKIN
: Prof. Dr. Yeşim Yalçın MENDİ
: Dr. Öğr. Üyesi Fuat BOZOK

Sunulan bu çalışmada, Türkiye *Morchella* (kuzugöbeği) cinsi çeşitliliğine DNA dizi analizlerine dayalı moleküler tekniklerin kullanımı ile katkılar sunulması hedeflenmiştir. Daha önce Türkiye’de yapılan çalışmalarda *Morchella* cinsinde önemli bir çeşitlilik yakalanmıştır. Bu araştırma ile bu çeşitliliğin artırılmasına çalışılmıştır. Türkiye’nin farklı bölge ve illerinden toplanan kuzugöbeği mantarı örnekleri ile yeni bir koleksiyon oluşturulmuştur. Bu koleksiyon, farklı gen bölgelerinin (ITS rDNA, 28S rDNA, EF-1 α , RPB1 ve RPB2) DNA dizi analizlerine dayalı yöntemle analizlenmiştir. Filogenetik ağaçlar, MEGA programında Maximum Likelihood (ML) analizi ile oluşturulmuştur. Çalışma sonucunda, koleksiyon içerisinde; *Morchella steppicola*, *M. dunensis*, *M. tridentina*, *M. importuna*, *M. eximia*, *M. dunalii*, *M. mediterraneensis*, *M. deliciosa*, *M. pulchella* ve *Mel-13* türleri tespit edilmiştir. Koleksiyonda yer alan bazı örneklerin tür adları, analizlenen tüm gen bölgelerinde tüm örnekler için kaliteli DNA dizileri elde edilemediği için sonraya bırakılmıştır. Bu örnekler; *M. laurentiana*, *M. eohespera* veya *M. purpurascens* türleri ile yüksek benzerlik göstermişlerdir. Filogenetik olarak bu kardeş türlerin ayırımı zor olmaktadır. Ayrıca koleksiyonda yer alan *M. steppicola*’nın Türkiye’de moleküler olarak doğrulanması ilk defa bu araştırma ile yapılmıştır. Çalışma halen devam etmekte olup, eksik gen bölgelerinin tamamlanması sağlanarak, tam olarak tür adı tespit edilemeyen türlerin tespiti yapılmaya çalışılacaktır. Ayrıca kısa süre içerisinde, tespit edilen türlerin mikroskopik analizleri de çalışma sonuçlarına eklenecektir.

Anahtar Kelimeler: *Morchella*, kuzugöbeği, genetik çeşitlilik, DNA dizi analizi, Türkiye

ABSTRACT

MSc THESIS

CONTRIBUTION TO GENETIC DIVERSITY OF MORCHELLA (MOREL) GENUS IN TURKEY USING MOLECULAR METHODS

İsmail KESKİNKILIÇ

UNIVERSITY OF CUKUROVA
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF BIOTECHNOLOGY

Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Hatıra TAŞKIN
Year: 2019, Page: 71
Juri : Assoc. Prof. Dr. Hatıra TAŞKIN
: Prof. Dr. Yeşim Yalçın MENDİ
: Asst. Prof. Dr. Fuat BOZOK

In this present study, increasing of *Morchella* (Morel) diversity of Turkey by using of molecular techniques based on DNA sequence analysis was aimed. A significant variety was reached in the genus *Morchella* with previous studies carried out in Turkey. In this research, it has been tried to increase this diversity. A new collection was created by collecting of *Morel* mushroom from different regions of Turkey. This collection was analysed by DNA sequence analysis of different gene regions (ITS rDNA, 28S rDNA, EF-1 α , RPB1 and RPB2). Phylogenetic trees were drawn using Maximum Likelihood (ML) analysis in MEGA program. At the end of the study, within the collection; *Morchella* steppicola, *M. dunensis*, *M. tridentina*, *M. importuna*, *M. eximia*, *M. dunalii*, *M. mediterraneensis*, *M. deliciosa*, *M. pulchella* and *Mel-13* were determined. The species names of some samples in the collection were left later because of the lack of quality DNA sequences for all samples in all gene regions analysed. These collections showed a high similarity with *M. laurentiana*, *M. eohespera* or *M. purpurascens*. Phylogenetically, these sister species are difficult to distinguish. Also, molecular confirmation of *M. steppicola* was carried out first time with this research in Turkey. The study has been still continued and the missing gene regions will be completed and the un identified species will be tried to describe. In addition, microscopic analysis of the species will be added to the study results in a short time.

Keywords: *Morchella*, morel, genetic diversity, DNA sequence analyses, Turkey

GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

Türkiye coğrafi konumu ve birçok medeniyete ev sahipliği yapmış zengin tarihi geçmişi nedeni ile genetik kaynaklar açısından önemli bir çeşitliliğe sahiptir. Avrupa kıtasında da uzantısı olan Türkiye'nin iki kıta arasında geçiş noktasında bulunması ve geçmişte ticaret açısından önem arz eden yolları bünyesinde bulundurması nedeni ile önemli bir çeşitliliği bünyesinde barındırmaktadır. Ayrıca, Pleistosen yani buzul döneminde, buzullarından Akdeniz kuşağına göçlerin, bu kuşakta yer alan ülkelerde genetik farklılıkları artırdığı bilinmektedir. Ülkemizde *Morchella* cinsi çeşitliliğinin de daha önce yapılan çalışmalarla önemli bir noktada olduğu bilinmektedir. Dünyada filogenetik verilerle desteklenerek tespit edilen türlerin en az üçte biri ülkemizde bulunmaktadır. Bu durum bu çeşitliliğin artacağına en büyük göstergesidir. Tüm bu nedenlerle sunulan bu çalışmada, Türkiye *Morchella* cinsi çeşitliliğine katkılar sunulması hedeflenmiştir.

Araştırmada, Türkiye'nin farklı bölge ve illerinden toplanan yeni bir koleksiyon oluşturulmuş, farklı gen bölgelerinin (ITS rDNA, 28S rDNA, EF-1 α , RPB1 ve RPB2) DNA dizi analizleri incelenmiştir. Filogenetik ağaçların oluşturulması, MEGA programı kullanımıyla Maximum Likelihood (ML) analizi ile yapılmıştır. Türlerin belirlenmesi, elde edilen DNA dizilerinin Genbankası verileri ile karşılaştırması ile yapılmıştır. Çalışma ile elde edilen DNA dizilerine en yüksek benzerlik gösteren ve güvenilir kabul edilen kaynaklardan sağlanan DNA dizileri filogenetik analizlerde kullanılmıştır.

Çalışma sonucunda, bazı örneklerin daha kesin bir şekilde tür adları sağlanabilirken, bazı örneklerin tahmininde elde edilen veriler yetersiz kalmıştır. Yetersiz kalınan bu örneklerin adlandırılmasında, daha çok kardeş türler olan *M. laurentiana*, *M. eohespera* ve *M. purpurascens* arasında kalınmıştır. Bu örneklerin doğru tür tahminlerinin yapılabilmesi için, kaliteli DNA dizisi elde edilemeyen gen bölgelerinden de başarılı sonuçlar alınarak çok genli değerlendirilmelerin yapılması ve mikroskobik özelliklerin de incelenerek göz önünde bulundurulması

gerekmektedir. Bu nedenle, bu örnekler üzerindeki çalışmalar devam ettirilmektedir. *M. purpurascens*, ülkemizde daha önce de bilinen bir türdür. Ancak ülkemizde daha önce *M. laurentiana* ve *M. eohespera* kaydı bulunmamaktadır. Bu nedenle, bu türlerin eksik bilgilerin tamamlanması sonucu teşhis edilmesi durumunda, ülkemiz *Morchella* çeşitliliğine katkı sağlanmış olacaktır. Aynı şekilde, bu çalışma ile Türkiye’de ilk defa *M. steppicola* türü moleküler verilerle desteklenerek sunulmuştur. Her ne kadar *M. steppicola* türü morfolojik olarak da kolaylıkla ayırt edilebilse de, dünya bilimi için moleküler destekli kanıtlar önem arz etmektedir. Ayrıca bu türün, Esculenta (sarı) *Morchella* grubunda yer alması ülkemiz için önem arz etmektedir. Çünkü Esculenta grubu, ülkemizde 5 adet olmak üzere az sayıda tür ile temsil edilmektedir. *M. steppicola* ile bu grup tür sayısı altıya yükselmiştir. Bu araştırmada daha rahat bir şekilde tanımlanan *Morchella dunensis*, *M. tridentina*, *M. importuna*, *M. eximia*, *M. dunalii*, *M. mediterraneensis*, *M. deliciosa*, *M. pulchella* ve *Mel-13* türleri Türkiye’de yapılan çalışmalarda moleküler verilerle desteklenerek tanımlanmış türler olmuşlardır. Ancak bu araştırma ile ek koleksiyonlar sağlanarak, ileriki çalışmalar için örnekler saklanmıştır.

TEŞEKKÜR

Öncelikle kısa bir süre önce aramızdan ayrılan rahmetli Prof. Dr. Saadet BÜYÜKALACA Hocamızı rahmetle anıyor kendisine verdiği desteklerden dolayı sonsuz teşekkürler ediyorum.

Tez çalışmam sırasında kıymetli bilgi, birikim ve tecrübeleri ile bana yol gösterici ve destek olan değerli danışman hocam Sayın Doç. Dr. Hatıra TAŞKIN Hocama teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Özellikle Tezimin laboratuvar çalışmaları kısmında büyük destekler veren Dr. Öğr. Üyesi Fuat BOZOK hocama çok teşekkür ederim.

Çalışmalarım boyunca yardımını hiç esirgemeyen değerli arkadaşım Gökhan BAKTEMUR'a teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ	I
ABSTRACT.....	II
GENİŞLETİLMİŞ ÖZET	III
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
ÇİZELGELER DİZİNİ	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ	X
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	XII
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	5
3. MATERYAL VE METOT	15
3.1. Materyal	15
3.2. Metot.....	21
3.2.1. Mantarların Toplanması ve Tanı Özelliklerinin Kaydedilmesi.....	21
3.2.2. Moleküler Analizler	22
3.2.2.1. DNA İzolasyonu	22
3.2.2.2. PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) Analizi.....	23
3.2.2.3. DNA Dizi Analizi	24
3.2.2.4. Filogenetik Analizler	25
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	27
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	57
KAYNAKLAR	63
ÖZGEÇMİŞ	71



ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 3.1. Çalışmada Kullanılan Koleksiyona Ait Bilgiler	15
Çizelge 3.2. Çalışmada Kullanılan Primer Dizinleri.....	24
Çizelge 4.1. Its Rdna Gen Bölgesi Dna Dizi Analizlerine Göre %100 Benzer Örnek Grupları Ve Grubu Temsilen Seçilen Örnekler.....	27
Çizelge 4.2. Diğer Gen Bölgelerinde Kullanılan Koleksiyon Numaraları.....	28
Çizelge 4.3. Its Rdna + 28s Rdna Gen Bölgeleri Sonuçlarına Göre Tür Tahminleri	30
Çizelge 4.4. Rpb1 Gen Bölgesine Sonuçlarına Göre Tür Tahminleri.....	31
Çizelge 4.5. Rpb2 Gen Bölgesi Sonuçlarına Göre Tür Tahminleri	32
Çizelge 4.6. Ef-1 α Gen Bölgesi Sonuçlarına Göre Tür Tahminleri.....	32
Çizelge 4.7. Çalışma Esnasında Tespit Edilen Türlerin Günümüze Kadar Elde Edilmiş Ekolojik Ve Dağılım Bilgileri (Kaynak: Loizides, 2017).....	54



- şekil 4.1. Its Rdna + 28s Rdna Gen Bölgeleri Dna Dizi Analizi Sonuçlarına Ve Maximum Likelihood Metoduna Göre Elde Edilmiş Filogenetik Ağaç (En Yüksek Log Likelihood Değeri -3082.06'dir. Bootstrap Değerleri İse Dallara Yakın Gösterilmiştir. Analiz 38 Sekans İle Yapılmıştır. Boşluk Ve Hataları İçeren Tüm Pozisyonlar Giderilmiştir. Final Datasette 533 Pozisyon Yer Almıştır.) 33
- Şekil 4.2. Rpb1 Gen Bölgesi Dna Dizi Analizi Sonuçlarına Ve Maximum Likelihood Metoduna Göre Elde Edilmiş Filogenetik Ağaç (En Yüksek Log Likelihood Değeri-1593.37'dir. Bootstrap Değerleri İse Dallara Yakın Gösterilmiştir. Analiz 18 Sekans İle Yapılmıştır. Boşluk Ve Hataları İçeren Tüm Pozisyonlar Giderilmiştir. Final Datasette 529 Pozisyon Yer Almıştır) 34
- Şekil 4.3. Rpb2 Gen Bölgesi Dna Dizi Analizi Sonuçlarına Ve Maximum Likelihood Metoduna Göre Elde Edilmiş Filogenetik Ağaç (En Yüksek Log Likelihood Değeri -2838.19'dir. Bootstrap Değerleri İse Dallara Yakın Gösterilmiştir. Analiz 17 Sekans İle Yapılmıştır. Boşluk Ve Hataları İçeren Tüm Pozisyonlar Giderilmiştir. Final Datasette 749 Pozisyon Yer Almıştır) 35
- Şekil 4.4. Ef-1 α Gen Bölgesi Dna Dizi Analizi Sonuçlarına Ve Maximum Likelihood Metoduna Göre Elde Edilmiş Filogenetik Ağaç (En Yüksek Log Likelihood Değeri -1730.82'dir. Bootstrap Değerleri İse Dallara Yakın Gösterilmiştir. Analiz 20 Sekans İle Yapılmıştır. Boşluk Ve Hataları İçeren Tüm Pozisyonlar Giderilmiştir. Final Datasette 550 Pozisyon Yer Almıştır) 36
- Şekil 4.5. (A, B) Edirne İlinden Toplanmış Olan *Morchella Steppicola*'nın Görünümü Fotoğraf: Ogün Demir (Tekirdağ Namık Kemal

Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Yüksek Lisans Öğrencisi)	40
Şekil 4.6. Çanakkale İlinden Toplanmış Olan <i>Morchella Dunensis</i> 'in Görünümü	42
Şekil 4.7. Isparta İlinden Toplanmış Olan <i>Morchella Tridentina</i> 'nın Görünümü	45
Şekil 4.8. (A) Isparta (B) Adana İllerinden Toplanmış Olan <i>Morchella Mediterraneensis</i> 'in Görünümü.....	46
Şekil 4.9. (A, C) Edirne-Yanmış Alan (B) Adana-Yangın Görmemiş Alan (D) Balıkesir Yanmış Alandan Toplanan <i>Morchella Importuna</i> 'nın Görünümü	48
Şekil 4.10. (A, B) Çanakkale İlinden Toplanmış Olan <i>Morchella Dunalii</i> 'nin Görünümü	50
Şekil 4.11. (A, B) Isparta İlinden Toplanmış Olan <i>Morchella Deliciosa</i> 'nın Görünümü	51
Şekil 4.12. (A, B) Erzincan İlinden Toplanmış Olan <i>Morchella Pulchella</i> 'nın Görünümü	52
Şekil 4.13. (A, B) Edirne İlinden Yanık Sahadan Toplanmış Olan <i>Morchella Eximia</i> 'nın Görünümü	53
Şekil 4.14. Çalışmada Tespit Edilen Türlerin Bir Arada Görünümü (A) <i>Morchella Steppicola</i> (B) <i>M. Dunensis</i> (C) <i>M. Tridentina</i> (D) <i>M. Mediterraneensis</i> (E) <i>M. Importuna</i> (F) <i>M. Dunalii</i> (G) <i>M. Deliciosa</i> (H) <i>M. Pulchella</i> (I) <i>M. Eximia</i>	55

SİMGELER VE KISALTMALAR

bç	: Baz çifti
ddH ₂ O	: Bidistile su
DNA	: Deoksiribonükleik asit (Deoxyribonucleic acid)
dNTP	: Deoksiribonükleozid trifosfat
EF-1 α	: Translasyon uzama faktörü
gDNA	: Genomik DNA
GPS	: Küresel Konumlama
ITS	: Transkripsiyonu yapılamayan bölge
Kb	: Kilo baz
kg	: Kilo gram
Km	: Kilo metre
LSU	: Büyük altbirim (Large subunit)
m	: Metre
Mel	: <i>Morchella elata</i>
Mes	: <i>Morchella esculenta</i>
mg	: Miligram
MgSO ₄	: Magnezyumsülfat
ml	: Mililitre
ML	: Maksimum Likelihood
mM	: Milimolar
MP	: Maksimum Parsimony
ng	: Nanogram
NJ	: Neighbor-Joining
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
pM	: Pikomolar
rDNA	: Ribozomal DNA
RNA	: Ribonükleik asit (Ribonucleic acid)

RPB1 : RNA polimeraz I
RPB2 : RNA polimeraz II
TAE : Tris-Acetate
Taq : Thermus aquaticus
UV : Ultraviolet (Mor ötesi)
% : Yüzde
°C : Santigrad derece
µl : Mikrolitre

1. GİRİŞ

Ülkemizde kuzugöbeği mantarı olarak bilinen *Morchella* spp., ticari önemi nedeniyle üzerinde en fazla çalışılan yenebilir doğa mantarlarından birisidir. Dünyada geniş bir ticaret hacmine sahip olan bu mantarın satış fiyatı oldukça yüksektir. Örneğin, İspanya pazarlarında 1 kg kuru kuzugöbeği mantarı 300 Euro'ya satılmaktadır. Günümüze kadar bu mantarın kültürü ile yapılan çalışmalarda bazı başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Örneğin, Ower ve ark (1986) tarafından kültüre alma konusunda bazı patentler alınmıştır. Kültüre alınmış kuzugöbeği mantarları ile ilgili en büyük şikâyet, doğadan toplanan mantarlarla aynı tat ve aromada olmaması olmuş, hatta bazı araştırmacılara göre bu patentler tekrar edilebilir olmamıştır. Kısa bir süre önce, Çin'de kültüre alma konusunda başarılı çalışmaların olduğu bildirilmiştir (Liu ve ark, 2017). Birçok kişi, kuzugöbeği mantarının kültürünün yapılmasından sonra, doğadan toplananların fiyatının düşeceğine inanmaktadır. Ancak, kuzugöbeği mantarı, daha çok bu mantarın fanatikleri tarafından tüketilmektedir. Bu nedenle, kültüre alınmış ürünlerdeki tat ve aroma, doğadan toplananlardaki gibi olmayacağı için fiyatlarda düşüş görülmeyebilir. Türkiye *Morchella* cinsi yönünden oldukça zengin bir genetik çeşitliliğe sahip olup, her sene ülkemizde bulunan kuzugöbeği mantarları yöre halkı tarafından toplanarak yurt dışına ihraç edilmektedir. Bu genetik çeşitlilik, Türkiye'nin farklı coğrafi bölgelere, farklı iklim koşullarına sahip olması, iki kıtanın birleştiği bir yerde bulunması ve geçmişten günümüze birçok medeniyete ve kültüre ev sahipliği yapması ile açıklanabilir. Bir ülkenin en önemli zenginlikleri olan genetik kaynaklar, bulundukları yerlerden toplanarak günümüz teknolojilerinin gerektirdiği şekilde tanımlanmalı, kayıt altına alınmalı ve uygun şekilde korunmalıdırlar. Türkiye (Taşkın ve ark, 2010, 2012) Kuzey Amerika (O'Donnell ve ark, 2011) ve Çin (Du ve ark, 2012a, 2012b) tarafından ilk çok genli analizler, *Morchella*'nın gerçekten de tür açısından zengin bir cins olduğunu doğrulamıştır: atasal *Morchella rufobrunnea* grubu (beyaz kuzugöbekleri),

Morchella esculenta grubu (sarı kuzugöbekleri) ve geç farklılaşan *Morchella elata* grubu (siyah kuzugöbekleri). Bu çalışmalar, 4-genli bir filogeni kullanarak, dünya çapında 60'dan fazla filogenetik olarak farklı türleri tanımlamıştır ve bunların çoğu yüksek oranda kıtasal endemizm ve bölgesellik göstermektedir. Avrupa'dan (Clowez, 2012) ve Kuzey Amerika'dan (Kuo ve ark, 2012) bazı taksonların eş zamanlı tanınması, daha sonra Richard ve ark (2015) tarafından çoğu çözülen durumu daha da karmaşık hale getiren sinonimlere neden olmuştur (Loizides, 2017). Sonrasında sinonimler, Richard ve ark (2015) ve Loizides ve ark (2015) tarafından açığa çıkarılmaya çalışılmıştır. Sonrasında yeni türler tanımlanmaya devam edilmiştir (Clowez ve ark, 2015; Voitek ve ark, 2016; Loizides ve ark, 2016; Taşkın ve ark, 2016; Baroni ve ark, 2018). Bu filogenetik ve taksonomik atılımlarla sağlanan stabiliteye rağmen, *Morchella* türlerinin morfolojik olarak tanınması yine de zorlayıcıdır (Loizides, 2017).

Günümüze kadar Türkiye'de bulunan *Morchella* cinsi türlerinin toplanarak morfolojik, mikroskopik ve moleküler yöntemlerle tanımlanması ile ilgili çalışmalar Taşkın ve ark (2010, 2012) tarafından başlatılmış, bu çalışmalar sonucunda ülkemizde 20 adet kuzugöbeği mantarı türünün varlığı kayıt altına alınmıştır. Yine, *M. anatolica* olarak isimlendirilen 1 tür de Işiloğlu ve ark (2010) tarafından belirlenmiş ve böylece ülkemizde 21 adet türün varlığı moleküler verilerle desteklenerek belgelenmiştir. Bu sayı, dünyada moleküler verilerle desteklenerek belirlenen sayının üçte birinden fazladır denilebilir. Loizides ve ark (2016) tarafından Kıbrıs'da yapılan bir çalışmada, 11 adet *Morchella* cinsi türü rapor edilmiş; Türkiye, Çin ve Kıbrıs'ın yüzölçümü ve tespit edilen türlerin kıyaslanması yolu ile karşılaştırılmış, 0.001891 km/tür ile Kıbrıs'ın, Türkiye (0.000025 km/tür) ve Çin (0.000003 km/tür)'den daha zengin genetik çeşitliliğe sahip olduğu rapor edilmiştir. Günümüze kadar ülkemizdeki çeşitlilik, sadece Taşkın ve ark (2010, 2012) tarafından yapılan çalışmalar ile sınırlı olmuştur (*Morchella* cinsinde moleküler çalışmaların kullanımı ile). Ancak ülkemizde hala toplama yapılmayan, *Morchella* cinsi mantarların çıktığı birçok alan olduğu

bilinmektedir. Yani ülkemiz kuzugöbeği mantarı çeşitliliğinin 21 adet türle sınırlı olmadığı düşünülmektedir.

Yukarıda sunulan bilgilerin ışığında, tamamlanan bu çalışmanın amacı; Türkiye’den toplanan daha fazla *Morchella* mantarı koleksiyonunun, morfolojik-mikroskopik ve moleküler yöntemlerle tanımlanarak ülkemiz coğrafyasının kuzugöbeği mantarı zenginliğinin ortaya çıkarılmasına katkıda bulunulmasıdır. Sadece morfolojik ve mikroskopik yöntemlerle yapılan çalışmalar, çok belirgin olan birkaç tür dışında genellikle yanıltıcı olmaktadır. Mantarlarda morfolojik ve mikroskopik özellikler, çevresel faktörlerden etkilenmekte ve yanıltıcı olabilmektedir. Mesela, kuzugöbeği mantarında mantarın ilk çıktığı aşama ile daha sonra toplama boyutundaki aşamasında şekil ve rengi değişebilmektedir. Ya da aynı aşamada olsalar bile çıkış için denk geldikleri yere göre renk açık ya da koyu olabilmekte, şekil de bulunduğu yerdeki engellere göre değişebilmektedir. Mantarın ışık ya da gölge bir yerde olması, nehir kenarında ya da engebeli bir yerde olması, çıktığı yerde taş gibi herhangi bir engel bulunup bulunmaması gibi faktörler, morfolojik özellikleri etkilemektedir. *Morchella* türleri, kurutulmuş örneklerden pek tanımlanamamaktadır. Bu nedenle, makromorfolojik özelliklerini ve sahadaki gelişim aşamalarını dikkatlice gözlemlemek çok önemlidir. Aynı türe ait askokarplar, genellikle olgunlaşmamış ve olgunlaşmış aşamalarında oldukça farklı görülebilmekte, her türde olgunlaşma süreci genellikle çok farklı olmaktadır (Loizides, 2017). Kuzugöbeği mantarının ekolojik istekleri tam olarak hala bilinmemekte, belirsiz kalmaktadır. Geçmişteki kuzugöbeklerinin çoğunlukla saprofit olduğu varsayılsa da (Ower, 1982; Hobbie ve ark, 2001), *Morchella* türleri ile ağaçlar arasında güçlü bir bağ artık kabul görmüş ve bazı türler için mikoriza benzeri yapıların oluşumu bildirilmiştir (Buscot ve Roux, 1987; Buscot, 1992; Dahlstrom ve ark, 2000). Sarı (Esculenta) *Morchella* türleri, genellikle geniş yapraklı ağaçlarla ilişkili olan ılıman kuzey ve kıtasal bölgelerde daha bol görülürken, siyah (Elata) *Morchella* türleri güney ve Akdeniz bölgelerinde daha yaygın olup, çoğunlukla kozalaklılarla ilişkilidir (Taşkın ve ark, 2010, 2012;

Loizides ve ark, 2016, Loizides, 2017). Ülkemiz kuzugöbeği mantarı sistematigindeki ilerlemeler, diğer ülkelerin konu ile ilgili araştırmacıları tarafından takdirle karşılanmaktadır. Ülkemizdeki çeşitlilik, diğer ülkelerin de dikkatini çekmekte, bu konuda tarafımızca yapılan çalışmalar diğer ülkelerin araştırmacıları tarafından sürekli alıntılanmakta, bilimsel toplantılarda Türkiye’de yapılan çalışmaların devam ettirilmesi gerektiği şeklinde öneriler getirilmektedir. Tüm bu sebeplerle, ülkemizdeki kuzugöbeği mantarı çeşitliliği ile ilgili çalışmalar devam ettirilmelidir. Ayrıca, bu tür çalışmalar devam ettirilirken hızlı davranılmalıdır. Çünkü tüm dünyada genetik kaynak çalışmaları öncelikli alanlar içerisinde yer almakta ve desteklenmektedir. Bu nedenle, desteklenen projelerle ülkeler hızlıca kendi genetik kaynaklarını tespit etmekte, yeni türlerini yayınlamakta ve genetik kaynaklarını koruma altına almaktadırlar. Yani, genetik kaynak çalışmaları ülkeler arasında tatlı bir rekabetle devam ettirilmektedir. Bu tatlı rekabetin olduğu çalışma konularından bir tanesi de doğa mantarları ve bunlar arasında da özellikle *Morchella* cinsidir. Türkiye’nin de *Morchella* çeşitliliğinde, 21 adet türle (4 adedi yeni tür) yakalamış olduğu zenginliği hız kaybetmeden devam ettirmesi gerekmektedir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

DNA dizi analizlerinin kullanımıyla, *Morchella* spp. türlerinin belirlenmesine yönelik çalışmalara 1990'lı yıllarda başlanılmakla beraber, dünyada ülkesel ve kapsamlı çalışmalara Taşkın ve ark (2010) tarafından başlanmış ve sonrasında günümüze kadar hızla devam ettirilmiştir. Birçok ülkede kapsamlı çalışmalarla ülkelerin tür dağılımları belirlenmiş, yeni türler tespit edilmiş, ülkeler ve kıtalar arasında türlerin dağılımdaki farklılıklar ve benzerlikler karşılaştırılmıştır. 1990'lı yıllardan günümüze kadar yapılmış olan çalışmalar aşağıda sunulmuştur:

O'Donnell ve ark (1997) tarafından kuzugöbeği ve ilişkili tür ve cinsler arasındaki filogenetik ilişkiler, 2 farklı ribozomal DNA gen bölgelerinin DNA dizi analizlerinin (18S rDNA ve 28S rDNA) kullanımıyla araştırılmıştır. Bireysel ve kombine edilmiş data setleri, Maksimum Parsimony (MP), Neighbor-Joining (NJ) ve Maksimum Likelihood (ML) metotları ile analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, Pezizales içinde hipogen Ascomycetes ve benzerleri için en az 5 bağımsız ırk göstermiştir. Sonuçlar aynı zamanda, bazı epigen ve çoğu hipogen taksonların taksonomik olarak yanlış yerleştirildiğini göstermiştir. Bootstrap analizleri Morchellaceae-Discinaceae grubunun kardeş grubu Tuberaceae-Helvellaceae için güçlü bir destek göstermiştir. Rhizina NJ ağacında Morchellaceae-Discinaceae'nın kardeşi iken, ML ve MP ağaçlarında iki grubun da kardeşi olmuştur. MP, ML ve NJ ağaçları Rhizina'nın Helvellaceae'den ayrıldığını ve Rhizinaceae olarak monotipik bir familyada olması gerektiğini göstermiştir. Bu funguslar için filogenetik temelli sınıflama, 4 familyanın birlikte düzeltilmesini tavsiye etmiştir. Masaphy ve ark (2010) tarafından yapılan bir çalışmada, İsrail'in Galileo (kuzey) bölgesinden toplanan 5 adet *Morchella esculenta* olduğu tahmin edilen, morfolojik olarak farklı olan kuzugöbeği mantarlarının ITS bölgesi ve kısmi LSU (28S) genlerinin DNA dizi analizi yapılmıştır. Yapılan analizler, beş örneğinde aynı olduğunu göstermiştir. Elde edilen filogenetik ağaç, ITS dizilerinin %85 homoloji

ile *M. crassipes*'e *M. esculenta*'dan daha çok benzediğini gösterirken, LSU sekanslarının %98.8'den daha yüksek oranda her iki türle de homolog olduğunu göstermiştir. Çalışmadan elde edilen sonuçlarla, İsrail örneklerinin yeni bir tür olabileceği veya Avrupa'da bulunan *M. crassipes*'den farklı olarak *M. crassipes* olarak kabul edilebileceği düşünülmüştür. Taşkın ve ark (2010) 2007 ve 2008 yıllarında Türkiye'nin değişik bölgelerinin 10 farklı ilinden 247 adet kuzugöbeği örneğinden oluşan bir koleksiyon oluşturmuşlardır. Bu koleksiyon, RPB1 ve 28S rDNA gen sekansları kullanılarak tür çeşitliğinin belirlenmesi için analizlenmiştir. Bu başlangıç taramasına göre seçilen 62 adet örneğin RPB2 ve EF1- α gen bölgelerinin DNA dizi analizi yapılmıştır. Ayrıca 62 takson içerisinde, Elata tür kompleksine giren 36 taksonda, ITS rDNA bölgesinin tekrar dizi analizi yapılmıştır. Filogenetik analizler, bireysel ve kombine edilmiş datalardan oluşturulmuştur. Bu çalışmada Elata grubundan (siyah kuzugöbeği) 13 tür, Esculenta grubundan (sarı kuzugöbeği) ise 2 tür belirlenmiştir. Bu araştırma, Türkiye florasında yetişen kuzugöbeği mantarı türlerinin belirlenmesinde moleküler tekniklerle yapılan ilk çalışma olmuştur. O'Donnell ve ark (2011) tarafından yapılan bir çalışmada, Morchellaceae'nin 177 üyesi 4 gen dataseti (RPB1, RPB2, EF-1 α , 28s rDNA + ITS rDNA) ile analizlenmiştir. Filogenetik analizler ile *Morchella* içerisinde 3 grup tanımlamıştır: Elata grubu-24 tür, Esculenta grubu-16 tür ve bu iki gruptan da farklılık gösteren *M. rufobrunnea*'dır. Çalışmadan elde ettikleri ilginç sonuçları şu şekilde özetlemişlerdir: 18 Kuzey Amerika türünün 16'sı ve 15 Avrupa-Asya türünün 13'ü bölgesel endemizm göstermiştir. Esculenta grubundan ilk farklılık sadece Balkan'larda bilinen bir tür olan *Morchella steppicola* ile sağlanırken, diğer farklılık gösteren 3 türden ikisi (*Mes-3* ve *Mes-4*) Kuzey Amerika'da bulunmuştur. Üçüncü tür olan *Mes-4* Kuzeydoğu Amerika'da yaygın görülürken, Kuzeybatı Amerika'da çok yaygın olmamıştır. *Mes-14* (Venezuela ve Ekvator) ve *Mes-16* (Havai ve Java)'nın antropojenik giriş yaptıkları belirlenmiştir. Kalan 14 Esculenta grubu türleri, kıtasal endemizm göstermişlerdir. *Mes-4* ve *Mes-7*, Batı ve Kuzey Amerika'da

bulunmuşlar ve bölgesel endemizm göstermişlerdir. Elata grubundan 8 tür, Kuzey Amerika'dan gelmiştir. Bunlardan 2 adedi; *Mel-1=M. tomentosa* ve *Mel-2*, Elata grubunda farklılaşan türler olmuşlardır. *Mel-3*, *Mel-4* ve *Mel-5* farklı coğrafyalarda yer alan türler olmuşlardır: *Mel-3=M. semilibera*-Avrupa, *Mel-4=M. punctipes*-Kuzeydoğu Amerika, *Mel-5*=Kuzeybatı Amerika. Taşkın ve ark (2012) tarafından Türkiye kuzugöbeği mantarı türlerini belirlemek ve bu türleri dünyanın farklı ülkelerinin türleri ile karşılaştırmak amacıyla yapılan çalışmada, Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplanan 243 adet kuzugöbeği mantarı (daha önce toplanmış olan bölgelerden farklı bölgelerden); RPB1, RPB2, EF-1 α ve LSU-28s rDNA+ITS rDNA gen bölgeleri ile analizlenmiş ve sonuçlar daha önce Taşkın ve ark (2010) tarafından 247 örnek ile yapılan analizlerin sonuçları ile birleştirilmiştir. Çalışma sonucunda, 15 tanesi Elata (siyah) kuzugöbeği mantarı grubundan ve 5 tane ise Esculenta (sarı) kuzugöbeği mantarı grubundan olmak üzere toplam 20 tür belirlenmiştir. Du ve ark (2012a) tarafından 2003-2011 yılları arasında, Çin'in 21 farklı bölgesinden toplanmış ve 361 adet örnekten oluşan kuzugöbeği mantarı koleksiyonu, Çin herbaryumundan temin edilmiş 6 adet örnekle birlikte; ITS, RPB1, RPB2, EF-1 α ve LSU rDNA gen bölgeleri ile analizlenmiştir. Çin'de 30 adet kuzugöbeği mantarı türü belirlenmiş ve bu türler 22 adet Avrupa ve 19 adet Kuzey Amerika koleksiyonu ile karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırmalar sonucunda, 11 adet filogenetik olarak farklı tür Çin'de tespit edilmiş, bu türlerin dokuz adedi Esculenta grubu içerisinde yer alırken, iki adedi Elata grubuna yerleşmiştir. Çin'de belirlenen 30 adet türün 20 adedi Çin için endemik olurken, dokuz adedi Avrupa ile ortak olmuştur. Aynı zamanda dört adet tür Çin, Avrupa ve Kuzey Amerika'da yangına adapte türler olarak belirlenmiştir. Du ve ark (2012b) tarafından, ITS rDNA lokusunun kuzugöbeği mantarı türlerini tanımlamadaki kullanışlılığının araştırılması ve bu mantarla ilgili gen bankasında yapılan tanımlamaların doğru olup olmadığı ile ilgili bir çalışma yapılmıştır. Bu amaçla önceden oluşturulmuş 553 adet *Morchella* ITS rDNA sekansları ve 312 adet gen bankasından elde edilen sekanslar kullanılmıştır. Çalışmadan 3 önemli sonuç elde edilmiştir: (i) ITS rDNA

sekansları, bilinen 62 filotürden 48 tanesini (%77.4) tanımlamada kullanışlı bulunurken, Elata altgrubu içerisinde 22 türün 12'sinde ve Esculenta grubunda yakın ilişkili iki türün ayrımında yetersiz kalmıştır. (ii) gen bankasında isimlendirilmiş olan kuzugöbeği türlerinin en az %66'sının hatalı olduğu bildirilmiştir. (iii) Kuzugöbeği sistematigindeki son gelişmelerin daha rahat takip edilebilmesi için bir database sistemine ihtiyaç duyulması nedeni ile *Morchella* MLST (<http://www.cbs.knaw.nl/morchella/>) database sistemi kurulmuştur. Kuo ve ark (2012) tarafından, Kuzey Amerika'dan toplanmış olan 19 adet filogenetik tür tanımlanmıştır. Bu türlerin 14 tanesi yeni: *M. diminutiva*, *M. virginiana*, *M. esculentoides*, *M. prava*, *M. cryptica*, *M. frustrata*, *M. populiphila*, *M. sextelata*, *M. septimelata*, *M. capitata*, *M. importuna*, *M. snyderi*, *M. brunnea* ve *M. septentrionalis*; 4 tanesi daha önce isimlendirilmiş türler olmuşlardır. *Mel-8*'in tanınması ise daha sonraya bırakılmıştır. Pildain ve ark (2014) tarafından yapılan çalışmada, Arjantin'in Patagonian bölgesinde bulunan kuzugöbeği mantarlarının tanımlanması ve Kuzey Yarımküre'de bulunan diğer türlerle filogenetik ilişkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. DNA dizi analizlerinde; RPB1, RPB2, EF-1 α ve ITS rDNA gen bölgeleri kullanılmıştır. Bireysel ve kombine data setlerinin analizi, Patagonian kuzugöbeği mantarlarının Elata grubu içerisinde yer aldığını ve 3 tür içerisine girdiğini göstermiştir. Birinci tür; filogenetik olarak *Mel-2* olarak adlandırılan, ABD ve Kanada'da bilinen *Morchella frustrata*; ikinci tür, ABD'de de bilinen, filogenetik olarak *Mel-7* olarak adlandırılan, yangına adapte olarak bilinen *Morchella septimelata*; üçüncü tür ise yeni tür olarak (*Mel-37*) değerlendirilmiştir. Elliott ve ark (2014) tarafından Avusturalya'da yeni bir tür bulunmuş ve *Morchella australiana* T. F. Elliott, Bougher, O'Donnell & Trappe olarak adlandırılmıştır. Bu tür, filogenetik olarak *Mel-35* olarak isimlendirilmiştir. Avrupa kuzugöbeği örnekleri ise Clowe (2012) ile Richard ve ark (2015) tarafından tanımlanmış ve Avrupa'da 21 adet kuzugöbeği türünün varlığı kayıt altına alınmıştır. Clowe (2012) tarafından yayınlanan kuzugöbeği mantarları türleri, özellikleri, tanımlamalarını içeren Fransızca yazılmış bir kitabı takiben,

Richard ve ark (2015) tarafından Avrupa kuzugöbeği mantarlarının morfolojik ve moleküler yöntemlerle geniş tanımlanmasını içeren çalışmada, hem yeni türler belirlenerek tanılamaları yapılmış ve isimlendirilmiş, hem de diğer türlerin dağılımı ve habitatları rapor edilmiştir. *Morchella americana*, *Morchella castaneae*, *Morchella galilaea*, *Morchella sceptriformis*, *Morchella ulmaria*, *Morchella exuberans*, *Morchella pulchella*, *Morchella quercus-ilicis* bu iki çalışma sonucu yeni türler olarak sunulmuşlardır. Clowez ve ark (2014) tarafından, ilk defa Taşkın ve ark (2012) tarafından Türkiye'nin Adana ili Feke ilçesinde bulunan ve filogenetik olarak *Mes-18* olarak isimlendirilen türün tanılaması yapılmış ve *Morchella fluvialis* adıyla yeni tür olarak isimlendirilmiştir. Bu tür, *M. esculenta*'ya yakın olmuş, İspanya'da nehirler boyunca yaygın olmuş, nehir kıyısında *Fraxinus angustifolia* ve *F. excelsior*, bazende *Ulmus minor* ormanlarında tespit edilmiştir. Matočec ve ark (2014) tarafından yapılan bir çalışmada, Hırvatistan'da sonbaharda kuzugöbeği mantarı oluşumu rapor edilmiş ve değerlendirilmiştir. Taşkın ve ark (2015) tarafından yapılan bir çalışmada, Çukurova Üniversitesi Bahçe Bitkileri Bölümü Araştırma ve Uygulama Alanı'nda bulunan meyve ağacı çelikleri köklendirme alanında oluşan *M. galilaea* örneklerinin ayrıntılı tür tanılamaları yapılmıştır. Bu çalışmada sunulan *M. galilaea* örnekleri, ilginç olarak kuzugöbeği mantarının olduğu zaman olan ilkbahar aylarında değil, sonbahar aylarında oluşmuştur. Ayrıca kuzu göbeği mantarı genellikle ormanlarda oluşurken, çalışmada değerlendirilen örnekler her sene sonbahar aylarında çelik köklendirme sırasında oluşmuşlardır. Clowez ve ark (2015) tarafından, filogenetik olarak *Mes-14* olarak isimlendirilen türün, tanılaması yapılmış ve yeni tür olarak *Morchella palazonii* olarak isimlendirilmiştir. Loizides ve ark (2015) tarafından, Kıbrıs ve İspanya'dan toplanan üç adet ilginç kuzugöbeği mantarı türü olan *Morchella tridentina*, *M. rufobrunnea* ve *M. kakiicolor* için taksonomik, morfolojik, ekolojik ve moleküler çalışmalar yapılmıştır. Çalışma sonucunda; *M. tridentina*, *M. elatoides*, *M. quercus-ilicis* ve *M. frustrata*'nın sinonim olduğu belirlenmiş ve bu türler için *M. tridentina* kullanımı önerilmiş, *M.*

quercus-ilicis f. *kakiicolor*'un holotipinin *M. quercus-ilicis*'in neotipinden genetik olarak farklılığı doğrulanmış ve yeni olarak *M. kakiicolor* kullanıma sunulmuş, *M. rufobrunnea*'nın Avrupa'da varlığı ilk defa moleküler datalarla doğrulanmıştır. Çalışmada ayrıca, bu üç adet ilginç kuzugöbeği mantarı türünün ayrıntılı tanımları yapılmıştır. Voitek ve ark (2014) tarafından, filogenetik olarak *Mel-36* olarak isimlendirilen türün başlangıç tanımlaması yapılmış ve daha sonra, Voitek ve ark (2016) tarafından Kanada'nın Newfoundland ve Labrador bölgesinde yapılan bir çalışmada, daha önce yapılan moleküler ve morfolojik çalışmalarla, filogenetik olarak *Mel-19* ve *Mel-36* olarak isimlendirilen iki yeni türün tanımlanması ve isimlendirilmesi yapılmıştır. *Mel-36*, *M. laurentiana*; *Mel-19* ise *M. eohespera* olarak isimlendirilmiştir. Loizides ve ark (2016) tarafından yapılan bir çalışmada, Kıbrıs'dan toplanan kuzugöbeği mantarları koleksiyonunu, DNA dizi analizlerinin kullanımıyla tanımlanmıştır. Çalışma sonucunda, Kıbrıs'dan 11 adet kuzugöbeği mantarı türü belirlenmiş, bu türlerden dokuz adedi daha önce adada rapor edilmemiş türler olmuşlardır. Dört tür, bilimsel olarak yeni olarak tespit edilmiş ve sunulan çalışmada iki tanesi tanımlanmıştır: *Morchella arbutiphila* ve *Morchella disparilis*. Diğer iki tür ise, filogenetik olarak *Mes-28* ve *Mel-38* olarak isimlendirilmiştir. Çalışma sonucunda, Kıbrıs'ın *Morchella* çeşitliliğinde gen merkezi olabileceği rapor edilmiştir. Taşkın ve ark (2016) tarafından yapılan çalışmada, dört adet kuzugöbeği mantarı türü yeni tür olarak dünya bilimi ile paylaşılmış ve *Morchella mediterraneensis*, *Morchella conifericola*, *Morchella fekeensis* ve *Morchella magnispora* olarak isimlendirilmiştir. Yatsiuk ve ark (2016) Avrasya kıtasından 6 ülkeden 13 *M. steppicola* koleksiyonunun ITS sekanslarına dayalı moleküler değerlendirmesi ile birlikte, detaylı morfolojik tanımlamasını da sunmuşlardır. Bu tür, bozkırlarda bulunan ikonik ve ilginç kuzugöbeği türlerinden birisidir. Morfolojik görünümü diğer kuzugöbeği türlerinden biraz farklıdır. Doğan ve ark (2016) morfotaksonomik ve multilokus DNA dizi analizlerine dayalı yöntemlerle, Türkiye için beş adet yeni *Morchella* kaydı tanımlamışlardır: *Morchella fluvialis* Clowez, P. Alvarado, M. Becerra, Bilbao & P.A. Moreau,

Morchella americana Clowez & C. Matherly, *Morchella dunalii* Boud., *Morchella importuna* M. Kuo, O'Donnell & T.J. Volk, *Morchella tridentina* Bres. *M. fluvialis* ile *M. americana* Esculenta (sarı) grubunda; *M. dunalii*, *M. importuna* ve *M. tridentina* ise Elata (siyah) grubundadırlar. Miller ve ark (2017) kuzeybatı Amerika'da yanmış kozalaklı ağaç ormanlarında bulunan kuzugöbeği mantarı örneklerini, ITS ve multilokus filogenetik değerlendirme ile *M. exuberans* olarak tanımlamışlardır. Baran and Boron (2017) moleküler değerlendirmelerinde kullanımı ile *M. deliciosa* ve *M. esculenta*'yı Polonya için yeni kayıt olarak sunmuşlardır. Acar ve Uzun (2017) Van ilinde Türkiye'de ilk defa *M. populophila* türünü tespit etmişlerdir. Tanılamalar sadece morfotaksonomik yöntemlerle yapılmış, DNA dizi analizlerinden faydalanılmamıştır. Loizides (2017) tarafından *Morchella* mantarı sistematik çalışmalarında günümüze kadar geline durum ayrıntılı ve bilgi verici bir şekilde özetlenmiştir. Loizides çalışmasında, kuzugöbeği mantarında günümüze kadar elde edilen morfotaksonomik ve moleküler verilerle, moleküler analizler yapmaksızın bazı türleri nasıl ayırt edeceğimiz hakkında ipuçları vermiştir. Bu incelemeyi yaparken mantarların morfolojik görüntüsü kadar, ekolojik taleplerini de incelemiştir. Bu noktada, konukçu seçimlerini dikkate almıştır. Mesela, nerede olursa olsun, hangi ülke ya da kıtada olursa olsun aynı konukçuyu seçen türleri dikkatlere sunmuştur. Ayrıca gençlik ve olgunluk dönemlerindeki şekil ve renk değişimlerine de dikkat çekmiştir. Bu yolla en az bir türün ayırt edilebileceğini ispatlamıştır. Baroni ve ark (2018) Kuzey Amerika, Dominik Cumhuriyeti, Venezuela, Ekvador ve Peru'da dört yeni *Morchella* türünü morfotaksonomik ve moleküler yöntemlerin kullanımı ile keşfetmişlerdir. İki yeni Elata grubu türü, bir tanesi Dominik Cumhuriyeti'nden, daha önce *Mel-18* olarak resmi olmayan şekilde bilinen ve kuzey Arizona'da yeni keşfedilen kardeş bir tür tanımlanmıştır. *Mel-18*, filogenetik olarak farklı bir tür olan *M. hispaniolensis* olarak tanımlanmıştır. Arizona'daki kardeş türü, Rocky Dağı ardıcının bir endofiti olarak geri kazanılan *M. kaibabensis* olarak tespit edilmiştir. Esculenta grubundaki iki ek tür, Peru'da keşfedilen *M. peruviana* ve Dominik Cumhuriyeti, Venezuela ve

Ekvador'dan *M. gracilis* (daha önce *Mes-14* olarak bildirildi) yeni olarak tanımlanmıştır. Ayrıca askosporlar, SEM ile görüntülenmiştir. Zhang ve ark. (2018), *M. importuna* transkriptom datasına göre, bazı kuzugöbeği aday genlerini seçmişler, dizayn etmişler ve aday genlerin satabilitesini geNorm ve NormFinder ile üç farklı deneysel koşullarda değerlendirerek en iyi stabilitedekileri seçmişlerdir. Seçilen genlerin adaptasyonu, on kuzugöbeği türünde test edilmiştir. Üç deneysel koşuldan elde edilen sonuçlar, ACT1 ve INTF7'in *Morchella*'da en belirgin genler, CYC3'ün farklı gelişim safhalarında en stabil gen, INTF3/CYC3 çifti sıcaklık stresi uygulaması için sağlam stabilite gösterirken, INTF4/AEF3'ün karbon kaynakları arasında en üst düzey genler olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada test edilen on *Morchella* türünde, gen ekspresyon analizi çalışmalarında, referans genler olarak ACT1, AEF3, CYC3, INTF3, INTF4 ve INTF7 tavsiye edilebilmektedir. Temel biyolojik süreçleri de kapsayan genin stabilitesi ve pratikliği, vacuolar protein sorting (INTF3), vacuolar ATP synthase (INTF4) ve 14-3-3 protein (INTF7) kantitatif PCR için aday referans genler olarak, ilk defa onaylanmıştır. Üstelik, referans genlerin stabilitesinin farklı çevresel koşullarda değiştiği tespit edilmiş ve bu nedenle özel koşullar için spesifik referansların tanımlanmasının önemi ortaya çıkmıştır. Liu ve ark (2017) *Morchella* cinsindeki yaşam döngüsü ve üreme sistemleri ve kültüre almanın mevcut durumu ile ilgili son araştırmalardaki ilerlemeyi gözden geçirmişlerdir. Araştırmacılar çalışmalarında; sklerotia oluşumu ve konidia üretiminin yaşam döngüsü boyunca iki önemli aşama olduğunu, Amerika'da ticari olarak yetiştirilen kuzugöbeği türlerinin moleküler filogenetik analizine dayalı olarak *M. rufobrunnea* olduğunu, şu anda Çin'de yetiştirilen türlerin *M. importuna*, *M. sextalata* ve *M. eximia* gibi siyah kuzugöbeği mantarı türleri olduğunu, Çin'deki eyaletlerin çoğunda kuzugöbeği kültürünün hektar başına 0-7620 kg taze verim ile genişlediğini, anahtar teknikler arasında misel üretimi, toprak hazırlığı ve misel gelişimi, dış beslenmenin eklenmesi, karpofor üretimi yönetimi ve hasatın yer aldığını, dış beslenme uygulamasının kuzugöbeği yetiştiriciliği alanındaki en önemli atılımlar olduğunu, ancak

mekanizmanın belirsizliğini koruduğunu,. 2015-2016 döneminde toplam kültür kuzugöbeği üretim miktarının 500 \$ olduğunu belirtmişlerdir. Liu ve ark (2018) ticari olarak kültüre alınmış kuzugöbeği ırkı M04'den izole edilen farklı bir çiftleşme tipiyle (M04M24 ve M04M26), iki monosporun genomlarının de novo dizileme montajını yapmışlardır. CAZyme (karbonhidrat-aktif enzim) enzim içeriği, transkripsiyon faktörleri, çoğaltılmış diziler, çiftleşme tipi sitelerinin yapısı ve gendeki farklılıklar ve *M. importuna*'nın iki monospor suşu arasındaki fonksiyonel seviyelerdeki farklılıkları incelemek için, gen açıklaması ve karşılaştırmalı genom analizi yapılmıştır. Sonuçlar, haploid M04M24 ve M04M26 genomlarının sırasıyla 48.98 ve 51.07 Mb olduğunu göstermiş, genom kapsamı ve gen bütünlüğü değerlendirmesinden tam bir *M. importuna* fiziki harita elde edilmiştir. İki monospor suşunda toplam 10.852 ve 10.902 ortak gen ve 667 ve 868 endemik gen tanımlanmıştır. Gen Ontolojisi (GO) ve KAAS (KEGG Otomatik Ek Açıklama Sunumu) zenginleştirme analizleri, endemik genlerin farklı fonksiyonlar gerçekleştirdiğini göstermiştir. İki monospor suşu, belirli pozisyon ve yeniden düzenleme olayları ile birlikte, %99.22 oranında birbiriyle olan benzerliğe sahip olmuştur. Tam çiftleşme tipi lokusların analizi, iki monospor *M. importuna* suşunun bağımsız bir çiftleşme tipi bir yapı içerdiğini ve sekans ve lokasyonda korunmuş kaldığını ortaya koymuştur. *M. importuna*'nın filogenetik ve ayrışma süresi, ilk kez bütün genom seviyesinde analiz edilmiştir. Kuzugöbeği ve türünün çatallanma zamanının 201.14 milyon yıl önce olduğu tahmin edilmiş (Mya); farklı bir birleşme tipine sahip iki monospor suşu, farklı çekirdeklerin evrimini temsil etmiş ve aralarındaki tek kopya homolog genler de, yaklaşık 0.65 Mya'lık bir genetik farklılaşma mesafesinden dolayı farklı olmuştur. Türüfler ile karşılaştırıldığında, *M. importuna* 28 küme ortolog gen (COG) genişlemesine ve iki COG kasılmasına sahip olmuştur. Farklı derecelerde kasılma ve genişleme derecelerine sahip iki farklı kutup çekirdeği, farklı evrimsel süreçlerden geçebileceklerini göstermiştir. Farklı çiftleşme tipi yapılar, iki farklı kutup çekirdeğinin endemik genlerinin fonksiyonel kümeleme ve zenginleştirme analizi

sonuçlarıyla birlikte, *M. importuna*'nın heterotallik bir mantar olabileceği ve endemik genler arasındaki etkileşimin hayat hikayesinin tamamlanması için gerekli olabileceği anlamına gelebilir. *M. importuna* genomu üzerine yapılan çalışmalar, kuzugöbeği biyolojisi ve evriminin daha iyi anlaşılmasını sağlamaktadır.

Kuzugöbeği mantarı taksonomisi konusunda günümüze kadar yapılan moleküler çalışmalar, sistemli bir şekilde planlanmış ve bu nedenle de ulaşılan sonuçlar tatmin edici düzeyde olmuştur. Geniş kapsamlı ülkesel çalışmalar ilk defa Taşkın ve ark (2010, 2012) tarafından Türkiye’de başlatılmış (ABD ortaklığıyla), çalışma ile elde edilen sonuçlar Dr. Kerry O’Donnell (USDA, ABD)’ın tüm dünyayı ifade eden koleksiyonu ile karşılaştırmalı olarak yayınlanmıştır. Bu çalışmaları takiben, *Morchella* spp. için Çin (Du ve ark, 2012a, 2012b), ABD ve Kanada (Kuo ve ark, 2012), Avrupa (Richard ve ark, 2015) ve Kıbrıs (Loizides ve ark, 2015, 2016)’da ülkesel revizyon çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmaların en güzel ve bilgi verici tarafı, her çalışmanın bir öncekinin verilerini kullanıyor olması ve filogenetik ağaçlarda birbirini takip eden bu çalışmaların sürekli karşılaştırılmalı değerlendirilmesi olmuştur. Bu yöntemle hem *Morchella* cinsinin tür dağılımları, endemizm durumu, orman ağaçları ve ekoloji ile bağlantıları, ilerleme şekli daha iyi anlaşılabilmiş ve yeni türler ortaya çıkarılabilmektedir. Yukarıdaki çalışmalardan da görüldüğü gibi, ülkemizde şu ana kadar 21 adet tür moleküler verilerle desteklenerek belirlenmiştir. Bu türlerden 4 adedi de ülkemiz adına yeni tür olarak yayınlanmıştır. Ancak, daha çok çalışma yapılması yoluyla ülkemiz tür sayısının daha fazla olacağı tahmin edilmektedir.

3. MATERİYAL VE METOT

Araştırma Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'nde yürütülmüştür.

3.1. Materyal

2018 yılı ilkbahar sezonunda, Türkiye'nin farklı illerinden toplanmış olan Morchella (kuzugöbeği) cinsi örnekleri, daha önce toplanmış olan koleksiyonla birlikte çalışmanın materyalini oluşturmuştur. Kuzugöbeği mantarları, ülkemizde genellikle daha sıcak olan sahil bölgelerinde Şubat ayı ortalarında oluşmaya başlayıp Mayıs ayı başlarına kadar devam etmekte, daha soğuk bölgelerde ise Mayıs ayında başlayarak Haziran ayı sonuna kadar devam etmektedir. Bu nedenle, örnek toplama programı toplama yapılan alanın iklim özelliklerine göre planlanmıştır. Taşkın ve ark (2010, 2012) tarafından yapılan çalışmalarda, toplama yapılarak analizlenen ve sonuçları yayınlanan lokasyonlar, yine Taşkın ve ark. tarafından 2016-2018 ilkbahar dönemlerinde toplama yapılan lokasyonlar Çizelge 3.1'de sunulmuştur. Bu tez çalışmasında 2016-2018 ilkbahar sezonlarında Çanakkale, Edirne, Erzurum, Erzincan, Osmaniye, Adana, İzmir, Isparta ve Balıkesir illerinden toplanmış olan koleksiyondaki ilginç türlerin değerlendirilmesi yapılmıştır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan koleksiyona ait bilgiler

HT No	MN	Lokasyon-Yıl	GPS No	Habitat
HT554	44	Çanakkale 2016	Bilinmiyor	Bilinmiyor
HT555	12	Çanakkale 2016	Bilinmiyor	Bilinmiyor
HT558	68	Çanakkale 2016	Bilinmiyor	Bilinmiyor
HT559	10	Sinop 2016	Bilinmiyor	Bilinmiyor
HT560	15	Adana	Bilinmiyor	Yanık alan

		2016		
HT562	52	Çanakkale 2016	Bilinmiyor	Bilinmiyor
HT564	58	Çanakkale 2016	Bilinmiyor	Bilinmiyor
HT565	108	Çanakkale 2016	Bilinmiyor	Bilinmiyor
HT567	104	Çanakkale 2016	Bilinmiyor	Bilinmiyor
HT574	19	Çanakkale 2016	K39°56.463' D026°32.318' 446 m	<i>Pinus brutia</i>
HT579	64	Çanakkale 2016	K39°56.414' D026°32.458' 444 m	<i>Pinus brutia</i>
HT584, HT586	62	Çanakkale 2016	K39°56.464' D026°32.318' 421 m	<i>Pinus brutia</i>
HT587	14	Çanakkale 2016	K39°56.463' D026°32.318' 455 m	<i>Pinus brutia</i>
HT592	48	Çanakkale 2016	K39°56.458' D026°32.321' 447 m	<i>Pinus brutia</i>
HT593	66	Çanakkale 2016	K39°56.372' D026°31.485' 386 m	<i>Pinus brutia</i>
HT597	13	Çanakkale 2016	K39°56.372' D026°31.485' 386 m	<i>Pinus brutia</i>
HT598	88	Çanakkale 2016	K39°57.148' D026°32.475' 442 m	<i>Pinus brutia</i>
HT601	65	Çanakkale 2016	K39°40.713' D026°35.511' 521 m	<i>Pinus brutia</i>
HT602	59	Çanakkale 2016	K39°40.795' D026°35.546' 454 m	<i>Pinus brutia</i>
HT604	23	Erzincan 2016	K39°52.288' D038°57.495'5 m	<i>Pinus sylvestris</i> <i>Populus tremula</i>
HT605	30	Erzincan 2016	K39°52.288' D038°57.495'5 m	<i>Pinus sylvestris</i> <i>Populus tremula</i>
HT606	99	Erzincan 2016	K39°52.288' D038°57.495'5 m	<i>Pinus sylvestris</i> <i>Populus tremula</i>
HT610	18	Erzincan 2016	K39°52.288' D038°57.495'5 m	<i>Pinus sylvestris</i> <i>Populus tremula</i>
HT621	16	Erzincan 2016	K39°52.288' D038°57.495'5 m	<i>Pinus sylvestris</i> <i>Populus tremula</i>

HT624	54	Erzurum 2016	K40°25.700' D042°06.311' 2146 m	<i>Pinus sylvestris</i> <i>Populus tremula</i>
HT628	84	Edirne 2017	K40°39.195' D026°39.671' 84 m	Yanık saha
HT629	110	Edirne 2017	K40°39.195' D026°39.671' 84 m	Yanık saha
HT630	94	Edirne 2017	K40°39.147' D026°39.637' 82 m	Yanık saha
HT631	35	Edirne 2017	K40°39.633' D026°39.686' 90 m	Yanık saha
HT633	81	Edirne 2017	K40°39.029' D026°39.599' 48 m	Yanık saha
HT636	75	Edirne 2017	K40°39.029' D026°39.599' 48 m	Yanık saha
HT637	71	Edirne 2017	K40°39.694' D026°39.677' 77 m	Yanık saha
HT640	76	Edirne 2017	K40°39.704' D026°39.688' 93 m	Yanık saha
HT641	41	Edirne 2017	K40°39.197' D026°39.613' 102 m	Yanık saha
HT643	39	Edirne 2017	K40°39.679' D026°39.677' 85 m	Yanık saha
HT644	107	Edirne 2017	K40°39.213' D026°39.683' 58 m	Yanık saha
HT647	96	Edirne 2017	K40°39.199' D026°39.671' 89 m	Yanık saha
HT648	73	Edirne	K40°39.713'	Yanık saha

3. MATERYAL VE METOT

İsmail KESKİNKILIÇ

		2017	D026°39.717' 86 m	
HT650	49	Edirne 2017	K40°39.210' D026°39.633' 88 m	Yanık saha
HT651	106	Edirne 2017	K40°39.198' D026°39.680' 80 m	Yanık saha
HT653	95	Edirne 2017	K40°39.676' D026°39.678' 75 m	Yanık saha
HT654	72	Edirne 2017	K40°39.179' D026°39.638' 86 m	Yanık saha
HT655	47	Edirne 2017	K40°39.685' D026°39.719' 86 m	Yanık saha
HT659	70	Edirne 2017	Bilinmiyor	Bilinmiyor
HT661	27	İzmir 2017	K39°13.535' D027°01.217' 498 m	<i>Pinus pinea, Cistus</i>
HT662	57	İzmir 2017	K39°14.175' D027°03.598' 526 m	<i>Pinus pinea</i>
HT663	26	İzmir 2017	K39°14.157' D027°03.588' 540 m	<i>Pinus pinea</i>
HT664	29	İzmir 2017	K39°14.157' D027°03.588' 540 m	<i>Pinus pinea, Cistus</i>
HT665	46	İzmir 2017	K39°14.192' D027°04.118' 528 m	<i>Pinus brutia</i>
HT666	79	İzmir 2017	K39°14.150' D027°03.594' 518 m	<i>Pinus brutia</i>
HT668	37	Adana- Feke 2017	K37°42.163' D035°48.500' 639 m	<i>Pinus brutia,</i> <i>Arbutus spp.</i>

HT669	98	Adana- Feke 2017	K37°42.484' D035°46.513' 732 m	<i>Pinus brutia</i> , <i>Arbutus</i> spp.
HT670	25	Adana- Feke 2017	K37°42.484' D035°46.513' 732 m	<i>Pinus brutia</i> , <i>Arbutus</i> spp.
HT671	55	Adana- Feke 2017	K37°42.475' D035°46.512' 741 m	<i>Pinus brutia</i> , <i>Arbutus</i> spp.
HT672	51	Adana- Feke 2017	K37°42.819' D035°48.464' 625 m	<i>Pinus brutia</i> , <i>Arbutus</i> spp.
HT677	80	Balıkesir- Kazdağları 2018	K39°36.414' D026°50.556' 407 m	<i>Pinus brutia</i> , <i>Cistus</i> spp.
HT678	74	Balıkesir- Kazdağları 2018	K39°35.462' D026°51.178' 194 m	Yanık saha, <i>Pinus</i> <i>brutia</i>
HT679	93	Balıkesir- Kazdağları 2018	K39°35.198' D027°00.367' 1 m	Sebze bahçesi, bir tane <i>Pinus brutia</i> var
HT680	40	Balıkesir- Kazdağları 2018	K39°35.462' D026°51.178' 208 m	Yanık saha, <i>Pinus</i> <i>brutia</i>
HT682	17	Isparta 2018	K37°47.365' D031°19.549' 1695 m	<i>Juniperus</i> spp., <i>Abies</i> spp.
HT683	42	Isparta 2018	K37°47.361' D031°19.549' 1722 m	<i>Juniperus</i> spp., <i>Abies</i> spp.
HT685	22	Isparta 2018		<i>Juniperus</i> spp., <i>Abies</i> spp.
HT687	105	Isparta 2018	K37°47.362' D031°19.550' 1734 m	<i>Juniperus</i> spp., <i>Abies</i> spp.
HT688	24	Isparta 2018	K37°47.364' D031°19.549' 1695 m	<i>Juniperus</i> spp., <i>Abies</i> spp.
HT689	5	Isparta 2018	K37°47.471' D031°19.553'	<i>Juniperus</i> spp., <i>Abies</i> spp.

3. MATERYAL VE METOT

İsmail KESKİNKILIC

			1734 m	
HT690	90	Isparta 2018	K37°46.584' D031°20.213' 1629 m	<i>Juniperus</i> spp., <i>Abies</i> spp.
HT691	63	Isparta 2018	K37°47.363' D031°19.548' 1694 m	<i>Juniperus</i> spp., <i>Abies</i> spp.
HT692	21	Isparta 2018	K37°47.360' D031°19.552' 1699 m	<i>Juniperus</i> spp., <i>Abies</i> spp.
HT693	4	Isparta 2018	K37°47.361' D031°19.550' 1719 m	<i>Juniperus</i> spp., <i>Abies</i> spp.
HT694	3	Isparta 2018	K37°47.360' D031°19.552' 1717 m	<i>Juniperus</i> spp., <i>Abies</i> spp.
HT697	86	Isparta 2018	K37°47.365' D031°19.550' 1698 m	<i>Juniperus</i> spp., <i>Abies</i> spp.
HT698	83	Adana- Aladağ 2017	K37°27.519' D035°15.226' 1186 m	
HT702	78	Kayseri 2018	Bilinmiyor	Bilinmiyor
HT706	53	Isparta- Keçiborlu 2017	Bilinmiyor	Bilinmiyor
HT707	56	Isparta- Keçiborlu 2017	Bilinmiyor	Bilinmiyor
HT709	92	Isparta- Keçiborlu 2017	Bilinmiyor	Bilinmiyor
HT710	8	Osmaniye 2016	Bilinmiyor	Bilinmiyor
HT711	11	Osmaniye 2016	Bilinmiyor	Bilinmiyor
HT712	100	Kars 2018	Bilinmiyor	Bilinmiyor
HT713	101	Kars 2018	Bilinmiyor	Bilinmiyor
HT714	102	Kars 2018	Bilinmiyor	Bilinmiyor

HT715	103	Kars 2018	Bilinmiyor	Bilinmiyor
HT716	7	Osmaniye 2016	Bilinmiyor	Bilinmiyor
AD1	123	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor
AD1	124	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor
AD1	125	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor
AD1	126	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor

HT No: Hatıra Taşkın kolekesiyon numarası, AD: Ayperi Dağtekin Örnekleri, MN: Moleküler analiz numarası

Abies: Köknar, *Arbutus*: Kocayemiş, *Cistus*: Laden, *Juniperus*: Ardıç, *Pinus brutia*: Kızılçam, *Pinus pinea*: Fıstık çamı, *Pinus sylvestris*: Sarıçam, *Populus tremula*: Titrek kavak

Lokasyon, GPS ve habitatı bilinmeyen örnekler toplayıcılardan ve ihracat firmalarından temin edilmiştir.

3.2. Metot

3.2.1. Mantarların Toplanması ve Tanı Özelliklerinin Kaydedilmesi

Kuzugöbeği mantarlarının toplanılması esnasında aşağıdaki hususlar göz önünde bulundurulmuştur:

- Mantarların bulunduğu yerde yüksek kalitede fotoğraflarının çekilmesi
- Bölgenin vejetasyon özelliklerinin kaydedilmesi (ağaç türleri ve orman yakın zamanda yangın geçirmiş mi vb. bilgiler)
- Küresel konumlama sistemi (GPS) ile koordinatların belirlenmesi
- Mantarın belirgin özellikleri varsa kaydedilmesi (sıra dışı ölçülerde ve renkte ise ya da sıra dışı bir zamanda ve yerde çıkmışsa)
- Mantarların olduğu yerden alınarak numaralandırılması
- Kâğıt kese ya da alüminyum folyo içerisine konularak taşınması

- Baş ölçümleri: Baş çapı ve boyunun dijital bir kumpas yardımıyla ölçülmesi
- (örnekler taze iken yapılmalıdır)
- Sap ölçümleri: Sap çapı ve boyunun dijital bir kumpas yardımıyla ölçülmesi (örnekler taze iken yapılmalıdır)
- En kısa sürede gıda kurutucularında 40°C’de kurutulması
- Numarası ile birlikte kilitli plastik torbalar içerisine konularak muhafaza edilmesi
- Kurutulmuş örneklerin moleküler analizlerinin tamamlanmasının ardından fungaryum materyali olarak hazırlanmasıdır. [-30°C’de 48 saat bekletilmesi, etiketlenmesi (tür adı, toplayıcı adı, nereden toplandığı, GPS koordinatları ve yüksekliği, örnek ve fungaryum numarası) kâğıt keselere yerleştirilmesi]

3.2.2. Moleküler Analizler

3.2.2.1. DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu, kurutulmuş mantarlardan hazır kit (Eurx GeneMATRIX marka Bitki ve Mantar DNA Saflaştırma Kiti) kullanımı ile yapılmıştır. İzolasyona başlamadan önce kit protokolüne göre spin kolonlar tampon P (40 µl) ile aktive edilmiştir. Kurutulan mantar örneklerinden yaklaşık 50 mg alınarak bir homojenizatör (IKA T-10B, Almanya) yardımıyla eppendorf tüplerinin içerisinde toz haline gelinceye kadar öğütülmüştür. Toz haline getirilen örneklerin üzerine sırasıyla Lyse-F tamponu (400 µl), RNaz A (10 µl, 20 mg/ml), Proteinaz K (10 µl, 10 mg/ml) ilave edilip vortekslelendikten sonra, su banyosunda 65°C’de 30 dk boyunca inkübe edilmiştir. Su banyosundan çıkarılan örneklerin üzerine tampon AC (130 µl) ilave edilerek, 12.000 devir/dk’da 10 dk boyunca santrifüj edilmiştir. Süpernatant kısım (yaklaşık 400 µl) yeni bir eppendorf tüpe aktarılıp, üzerine sırasıyla Sol P tamponu (350 µl) ve etanol (250 µl, %96’lık) ilave edilerek tüpler

hafif bir şekilde alt üst edilmiştir. Daha sonra yine süpernatant kısım spin kolonlarına alınarak, 1 dk boyunca 11.500 devir/dk'da santrifüj edilmiştir. Toplama tüpleri içerisindeki sıvı kısım döküldükten sonra, spin kolonların üzerine yıkama tamponu PX ilave edilerek, tekrar 1 dk boyunca 11.500 devir/dk'da santrifüj edilmiştir (bu işlem en az iki kez tekrarlanmıştır). Spin kolonlar yeni bir eppendorf tüp içerisine konularak üzerine 80°C'ye kadar ısıtılmış elution tamponu (200 µl) konulup 3 dk bekletildikten sonra, 1 dk boyunca 11.500 devir/dk'da santrifüj edilmiştir. İçerisinde 200 µl genomik DNA solüsyonu bulunan eppendorf tüpleri kullanılıncaya kadar -20°C'de buzdolabında bekletilmiştir.

3.2.2.2. PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) Analizi

Çalışmada DNA dizi analizlerinin yapılabilmesi için RPB1, RPB2, EF-1α, ITS ve 28S r DNA gen bölgeleri kullanılmıştır.

Herbir örnek için PCR karışımı (toplamda 50 µl olarak hazırlanmıştır) şu şekilde hazırlanmıştır: 35.8 µl steril ddH₂O, 5 µl 10X PCR buffer, 5 µl MgSO₄ (50 mM), 1.0 µl dNTP (10 mM), 0.8 µl ileri primer (10 pM), 0.8 µl geri primer (10 pM), 1.0 µl Taq polimeraz enzimi ve son olarak da 0.6 µl genomik DNA ilave edilmiştir.

PCR reaksiyon şartları; 94°C'de 5 dk süreyle bir döngü; 94°C'de 30 s, RPB1 için 50°C'de, RPB2 için 52°C'de, 28S rDNA için 53°C'de ve EF-1α için 55°C'de 60 s ve 72°C'de 90 s süreyle 30 döngü; 72°C'de 10 dakikalık bir döngü ve +4°C'de bekletme şeklinde ayarlanmıştır.

Elde edilen PCR ürünleri, 1xTAE buffer (Sambrook ve Russell, 2001) içerisindeki agaroz jel (%1.5-UltraPure™ Agarose)'de elektroforez yardımıyla koşutlandıktan sonra, etidyum bromit ile boyanarak UV görüntüleme sistemi yardımıyla görüntülenmiştir.

3.2.2.3. DNA Dizi Analizi

PCR ürünlerinin temizlenmesi ve DNA dizi analizleri hizmet alımı şeklinde gerçekleştirilmiştir.

Projede, aşağıda sıralanan üç gen bölgesi kullanılmıştır:

- 1) Transkripsiyonu yapılamayan bölge (ITS rDNA; White ve ark, 1990) bölgesi ve 28S rDNA bölgesi (LSU, 597 bp; O'Donnell ve ark, 1997)'nin D1 ve D2 domaini
- 2) Translasyon uzama faktörü 1- α (EF-1 α , 1464 bp; Rehner ve Buckley, 2005)
- 3) RNA polimeraz II (RPB2, 873 bp; Liu ve ark, 1999; Reeb ve ark, 2004) ve RNA polimeraz I (RPB1, 744 bp; Matheny ve ark, 2002)

Öncelikle tüm örnekler, ITS rDNA gen bölgesi ile DNA dizi analizlenmesi işlemine tabi tutulmuşlardır. Elde edilen DNA dizileri Sequencher version 5.4.5 (Gene Codes, Ann Arbor, MI) programı kullanılarak dizilimler yeniden düzenlenmiş ve aynı programda %100 benzerlik gösteren tür grupları belirlenmiştir. Daha sonra oluşan bu tür gruplarından birer örnek seçilerek, diğer gen bölgeleri ile taramaları yapılmıştır.

Çalışmada farklı gen bölgeleri için kullanılan primer dizinleri Çizelge 3.2'de sunulmuştur.

Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan primer dizinleri

RPB1		PCR	Sekans
RPB-C2	GMA GAA CMG TAA TCA CCA TCC		X
RPB-A2	TAA CCA TCC ACT CTG GTC TCG		X
RPB1A	GAR TGY CCD GGD CAY TTY GG	X	
RPB1C	CCN GCD ATN TCR TTR TCC ATR TA	X	
RPB1B	AAA ACC GGT ATA TCA CGT YGG	X	X
RPB1D	AAG AGG GCC TCG AAT TCG TTG	X	X
RPB2			
RPB2-3r-ela	GCA TYG GTA TGC AGG TTG TGG		X
RPB2-9f-ela	CAA ATG GGC RAT TGT CAT ACG		X
RPB2-7cf	ATG GGY AAR CAA GCY ATG GG	X	

RPB2-3053r	TGR ATY TTR TCR TCS ACC ATR TG	X	
EF-1α			
EF-526F	GTC GTY GTY ATY GGH CAY GT	X	
EF-1567R	ACH GTR CCR ATA CCA CCR ATC TT	X	
EF-3AR	GAA ACG RTC CTC RGA CCA C		X
EF-5AR	CCA GCA ACR TTA CCA CGA CG		X
EF-2F	AAC ATG ATS ACT GGT ACY TCC	X	X
EF-2218R	ATG ACA CCR ACR GCR ACR GTY TG	X	
28s r DNA			
NL1	GCA TAT CAA TAA GCG GAG G	X	X
NL4	GGT CCG TGT TTC AAG ACG G	X	X
ITS			
ITS4	TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC	X	X
ITS5	GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAG G	X	X

3.2.2.4. Filogenetik Analizler

Satırlardaki dizin verilerinin düzenlemesinde (ileri ve geri primerlerin karşılaştırılarak hataların düzeltilmesi) Sequencher version 5.4.5 (Gene Codes, Ann Arbor, MI) programı kullanılmış ve sonrasında dizilimler yeniden düzenlenmiştir. Filogenetik ağaçların oluşturulması, MEGA 7.0 programı kullanımıyla Maximum Likelihood (ML) analizi ile yapılmıştır. Türlerin belirlenmesi, elde edilen DNA dizilerinin Genbankası verileri ile karşılaştırması ile yapılmıştır. Çalışma ile elde edilen DNA dizilerine en yüksek benzerlik gösteren ve güvenilir kabul edilen kaynaklardan sağlanan DNA dizileri, filogenetik analizlerde kullanılmıştır. ITS rDNA ve 28S rDNA gen bölgeleri ile yapılan DNA dizi analizlerinden kaliteli diziler elde edilmesine rağmen, diğer gen bölgelerinde tüm örneklerde kaliteli DNA dizileri elde edilemediği için, ITS rDNA ve 28S rDNA gen bölgeleri dışında, diğer gen bölgeleri bireysel olarak değerlendirilmiştir.



4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Çalışmada, toplanan ve 88 üyeden oluşan *Morchella* koleksiyonundaki tüm örnekler, öncelikle ITS rDNA gen bölgesi ile taranmış ve Sequencher version 5.4.5 (Gene Codes, Ann Arbor, MI) programı kullanımı ile %100'lük benzerlik oranında karşılaştırılmışlardır. Bu karşılaştırma sonucunda, %100 benzer olan örneklerden seçilen birer örnekle (28 adet) (Çizelge 4.1) Maksimum Likelihood (ML) analizi ile MEGA programında filogenetik ağaç oluşturulmuş ve aynı yerde kümelenen örneklerden de seçme yapılarak (21 örnek), diğer gen bölgeleri ile taramalara devam edilmiştir (Çizelge 4.2). Grubu temsilen seçilen örneklerin, yanıltıcı olmaması için, DNA dizilerinin hem ileri hem de geri primer ile kaliteli çıktığı koleksiyonların seçimine dikkat edilmiştir. Çizelge 4.2'de HT710 (8) ve HT711 (11) nolu 2 adet örnekten oluşan grupta, tek taraflı kaliteli DNA dizisi elde edilebildiği için, filogenetik ağaçta değerlendirilmeye alınamamıştır

Çizelge 4.1. ITS rDNA gen bölgesi DNA dizi analizlerine göre %100 benzer örnek grupları ve grubu temsilen seçilen örnekler

Seçilen koleksiyon no	Gruba ait diğer örnekler
AD4 (126)	HT712 (100), AD4 (126)
HT714 (102)	HT713 (101), HT714 (102)
HT691 (63)	HT691 (63), AD2 (124)
HT692 (21)	HT692 (21)
HT670 (25)	HT670 (25)
HT702 (78)	HT702 (78)
HT562 (52)	HT559 (10), HT587 (14), HT562 (52), HT677 (80), HT567 (104)
HT679 (93)	HT679 (93)
HT661 (27)	HT555 (12), HT597 (13), (HT57419), HT661 (27), HT665 (46), HT602 (59), HT584 (62), HT666 (79), HT598 (88), HT565 (108), AD3 (125)
HT688 (24)	HT689 (5), HT688 (24), 38, HT698 (83)
HT683 (42)	HT694 (3), HT682 (17), HT683 (42), HT685 (22), HT707 (56), HT697 (86), HT690 (90), HT687 (105)

HT631 (35)	HT631 (35), HT633 (81), HT630 (94), HT715 (103)
HT655 (47)	HT655 (47), AD1 (123)
HT554 (44)	HT554 (44)
HT641 (41)	HT641 (41)
HT693 (4)	HT693 (4)
HT605 (30)	HT605 (30)
HT664 (29)	HT664 (29)
HT601 (65)	HT601 (65)
HT593 (66)	HT593 (66)
HT659 (70)	HT659 (70)
HT663 (26)	HT663 (26), HT592 (48), HT662 (57), HT564 (58), HT558 (68)
HT669 (98)	HT669 (98)
HT621 (16)	HT716 (7), HT621 (16), HT610 (18), HT624(54), HT606 (99)
HT706 (53)	HT604 (23), HT706 (53), HT709 (92)
HT671 (55)	HT560 (15), HT668 (37), HT643 (39), HT680 (40), HT650 (49), HT672 (51), HT671 (55), HT637 (71), HT654 (72), HT648 (73), HT678 (74), HT636 (75), HT640 (76), 84 (HT628), HT653 (95), HT647 (96), HT651 (106), HT644 (107), HT629 (110)
HT710 (8)	HT710 (8), HT711 (11)
HT579 (64)	HT579 (64)

Çizelge 4.2. Diğer gen bölgelerinde kullanılan koleksiyon numaraları

Seçilen koleksiyon no	Gruba ait diğer örnekler
HT712 (100)	HT712 (100), AD4 (126)
HT713 (101)	HT713 (101), HT714 (102)
AD2 (124)	HT691 (63), AD2 (124)
HT692 (21)	HT692 (21)
HT670 (25)	HT670 (25), HT641 (41), HT655 (47), HT679 (93), AD1 (123)
HT702 (78)	HT702 (78)
HT677 (80)	HT559 (10), HT587 (14), HT562 (52), HT677 (80), HT567 (104)
HT666 (79)	HT555 (12), HT597 (13), HT574 (19), HT661 (27), HT665 (46), HT602 (59), HT584 (62), HT579 (64), HT666 (79), HT598 (88), HT565 (108), AD3 (125)

HT698 (83)	HT689 (5), HT688 (24), 38, HT698 (83)
HT690 (90)	HT694 (3), HT682 (17), HT685 (22), HT683 (42), HT707 (56), HT697 (86), HT690 (90), HT687 (105)
HT630 (94)	35 (HT631), 81 (HT633), 94 (HT630), 103 (HT715)
HT554 (44)	HT554 (44)
HT693 (4)	HT693 (4), HT605 (30)
HT664 (29)	HT664 (29)
HT593 (66)	HT593 (66), HT601 (65)
HT659 (70)	HT659 (70)
HT558 (68)	HT663 (26), HT592 (48), HT662 (57), HT564 (58), HT558 (68)
HT669 (98)	HT669 (98)
HT606 (99)	HT716 (7), HT621 (16), HT610 (18), HT624 (54), HT606 (99)
HT709 (92)	HT604 (23), HT706 (53), HT709 (92)
HT628 (84)	HT560 (15), HT668 (37), HT643 (39), HT680 (40), HT650 (49), HT672 (51), HT671 (55), (HT63771), HT654 (72), HT648 (73), T678 (74H), HT636 (75), HT640 (76), HT628 (84), HT653 (95), HT647 (96), HT651 (106), HT644 (107), HT629 (110)
HT710 (8)	HT710 (8), HT711 (11)

Sunulan bu çalışmada; ITS rDNA, 28S rDNA, EF-1 α , RPB1 ve RPB2 gen bölgelerinin ileri ve geri primerleri ile DNA dizi analizleri yapılarak, çoklu gen bölgelerinin birleştirilmeleri ile tür tahminlerinin yapılması planlanmıştır. Ancak ITS rDNA ve 28S rDNA gen bölgelerinde tamamen başarılı sonuçlar alınabilirken, EF-1 α , RPB1 ve RPB2 gen bölgelerinin tamamından kaliteli DNA dizi analizleri sonuçları elde edilememiştir. Bu nedenle, ITS rDNA ve 28S rDNA gen bölgelerinin sonuçları birleştirilerek tek bir filogenetik ağaçta sunulurken (Şekil 4.1), diğer gen bölgeleri, kaliteli DNA dizileri içeren sayıları ile ayrı ayrı verilmiştir (Şekil 4.2-4.4). Çizelge 4.3-4.6'da farklı gen bölgeleri DNA dizi analizlerine dayalı gen bankası karşılaştırılmalı tür tahminleri, filogenetik ağaçlara da (Şekil 4.1-4.4) bağlı kalınarak sunulmuştur.

Çizelge 4.3. ITS rDNA + 28S rDNA gen bölgeleri sonuçlarına göre tür tahminleri

Kol. No	Tür	GB No	Benzerlik	Referans
HT712 (100)	<i>M. purpurascens</i> <i>M. eohespera</i> <i>M. laurentiana</i>	JN085111 KT819369 KT819374	%100 %99.86 %99.73	Taşkın ve ark (2012) Voitk ve ark (2016) Voitk ve ark (2016)
HT713 (101)	<i>M. purpurascens</i> <i>M. eohespera</i> <i>M. laurentiana</i>	JN085111 KT819369 KT819374	%99.86 %99.73 %99.59	Taşkın ve ark (2012) Voitk ve ark (2016) Voitk ve ark (2016)
AD2 (124)	<i>M. tridentina</i>	KM587964	%99.88	Richard ve ark (2015)
HT692 (21)	<i>Mel-13</i>	JN085146	%99.12	Taşkın ve ark (2012)
HT670 (25)	<i>M. importuna</i>	KM485958	%99.31	Yayınlanmamış
HT702 (78)	<i>M. cf. brunnea</i>	MH198756	%99.31	Yayınlanmamış
HT677 (80)	<i>M. dunalii</i>	JN085137	%100	Taşkın ve ark (2012)
HT666 (79)	<i>M. laurentiana</i> <i>M. eohespera</i> <i>M. purpurascens</i>	KT819374 KT819369 JN085111	%100 %99.86 %99.72	Voitk ve ark (2016) Voitk ve ark (2016) Taşkın ve ark (2012)
HT698 (83)	<i>M. mediterraneensis</i>	JN085126	%100	Taşkın ve ark (2012)
HT690 (90)	<i>M. deliciosa</i>	KM588006	%100	Richard ve ark (2015)
HT630 (94)	<i>M. eximia</i>	KM587980	%99.86	Richard ve ark (2015)
HT554 (44)	<i>M. dunensis</i>	JQ723102 KU865007	%99.82 %99.71	Du ve ark (2012b) Loizides ve ark (2016)
HT693 (4)	<i>M. mediterraneensis</i>	JN085126	%100	Taşkın ve ark (2012)
HT664 (29)	<i>M. laurentiana</i> <i>M. eohespera</i> <i>M. purpurascens</i>	KT819374 KT819369 JN085111	%99.86 %99.71 %99.57	Voitk ve ark (2016) Voitk ve ark (2016) Taşkın ve ark (2012)
HT593 (66)	<i>M. tridentina</i>	KM587964	%99.88	Richard ve ark (2015)
HT659 (70)	<i>M. steppicola</i>	KM587977 KX599194	%99.53 %99.52	Richard ve ark (2015) Yatsiuk ve ark (2016)
HT558 (68)	<i>M. laurentiana</i> <i>M. eohespera</i> <i>M. purpurascens</i>	KT819374 KT819369 JN085111	%99.86 %99.72 %99.58	Voitk ve ark (2016) Voitk ve ark (2016) Taşkın ve ark (2012)

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

İsmail KESKİNKILIÇ

HT669 (98)	<i>M. importuna</i>	KM485958	%99.31	Yayınlanmamış
HT606 (99)	<i>M. pulchella</i>	JN085124	%100	Taşkın ve ark (2012)
HT709 (92)	<i>M. eohespera</i>	KT819369	%100	Voitk ve ark (2016)
	<i>M. purpurascens</i>	JN085111	%99.86	Taşkın ve ark (2012)
	<i>M. laurentiana</i>	KT819374	%99.86	Voitk ve ark (2016)
HT628 (84)	<i>M. importuna</i>	KM485958	%99.31	Yayınlanmamış

Kol. No: Koleksiyon No, GB No: Genbankası No

Çizelge 4.4. RPB1 gen bölgesine sonuçlarına göre tür tahminleri

Kol. No	Tür	GB No	Benzerlik	Referans
AD2 (124)	<i>M. tridentina</i>	HM056417	%99.67	Taşkın ve ark (2010)
HT702 (78)	<i>M. arbutiphila</i> <i>M. purpurascens</i>	HM056433	%99.66	Taşkın ve ark (2010)
		KM588043	%99.49	Richard ve ark (2015)
HT677 (80)	<i>M. dunalii</i>	KM588050	%99.83	Richard ve ark (2015)
HT666 (79)	<i>M. purpurascens</i> <i>Mel-37</i>	KM588043	%99.66	Richard ve ark (2015)
		KJ569593	%99.83	Pildain ve ark (2014)
HT698 (83)	<i>M. mediterraneensis</i>	HM056408	%99.83	Taşkın ve ark (2010)
HT690 (90)	<i>M. deliciosa</i>	KM588046	%99.66	Richard ve ark (2015)
HT628 (84)	<i>M. importuna</i>	JX173437	%99.67	Kuo ve ark (2012)

Kol. No: Koleksiyon No, GB No: Genbankası No

Çizelge 4.5. RPB2 gen bölgesi sonuçlarına göre tür tahminleri

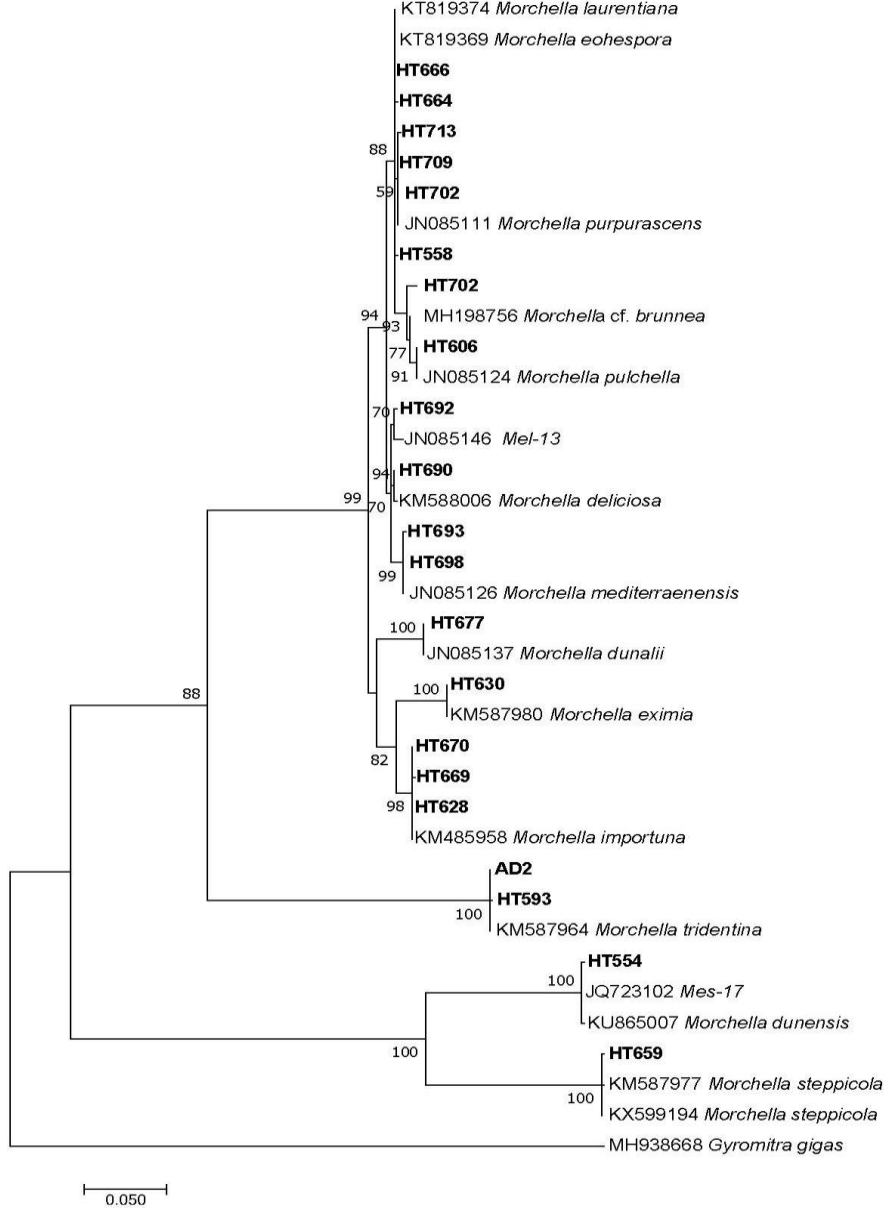
Kol. No	Tür	GB No	Benzerlik	Referans
21 (HT692)	<i>Mel-13</i> <i>M. angusticeps</i>	JN085262 JQ670128	%99.78 %99.27	Taşkın ve ark (2012) Kuo ve ark (2012)
HT670 (25)	<i>M. importuna</i>	HM056471	%100	Taşkın ve ark (2010)
HT702 (78)	<i>M. arbutiphila</i>	HM056495	%99.27	Taşkın ve ark (2010)
HT677 (80)	<i>M. dunalii</i>	HM056482	%99.32	Taşkın ve ark (2010)
HT666 (79)	<i>M.</i> <i>purpurascens</i> <i>M. laurentiana</i> <i>M. eohespera</i>	HM056475 KT819363 KT819359	%100 %100 %99.66	Taşkın ve ark (2010) Voitk ve ark (2016) Voitk ve ark (2016)
HT554 (44)	<i>M. dunensis</i>	HM056509	%99.77	Taşkın ve ark (2010)
HT664 (29)	<i>M.</i> <i>purpurascens</i> <i>M. laurentiana</i> <i>M. eohespera</i>	HM056475 KT819363 KT819359	%100 %100 %99.66	Taşkın ve ark (2010) Voitk ve ark (2016) Voitk ve ark (2016)
HT659 (70)	<i>M. steppicola</i>	GU551362	%99.77	O'Donnell ve ark (2011)

Kol. No: Koleksiyon No, GB No: Genbankası No

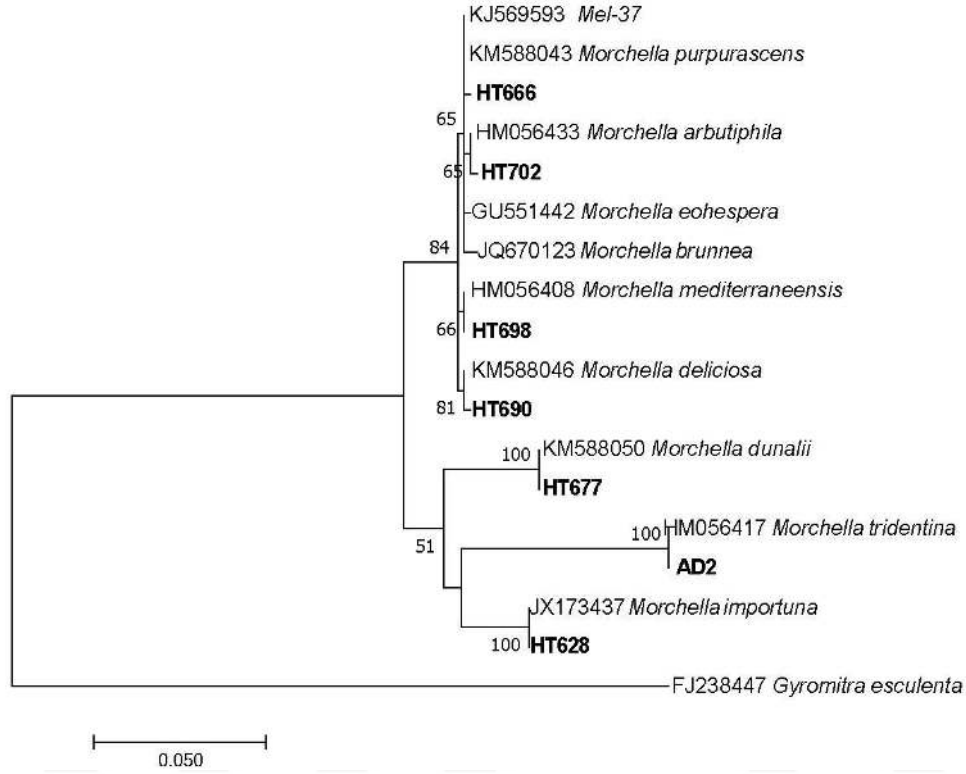
Çizelge 4.6. EF-1α gen bölgesi sonuçlarına göre tür tahminleri

Kol. No	Tür	GB No	Benzerlik	Referans
HT713 (101)	<i>M. purpurascens</i>	GU551401	%99.80	O'Donnell ve ark (2011)
HT692 (21)	<i>Mel-13</i>	GU551402	%99.50	O'Donnell ve ark (2011)
HT670 (25)	<i>M. importuna</i>	HM056366	%100	Taşkın ve ark (2010)
HT630 (94)	<i>M. eximia</i>	GU551012 HM056350	%99.00 %100	O'Donnell ve ark (2011) Taşkın ve ark (2010)
HT554 (44)	<i>M. dunensis</i>	JN085281	%100	Taşkın ve ark (2012)
HT693 (4)	<i>M.</i> <i>mediterraneensis</i>	HM056312	%99.89	Taşkın ve ark (2010)
HT558 (68)	<i>M. purpurascens</i>	GU551401	%99.80	O'Donnell ve ark (2011)
HT669 (98)	<i>M. importuna</i>	HM056366	%100	Taşkın ve ark (2010)
HT606 (99)	<i>M. pulchella</i>	HM056344	%99.79	Taşkın ve ark (2010)
HT628 (84)	<i>M. importuna</i>	HM056366	%100	Taşkın ve ark (2010)

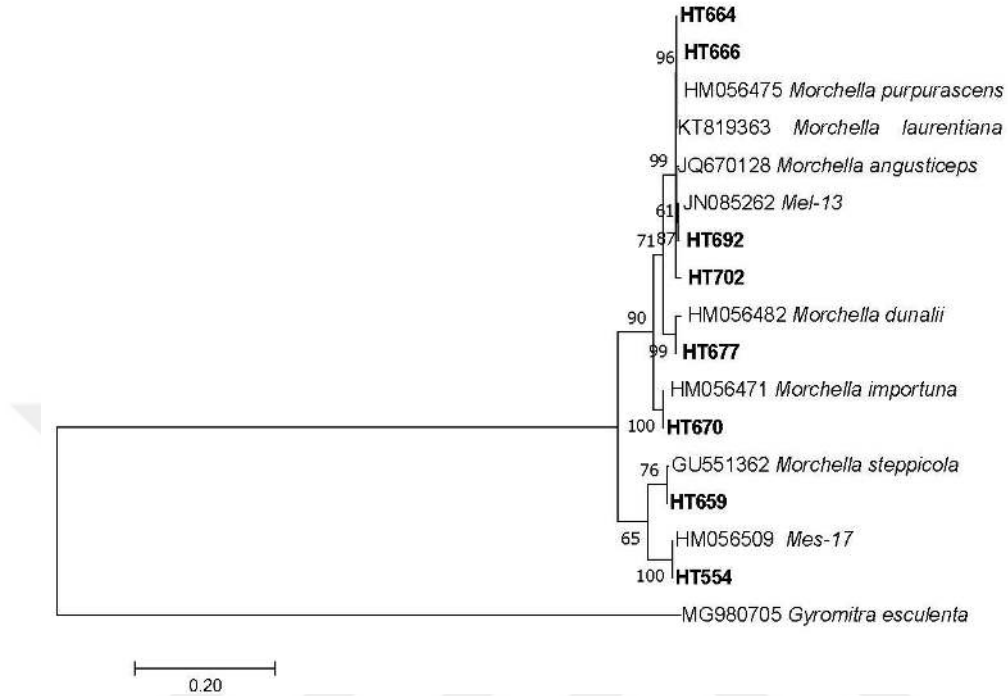
Kol. No: Koleksiyon No, GB No: Genbankası No



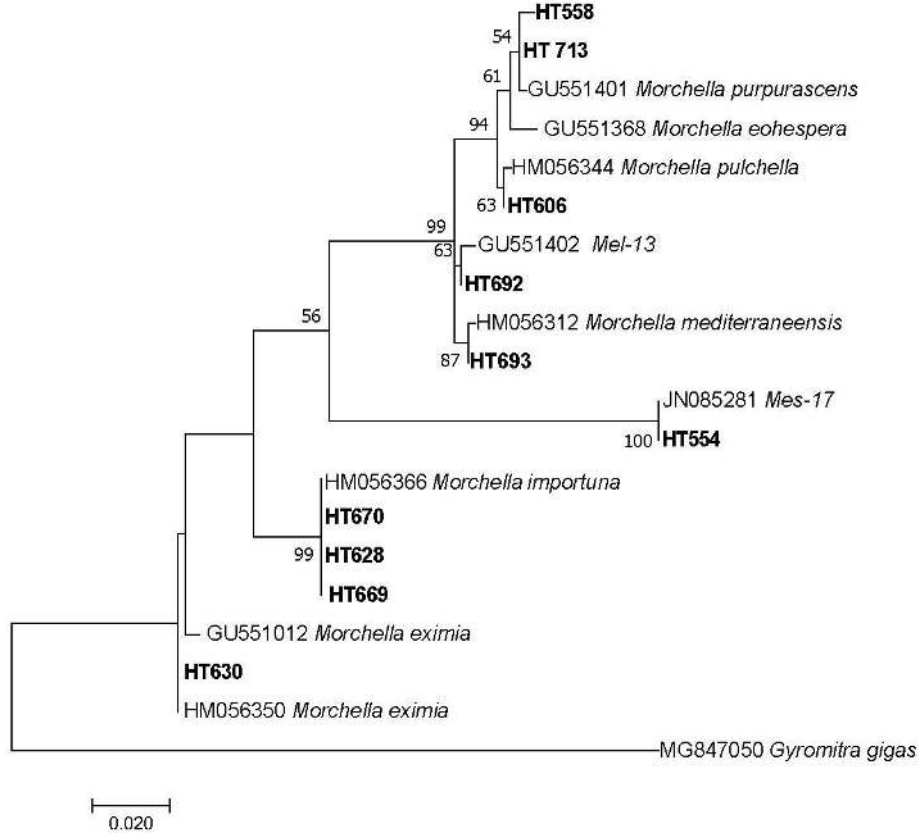
Şekil 4.1. ITS rDNA + 28S rDNA gen bölgeleri DNA dizi analizi sonuçlarına ve Maximum Likelihood metoduna göre elde edilmiş filogenetik ağaç (En yüksek log likelihood değeri -3082.06'dir. Bootstrap değerleri ise dallara yakın gösterilmiştir. Analiz 38 sekans ile yapılmıştır. Boşluk ve hataları içeren tüm pozisyonlar giderilmiştir. Final datasette 533 pozisyon yer almıştır.)



Şekil 4.2. RPB1 gen bölgesi DNA dizi analizi sonuçlarına ve Maximum Likelihood metoduna göre elde edilmiş filogenetik ağaç (En yüksek log likelihood değeri-1593.37'dir. Bootstrap değerleri ise dallara yakın gösterilmiştir. Analiz 18 sekans ile yapılmıştır. Boşluk ve hataları içeren tüm pozisyonlar giderilmiştir. Final datasette 529 pozisyon yer almıştır)



Şekil 4.3. RPB2 gen bölgesi DNA dizi analizi sonuçlarına ve Maximum Likelihood metoduna göre elde edilmiş filogenetik ağaç (En yüksek log likelihood değeri -2838.19'dir. Bootstrap değerleri ise dallara yakın gösterilmiştir. Analiz 17 sekans ile yapılmıştır. Boşluk ve hataları içeren tüm pozisyonlar giderilmiştir. Final datasette 749 pozisyon yer almıştır)



Şekil 4.4. EF-1 α gen bölgesi DNA dizi analizi sonuçlarına ve Maximum Likelihood metoduna göre elde edilmiş filogenetik ağaç (En yüksek log likelihood değeri -1730.82'dir. Bootstrap değerleri ise dallara yakın gösterilmiştir. Analiz 20 sekans ile yapılmıştır. Boşluk ve hataları içeren tüm pozisyonlar giderilmiştir. Final datasette 550 pozisyon yer almıştır)

Sunulan farklı gen bölgelerinin sonuçlarını içeren filogenetik ağaçlardan (Şekil 4.1-4.4) ve çizelgelerden (Çizelge 4.3-4.6) de açıkça görüldüğü gibi, koleksiyon içerisinde yer alan örneklerin bir kısmı, tüm gen bölgelerinde aynı şekilde genbankasında aynı tür ile yüksek destekle eşleşirken, bazı türler genbankasındaki birkaç türle birden yüksek oranlarla eşleşme göstermiştir. HT659 nolu örnek, genbankasında *Morchella steppicola* ile belirgin bir eşleşme göstermiştir. Bu tür morfolojisinden de kolaylıkla ayırt edilebilen bir yapıya

sahiptir. Benzer durum HT554 nolu örnekte *M. dunensis* ile, HT593 ve AD2 nolu örneklerde *M. tridentina* ile, HT628, HT669 ve HT670 nolu örneklerde *M. importuna* ile, HT630 nolu örnekte *M. eximia* ile, HT667 nolu örnekte *M. dunalii* ile, HT693 ve HT698 nolu örneklerde *M. mediterraneensis* ile, HT690 nolu örnekte *M. deliciosa*, HT606 nolu örnekte *M. pulchella* ile ve HT692 nolu örnekte *Mel-13* ile sağlanmıştır. Sıralanan bu türlerin morfolojik özellikleri, ekolojileri ve yükselteleri de literatürle kıyaslanarak, moleküler veriler doğrulanmıştır. Ayrıntılı ve karşılaştırmalı bilgiler aşağıda her tür için ayrı ayrı olacak şekilde sunulmuştur. Koleksiyon içerisindeki bazı türlerin ise filogenetik tür tespitleri, sunulan çalışma kapsamında tam olarak ortaya çıkarılamasa bile, belli ipuçları elde edilmiş ve çalışmanın tamamlanmasını takiben kısa bir süre içerisinde bu türlerin doğru isimleri sağlanabilecektir. HT666 nolu örnek, ITS rDNA + 28S rDNA gen bölgeleri sonuçlarına göre *M. laurentiana*, *M. eohespera* veya *M. purpurascens*; RPB1 gen bölgesine göre *M. purpurascens* veya *Mel-37* ve RPB2 gen bölgesine göre *M. purpurascens*, *M. laurentiana* veya *M. eohespera* olarak görülmektedir. Bu örnek için EF-1 α gen bölgesinden ise kaliteli DNA dizisi elde edilememiştir. HT664 nolu örnek içinde benzer sonuçlar alınmış, tek farklılık örnekte hem RPB1 hem de EF-1 α gen bölgelerinden kaliteli DNA dizilerinin elde edilememesi olmuştur. HT713 nolu örnekte yine benzer şekilde; *M. purpurascens*, *M. laurentiana* veya *M. eohespera*'ya benzerlikler göstermiştir. ITS rDNA + 28S rDNA gen bölgeleri sonuçlarına göre, *M. purpurascens* başta olmak üzere diğer iki türe de, EF-1 α gen bölgesi ise *M. purpurascens*'e benzerlik göstermiştir. RPB1 ve RPB2 gen bölgelerinden kaliteli DNA dizileri elde edilememiştir. HT712 nolu örnekte HT713 ile benzer sonuçlar vermiş, tek farklılık sadece ITS rDNA + 28S rDNA gen bölgelerinden sonuç alınabilmesi olmuştur. HT709 nolu örnekte de yine sadece ITS rDNA + 28S rDNA gen bölgelerinden sonuç alınmış ve benzerlikler *M. eohespera*, *M. purpurascens* ve *M. laurentiana* şeklinde sıralanmıştır. HT558 nolu örnek ITS rDNA + 28S rDNA gen bölgeleri; *M. laurentiana*, *M. eohespera* veya *M. purpurascens* ile benzerlikler gösterirken, EF-1 α gen bölgesi *M. purpurascens*'i

vurgulamıştır. Diğer iki gen bölgesinden kaliteli diziler elde edilememiştir. HT702 nolu örnek için ITS rDNA + 28S rDNA gen bölgesi *M. cf. brunnea*, RPB1 gen bölgesi *M. arbutophila* veya *M. purpurascens* ve RPB2 gen bölgesi ise *M. arbutophila* tahminleri yapmıştır. EF-1 α gen bölgesinden ise kaliteli sonuçlar alınamamıştır. Bu kesin tahmin yapılamayan ve birkaç örneği işaret eden tüm örneklerin eksik gen bölgeleri ile DNA dizi analizleri kısa sürede tamamlanarak, mikroskobik özellikleri de değerlendirilecektir. Tüm bunlardan sonra, hangi türü işaret ettiklerinin anlaşılabilceğini düşünüyoruz. Aşağıda, bu çalışmanın koleksiyonu içerisinde kesin olarak tespit edilen veya tahmin edilen türlere ait ayrıntılı bilgiler yer almaktadır.

Esculenta (Sarı) *Morchella* Grubu

***Morchella steppicola* Zerova (*Mes-1*)**

Bu tür ilk defa Zerova tarafından 1941 yılında tanımlanmıştır (Zerova, 1941). Esculenta grubundaki en erken farklılaşan türdür (Loizides, 2017). Son zamanlarda Yatisuk ve ark (2016) tarafından Ukrayna, Kazakistan ve Özbekistan'dan toplanan *M. steppicola* örnekleri ile ITS gen bölgelerine dayalı moleküler çalışmalar yapılmıştır. Çalışmada ayrıca karşılaştırmalar için, gen bankasından elde edilen Almanya, Sırbistan, Ukrayna, Macaristan ve Slovakya örnekleri de kullanılmıştır. Bu türün dağılımının batıda Almanya'dan Orta Avrasya'ya, doğuda Tacikistan'a kadar olduğu bilinmektedir. Bu tür, düzenli yanma ile yönetilen bozkırlar dâhil olmak üzere çeşitli habitatlardan rapor edilmiş ve yangından bir sonraki baharda bol miktarda varlığı bildirilmiştir (Sukhomlyn ve ark, 2007; Yatisuk ve ark, 2016). Ağaçlara yakın olmamasına rağmen, CWU-D0208 örneği; *Tanacetum vulgare* L., *Cichorium intubus* L., *Eryngium campestre* L., *Ranunculus illyricus* L., *Galatella villosa* (L.) Rchb., *Chamaecytisus* spp., *Cerastium* spp. ve Gramineae tarafından oluşturulmuş seyrek bir zeminin olduğu *Caragana frutex* (L.) K. Koch'a yakın bir yerden toplanılmıştır (Yatisuk ve ark, 2016). Literatürde bildirilen diğer habitatlar arasında; bozkır çayırları, çimenli

alanlar, killi topraklardaki nadas alanları, nehirlerin dik yamaçları, *Artemisia*'nın egemen olduğu bozkırlar, meralar, eski üzüm bağları ve yangına veya diğer insan rahatsızlıklarına maruz kalan çeşitli alanlar tanımlanmıştır (Häffner ve Lukács, 1995, 96; Perić ve Radić, 2013; Yatisuk ve ark, 2016).

Vasilkov (1952, 1955)'a göre, *M. steppicola*, *Artemisia* ile ilişkili Avrupa ve Asya çöl bölgelerinde, ilkbaharın başlarında kısa bir süre görülmektedir. Ukrayna'da *M. steppicola*, Nisan-Mayıs döneminde bozkır bölgelerinde yaygınlaşmıştır (Yatisuk ve ark, 2016). Zerova tarafından ilk defa 1941 yılında kaydedilmesinden (Zerova, 1941) sonra, Ukraynalı araştırmacılar tarafından farklı kayıtlar yayınlanmıştır (Dzhagan ve ark, 2008, 2010; Karpenko, 2004; Prudenko ve Solomakhina, 1998; Smytska, 1988; Sukhomlyn ve ark, 2007; Tkachenko ve ark, 2009; Vodyanitskaya ve Morozova, 2011; Zerova, 1956). Bu tür aynı zamanda, Sırbistan'da (Perić ve Radić, 2013), Slovakya'da (Du ve ark, 2012a), Macaristan'da (Häffner ve Lukács, 1995, 96), Kazakistan'da (Shvartsman, 1958), Türkmenistan'da (Batyrova, 1977), Tacikistan'da (Korbonskaya, 1975) ve Özbekistan'da (Lebedeva, 1937, *M. griseo-gigantea* olarak) da kaydedilmiştir. Loizides (2017)'e göre Almanya'da da bulunmaktadır.

Bu tez çalışmasında ilk defa Türkiye'de *M. steppicola* varlığı, DNA dizi analizlerine dayalı yöntemlerle doğrulanmıştır. Bu tür yakın zamanda Türkiye'de düzenlenen bir uluslararası kongrede, ülkemiz için ikinci kayıt olarak özet metin olarak yayınlanmıştır. Ancak, bu çalışmada sadece morfolojik değerlendirmeler yapılmış, moleküler analizler gerçekleştirilmemiştir (Alkan ve Kaşık, 2018). Türkiye'den toplanan örnekler, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Yüksek Lisans öğrencisi Ogün Demir tarafından Edirne'nin İpsala ilçesi Yapıldak köyünden, 09.04.2017 tarihinde 40°48'29.18"K, 26°27'3.67"D koordinatlarından, 60 m yükseklikten, tarla kenarı-mera arazisinden toplanılmıştır (Şekil 4.5). Bu türün Balkanlar olarak bilinen Doğu Avrupa'da yaygın olarak bulunması, Türkiye'nin de Balkanlara yakın Avrupa kıtası parçasında bulunmasını anlaşılabilir kılmaktadır. Tür, ülkemizde yaygın

değildir. Ancak, bulunan örneklerle ülkemiz *Morchella* çeşitliliğinde moleküler olarak ispatıyla da yerini almıştır. *M. steppicola* tipik morfolojik görüntüsüyle de kolaylıkla ayırt edilebilmesine rağmen, moleküler doğrulama bilimsel çalışmalar ve karşılaştırmalar için gereklidir.



Şekil 4.5. (A, B) Edirne ilinden toplanmış olan *Morchella steppicola*'nın görünümü
Fotoğraf: Ogün Demir (Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Yüksek Lisans öğrencisi)

***Morchella dunensis* (Castañera, J.L. Alonso & G. Moreno) Clowez**

Morchella dunensis, ilk defa *Morchella esculenta* olarak Castañera ve Moreno (1996) tarafından keşfedilmiş, sonrasında Clowez (1997) tarafından farklı bir tür olarak tanımlanmıştır. Richard ve ark (2015) tarafından bu tür *Morchella vulgaris*'e filogenetik yakınlık nedeni ile konspesifik olarak tanımlanmıştır. Loizides ve ark (2016) daha ileri moleküler analizler ve örneklemeler sonucu ise iki tür içerisindeki ilişkilerin yakın olduğunu, ancak filogenetik farklılıklar olduğunu rapor etmişlerdir. Aynı zamanda, *Morchella andalusiae*'nin filogenetik olarak *dunensis* ile sinonim olabileceğini bildirmişlerdir. Bu tür, ilk çok genli filogenetik analizlerde *Mes-17* olarak isimlendirilmiştir. Taşkın ve ark (2010, 2012) tarafından yapılan Türkiye *Morchella* cinsi çeşitliliğinin çoklu gen bölgelerinin DNA dizi analizlerine dayalı yöntemlerle araştırılması çalışmasında,

Mes-17 türüne rastlanmış ve *M. vulgaris* olarak isimlendirilmiştir. Sonrasında Loizides ve ark (2016) tarafından yapılan çalışmada, Türk örneklerinin *M. dunensis* ile daha yakın olduğu tespit edilmiştir. Bu iki tür arasındaki ilişkiler, çok kafa karıştırıcı görünmektedir. Bu çalışma için hazırlanan koleksiyonda da *Mes-17* türüne rastlanmış ve *M. dunensis* olarak değerlendirilmiştir. Taşkın ve ark (2010, 2012) tarafından yapılan çalışmada, bu türe ait 17 örnek toplanmış ve filogenetik olarak değerlendirilmiştir. Örneklerin çoğu Adana ve Antalya illerinden, yani Akdeniz Bölgesi'nden toplanmıştır. Sadece bir örnek Çanakkale ilinden kaydedilmiştir. Yükselti 248 ile 893 m arasında olmuş ve tüm örnekler *Pinus brutia* ormanlarından toplanılmıştır. Richard ve ark (2015) çalışmasında bu türe yakın ağaç türleri; *Fraxinus excelsior*, *Ranunculus ficaria*, *Ammophila arenaria*, *Hedera helix*, *Robinia pseudoacacia*, *Crataegus oxyacantha*, *Sorbus aucuparia*, *Ulmus laevis*, *U. minör*, *Ribes nigrum*, *Abies concolor*, *Acer pseudoplatanus*, *Fraxinus angustifolia*, *Castanea sativa* ve *Populus nigra* olarak sunulmuştur.

Çalışmada incelenen örnek, Çanakkale ilinden toplanılmıştır (Şekil 4.6). Daha önce Taşkın ve ark (2010, 2012) çalışmalarında incelenen örnekler, *P. brutia* ormanlarından kaydedilmiştir



Şekil 4.6. Çanakkale ilinden toplanmış olan *Morchella dunensis*'in görünümü

Elata (Siyah) *Morchella* Grubu

***Morchella eohespera* Beug, Voitek & O'Donnell (Mel-19)**

Voitek ve ark (2016) tarafından tanımlanan bu türün dağılımı, Amerika Birleşik Devletleri (Washington eyaleti-WA), Kanada (New Foundland ve Labrador-NL, New Brunswick eyaleti-NB), İskandinavya, Hollanda, Almanya, İsviçre ve Çin olarak belirtilmiştir. Habitatı ise; nemli, kumlu, kireçli toprak veya kireçli ana kaya, çimenli alanlar, ağaçlardan 1-10 m uzaklıkta olarak bildirilmiştir. Yükseklik deniz seviyesinden (NL) 1100 m'ye (WA) kadar değişmektedir. Yakındaki ağaçlar, *Betula* ve *Malus* türleri (NB, NL), *Picea engelmannii* Parry ex. Engelm. (WA), *P. glauca* (Moench) Voss ve *P. mariana* (Mill.) Britton Sterns & Poggenburg (NL), *P. rubens* Sarg. (NB), *Alnus*, *Amelanchier*, *Corylus*, *Salix* vb.

(NB, NL) birçok çalı türüne ek olarak, tek başına veya daha yaygın olarak iğne yapraklı ormanlar olarak tanımlanmıştır. Sezon ise Mayıs-Haziran (Newfoundland), Haziran (WA), Temmuz (Labrador), Nisan ayında Çin'in Yunnan, Sichuan ve Gansu şehirlerinin orta eyaletlerinde, kuzey Avrupa'da ise Nisan-Haziran aylarında olarak belirtilmiştir (Voitk ve ark, 2016). Lozides (2017) kayıtlı olduğu yerler arasına Fransa'yı da eklemiştir.

***Morchella laurentiana* Voitk, Burzynski, O'Donnell (Mel-36)**

Voitk ve ark (2016) tarafından tanımlanan bu türün dağılımı, her ikisi de St Lawrence Körfezi'ne bakan Newfoundland'ın batı kıyısı ve New Brunswick'in kuzey kıyısı olarak bilinmektedir. Habitatı; çakıllı yol kenarlarında iyi drene olmuş, açık, çimenli yamaçlar ve karışık iğne yapraklı ormanların kenarından 1-10 m uzaklıkta kum tepeleri, kireçtaşı ana kayaları olarak tanımlanmıştır. Yakındaki ağaçlar; *Abies balsamea* (L.) Mill., *Betula cordifolia* Regel, *B. papyrifera* Marshall, *Malus* spp., *Picea glauca* (Moench) Voss, *P. mariana* (Mill.) Britton, Sterns & Poggenburg ve *Thuja occidentalis* L.'e ek olarak *Alnus*, *Amelanchier* ve diğer birçok çalı türü olarak bildirilmiştir. Sezon, batı NL'de Mayıs ayı boyunca olarak rapor edilmiş, güneye bakan yamaçlarda kuzeye bakanlardan daha önce mantar oluşumu gözlemlemiş ve daha büyük karpoforlar görülmüştür (Voitk ve ark, 2016).

***Morchella tridentina* Bres. (Mel-2)**

Bu tür, Kuo ve ark (2012) tarafından, çoklu gen bölgeleri DNA dizi analizlerine göre, *Morchella frustrata* olarak tanımlanmıştır. Sonrasında, Loizides ve ark (2015) tarafından yapılan bir çalışmada, ITS, TEF1 ve RPB2 gen bölgelerinin sekans analizlerine göre, *M. tridentina* ile *M. elatoides*, *M. quercus-ilicis* ve *M. frustrata* sinonim olarak önerilmiştir. Richard ve ark (2015) tarafından yapılan çalışmada da *M. elatoides* ve *M. elatoides* var. *elegans* (Clowez, 2012), *M. frustrata* (Kuo ve ark, 2012) ve *M. tridentina* (Richard ve ark, 2015) sinonim olarak kaydedilmiştir. Loizides ve ark (2016) Arjantin, Ermenistan, Şili, Kıbrıs,

Fransa, Hindistan, İtalya, Kuzey Amerika, İspanya ve Türkiye’de bu türün varlığını bildirmiştir. Taşkın ve ark (2010, 2012) tarafından yapılan Türkiye *Morchella* cinsi çeşitliliğinin çoklu gen bölgelerinin DNA dizi analizlerine dayalı yöntemlerle araştırılması çalışmasında, bu tür Türkiye’de çalışma süresince en fazla rastlanan tür olmuş ve yoğunluklu olarak Akdeniz Bölgesi’nde kaydedilmiştir.

Loizides ve ark (2015) bu türü genellikle Akdeniz’de, 500 m’den fazla yükseklikte, geniş yapraklı, karışık ve iğne yapraklı ormanlık alanlarda, kireçtaşı, nötr veya hafif asitli topraklarda, kalkerli alanlarda, kumlar ve ayrıca orman humusu üzerinde Mart ayının sonuyla Mayıs ayının başları arasındaki ılık dönemlerde tespit etmişlerdir. Aynı zamanda çalışmalarında *Quercus*, *Arbutus*, *Olea*, *Abies*, *Pinus*, *Alnus*, *Pseudotsuga*, *Corylus*, *Fraxinus*, *Castanea* vb. yakınlarında rapor edildiğini de eklemiştir. Kuo ve ark (2012) tarafından ise farklı yükseltilerde; *Arbutus menziesii* Pursh, *Quercus* spp., *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco, *Pinus ponderosa* Laws., *Pinus lambertiana* Dougl. ve *Abies concolor* (Gord. & Glend.) Lindl. gibi farklı türlerin dominant olduğu karışık ormanlarda Nisan ayında ABD’de Kaliforniya ve Oregon’da tespit edilmiştir. Türkiye’de ise farklı lokalitelerde, 241-1484 m yükseltilerde, *Pinus brutia*, *Pinus nigra*, *Quercus* spp., *Cedrus* spp., *Abies* spp., *Castanea sativa* ve *Juniperus* spp. ormanlarında tespit edilmiştir (Taşkın ve ark, 2010, 2012).

Bu çalışmada bu tür içerisinde incelenen örnekler ise Çanakkale ilinden ve Isparta ilinden *Juniperus* spp. ve *Abies* spp. ormanlarından 386-1694 m yükseltilerden toplanılmıştır (Şekil 4.7).

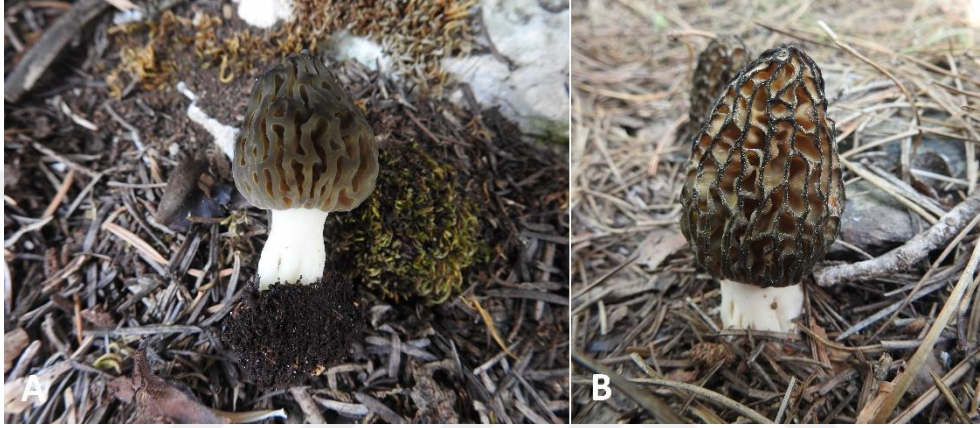


Şekil 4.7. Isparta ilinden toplanmış olan *Morchella tridentina*'nın görünümü

***Morchella mediterraneensis* Taşkın, Büyükalaca & H.H. Doğan (Mel-27)**

Bu tür, Taşkın ve ark (2016) tarafından çoklu gen bölgeleri DNA dizi analizlerine dayanarak yeni bir tür olarak tanımlanmıştır. Taşkın ve ark (2010, 2012) tarafından yapılan Türkiye *Morchella* cinsi çeşitliliğinin çoklu gen bölgelerinin DNA dizi analizlerine dayalı yöntemlerle araştırılması çalışmasında, bu tür Türkiye’de çalışma süresince *M. tridentina*’dan sonra en fazla rastlanan tür olmuştur. Türkiye’de bu tür, 1335-1685 m yükseltiler arasında, *Pinus brutia*, *Pinus nigra*, *Juniperus* spp., *Abies* spp., *Cedrus* spp., *Populus* spp., *Quercus* spp. karışık ormanlarında, çoğunlukla Akdeniz Bölgesi’nde tespit edilmiştir. Loizides (2017) bu türün İspanya’daki varlığını da rapor etmiştir. Kıbrıs ve Yunanistan’da da varlığı bilinmektedir.

Bu çalışmada incelenen koleksiyonda bu türe giren örnekler; Isparta ve Adana illerinden 1734-1719 m yükseltilerde *Juniperus* spp. ve *Abies* spp. ormanlarından toplanılmıştır (Şekil 4.8). Yani yine Akdeniz Bölgesi koleksiyonları, bu tür içerisine yerleşmiştir.



Şekil 4.8. (A) Isparta (B) Adana illerinden toplanmış olan *Morchella mediterraneensis*'in görünümü

***Morchella importuna* M. Kuo, O'Donnell & T.J. Volk (Mel-10)**

Bu tür, Kuo ve ark (2012) tarafından yapılan çalışmada isimlendirilmiştir. Kuo ve ark (2012), Kuzeybatı Pasifik ve Kuzey Kaliforniya'daki bahçelerde, yetiştiricilerde, ağaç yonga yataklarında ve kentsel peyzaj düzenlemelerinde, Mart-Mayıs aylarında kaydedildiğini bildirmişlerdir. Bu tür; *Morchella elata* Fr., *Morchella vaporaria* Bartayrès ex Brond. ve *Morchella hortensis* ile sinonim olarak düşünülmektedir (Richard ve ark, 2015). Loizides ve ark (2016)'na göre *M. importuna*; Kanada, Çin, Kıbrıs, Finlandiya, Fransa, Almanya, Kuzey Amerika, İspanya, İsviçre ve Türkiye'de kaydedilmiştir. Kıbrıs'da *Malus domestica* bahçesinden toplanılmıştır (Loizides ve ark, 2016). Richard ve ark (2015)'nın çalışmalarında; *Pyrus* ve *Malus* altında ve *Cydonia oblonga* altında kayıtlar rapor edilmiştir. Taşkın ve ark (2010, 2012) tarafından yapılan Türkiye *Morchella* cinsi çeşitliliğinin çoklu gen bölgelerinin DNA dizi analizlerine dayalı yöntemlerle

araştırılması çalışmasında, bu tür Türkiye’de çalışma süresince en fazla rastlanılan beşinci tür olmuş (*M. tridentina*, *M. mediterraneensis*, *M. dunalii* ve *M. purpurascens*’den sonra) hem yanmış hem de yanmamış alanlarda, 180-1449 m yükseltiler arasında; *Pinus brutia*, *Pinus nigra*, *Pinus sylvestris*, *Quercus* spp., *Populus* spp., *Abies* spp. karışık ormanlarından toplanılmıştır. Diğer çalışmalarda olduğu gibi Türkiye’de de meyve bahçelerinde (*Malus communis* ve *Citrus* spp. gibi) sıkça rastlanılmaktadır. Bu türün saprofit olduğu düşünülmektedir (Richard ve ark, 2015).

Bu çalışmada incelenen koleksiyon içerisindeki bu türe giren örnekler, daha önce Taşkın ve ark (2010, 2012) çalışmalarında da olduğu gibi hem yanık hem de yanık olmayan alanlardan toplanılmıştır. Yanık olmayan sahadan kaydedilen örnekler, Adana ilinin Feke ilçesinden, 625-741 m yükseltilerden *Pinus brutia* ve *Arbutus* spp. ormanlarından toplanılmıştır. Yanık sahadan elde edilen örnekler ise Adana, Edirne (48-93 m yükseltilerden) ve Balıkesir (195-208 m yükseltilerden, yangın öncesi *P. brutia* varlığı bilinmektedir) illerinden kaydedilmiştir (Şekil 4.9). Ayrıca bir örnekte, Balıkesir’de bir evin bahçesinden toplanılmıştır. Yukarıda sunulan bilgilerden, ev bahçelerinde ve meyve bahçelerinde sıkça karşılaşılan bir tür olduğu açıkça görülmektedir.



Şekil 4.9. (A, C) Edirne-yanmış alan (B) Adana-yangın görmemiş alan (D) Balıkesir yanmış alandan toplanan *Morchella importuna*'nın görünümü

***Morchella purpurascens* (Krombh. ex Boud.) Jacquet. (Mel-20)**

Bu tür ilk defa filogenetik olarak *Mel-20* adı ile Taşkın ve ark (2010) tarafından tanımlanmıştır. Richard ve ark (2015) tarafından Avrupa'da yapılan kapsamlı bir çalışmada, Fransa'da Pinaceae ormanlarında rapor edilmiştir. Taşkın ve ark (2010, 2012) tarafından yapılan Türkiye *Morchella* cinsi çeşitliliğinin çoklu gen bölgelerinin DNA dizi analizlerine dayalı yöntemlerle araştırılması çalışmasında, bu tür Türkiye'de çalışma süresince en fazla rastlanılan dördüncü tür olmuş (*M. tridentina*, *M. mediterraneensis* ve *M. dunalii*'den sonra), 474-1963 m yükseltiler arasında; *Pinus brutia*, *Pinus nigra*, *Quercus* spp., *Cedrus* spp., *Abies* spp. ve *Juniperus* spp. karışık ormanlarından toplanılmıştır. Loizides (2017) ise bu

türün varlığını Çin, Danimarka, Fransa, Norveç, İsveç ve Türkiye olarak rapor etmiştir.

***Morchella dunalii* Boud. (Mel-25)**

Bu tür, Boudier (1887) tarafından, Montpellier-Fransa'da, bir Akdeniz koleksiyonunun su boyamaya dayalı teknikle tanımlanan ilk *Morchella* türü olmuş ve Moreau ve ark (2011) tarafından yayınlanmıştır. Richard ve ark (2015) tarafından, Fransa ve İspanya'da bu türün tipik olarak kireçli topraklarda *Quercus ilex* altında kaydedildiği, ancak Taşkın ve ark (2012) çalışmalarında *Mel-25* olarak *Pinus* spp. ormanlarından toplandığı bildirilmiştir. Loizides ve ark (2016) bu türü Kıbrıs'da *Pinus brutia*, *Cistus parviflorus*, *C. salvifolius*, *C. creticus*, *Quercus coccifera* spp. *calliprinos*, *Arbutus andrachne*, *Mirtus communis* ve *Olea europaea* ormanlarında kaydetmişlerdir. Loizides ve ark (2016) tarafından genellikle Şubat ayının sonundan Nisan ayının başlarına kadar çıkan ilk kuzugöbeklerinden olarak, genellikle 200-1000 m arasında değişen yükseltilerde; nemli, yosunlu, *Pinus brutia* ormanlarında, bazen de herdem yeşil *Quercus* standlarında veya *Cistus* alanlarında, kireçli topraklarda rapor edilmiştir. Moreau ve ark (2011) tarafından, bu yaygın ve sık rastlanılan Akdeniz türünün, yüksek oranda ekolojik ve morfolojik nedenli değişimler göstermesi nedeni ile sıklıkla *M. conica*, *M. delicosa* ve *M. purpurascens* olarak yanlış adlandırıldığı kaydedilmiştir (Loizides ve ark, 2016). Taşkın ve ark (2010, 2012) tarafından yapılan Türkiye *Morchella* cinsi çeşitliliğinin çoklu gen bölgelerinin DNA dizi analizlerine dayalı yöntemlerle araştırılması çalışmasında, bu tür Türkiye'de çalışma süresince en fazla rastlanılan üçüncü tür olmuş (*M. tridentina* ve *M. mediterraneensis*'den sonra), 18-1048 m yükseltiler arasında; *Pinus brutia*, *Pinus nigra*, *Pinus sylvestris* ve *Quercus* spp. karışık ormanlarından toplanılmıştır. Loizides (2017) bu türün kayıtlı olduğu ülkeleri Kıbrıs, Fransa, İspanya ve Türkiye olarak bildirmiştir.

Bu çalışmada süresince incelenen koleksiyonda bu türe giren örnekler, Çanakkale ilinde ve Balıkesir ilinde 407 m yükseltide *P. brutia* ve *Cistus* spp. ormanından kaydedilmiştir (Şekil 4.10).

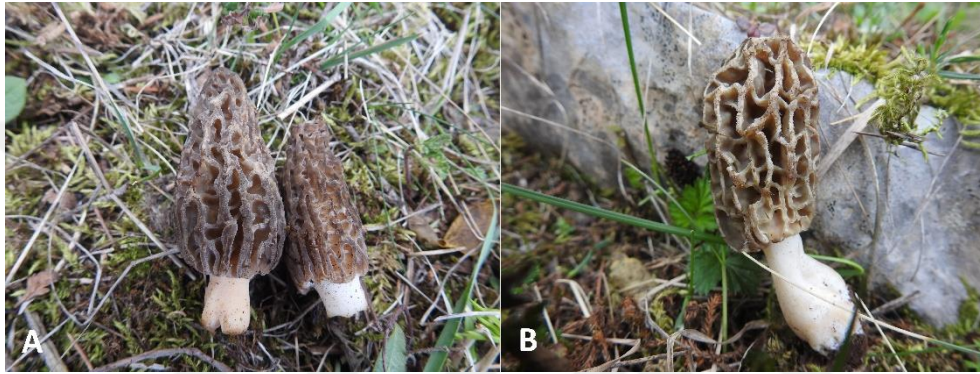


Şekil 4.10. (A, B) Çanakkale ilinden toplanmış olan *Morchella dunalii*'nin görünümü

***Morchella deliciosa* Fr. (Mel-26)**

Taşkın ve ark (2010, 2012) tarafından yapılan Türkiye *Morchella* cinsi çeşitliliğinin çoklu gen bölgelerinin DNA dizi analizlerine dayalı yöntemlerle araştırılması çalışmasında, bu tür filogenetik adı *Mel-26* olarak, 819-1593 m yükselti aralığında; *Pinus brutia*, *Pinus nigra* ve *Pinus sylvestris* ormanlarından toplanılmıştır. Çalışma süresince, 500'e yakın örnek içeren koleksiyondan sadece 9 adet örnek *M. deliciosa* olarak tanımlanmıştır. Richard ve ark (2015) tarafından yapılan çalışmada, ITS gen bölgesi DNA dizi analizleri ile *M. deliciosa*, *Mel-13*'den ayırt edilememiştir. Ancak, çok genli filogenetik analizlerle ayırım yapılabilmektedir. Araştırmacılar, *Mel-26*'ya ait DNA dizilerinin, sadece Türkiye'den yayımlandığını ve yaptıkları çalışma ile Fransa'dan elde edilen DNA dizilerinin de eklendiğini bildirmişlerdir. Richard ve ark (2015)'nin çalışmalarında bu tür, *Buxus sempervirens*'e yakın *Picea abies* altında, yaşlı *P. abies* altında, *Larix decidua* altında ve *Fraxinus excelsior* altında kaydedilmiştir. Loizides (2017) bu türün kayıtlı olduğu ülkeleri Fransa, İsveç ve Türkiye olarak belirtmiştir.

Bu çalışmada, bu türe giren örneklerin tamamı hem 2017 hem de 2018 yılında toplama yapılan Isparta ilinin 1629-1734 m yükseltileri arasında, *Juniperus* spp. ve *Abies* spp. ormanlarından kaydedilmiştir (Şekil 4.11). Daha önce Türkiye’de Taşkın ve ark (2010, 2012) çalışmalarında, daha çok *Pinus* spp. ormanlarında bu türün varlığı kaydedilmiştir.



Şekil 4.11. (A, B) Isparta ilinden toplanmış olan *Morchella deliciosa*’nın görünümü

***Morchella pulchella* Clowez & Franç (Mel-31)**

Taşkın ve ark (2010, 2012) tarafından yapılan Türkiye *Morchella* cinsi çeşitliliğinin çoklu gen bölgelerinin DNA dizi analizlerine dayalı yöntemlerle araştırılması çalışmasında, bu tür filogenetik adı *Mel-31* olarak, 563-1706 m yükseltiler arasında; *Pinus brutia*, *P. nigra*, *Cedrus* spp., *Juniperus* spp., *Abies* spp., *Quercus* spp. ve *Populus* spp. ormanlarından toplanılmıştır. Çalışma süresince, 500’e yakın örnek içeren koleksiyondan sadece 14 adet örnek *M. pulchella* olarak tanımlanmıştır. Richard ve ark (2015) tarafından yapılan çalışmada bu tür, *Buddleja davidii* altında kaydedilmiş ve daha önce sadece Türkiye (Taşkın ve ark, 2010, 2012) ve Çin’de (Du ve ark, 2012a) bilinen bu türün dağılımına Fransa’da eklenmiştir. Loizides (2017) bu türün kayıtlı olduğu ülkeleri Çin, Fransa ve Türkiye olarak bildirmiştir.

Bu çalışma süresince, bu türe içerisine yerleşen örnekler Osmaniye (toplayıcıdan alınmıştır, koordinat ve ekoloji bilinmiyor), Erzincan ve Erzurum illerinde *Pinus sylvestris* ve *Populus tremula* ormanlarında, 2146 m yükseltilerde kaydedilmiştir (Şekil 4.12). Taşkın ve ark (2010, 2012) tarafından yapılan çalışmada da, Türkiye örnekleri farklı çam türleri ve kavak ormanlarında rapor edilmiştir.



Şekil 4.12. (A, B) Erzincan ilinden toplanmış olan *Morchella pulchella*'nın görünümü

***Morchella eximia* Boud. (Mel-7)**

Taşkın ve ark (2010, 2012) tarafından yapılan Türkiye *Morchella* cinsi çeşitliliğinin çoklu gen bölgelerinin DNA dizi analizlerine dayalı yöntemlerle araştırılması çalışmasında, bu tür filogenetik adı *Mel-7* olarak, 180-761 m yükseltiler arasında, sadece yanmış alanlardan toplanılmıştır. Çalışma süresince, 500'e yakın örnek içeren koleksiyondan sadece 28 adet örnek *M. pulchella* olarak

tanımlanmıştır. Richard ve ark (2015) tarafından yapılan çalışmada da bu tür, yangın sonrası mantarı (post-fire) olarak tanımlanmış ve yanmış *Pinus nigra* subsp. *laricio*, *Pinus pinaster*, *Arbutus unedo*, *Eucalyptus diversicolor*, *Pinaceae* ve *Thuja plicata* ormanlarından kaydedilmiştir. Türkiye’de ise yanmış *Pinus brutia*, *Pinus nigra* ve *Quercus* spp. ormanlarından toplanılmıştır. Bu tür; Arjantin, Avustralya, Kanada, Çin, Kıbrıs, Fransa, Kuzey Amerika, İspanya ve Türkiye’de kaydedilmiştir (Loizides ve ark, 2016; Loizides, 2017). Yine Kıbrıs’da 2 yıl önce yanmış *P. brutia* ormanlarında rapor edilmiştir (Loizides ve ark, 2016).

Bu çalışmada bu türe giren örnekler Taşkın ve ark. (2010, 2012) çalışmaları ve tüm dünya ile uyumlu olarak sadece yanık alanlarda, Edirne ilinde 48-90 m yükselti arasında ve Kars ilinde kaydedilmiştir (Şekil 4.13).



Şekil 4.13. (A, B) Edirne ilinden yanık sahadan toplanmış olan *Morchella eximia*’nın görünümü

Araştırmada tespit edilmiş olan türlerin, günümüze kadar farklı çalışmalarla belirlenmiş ekolojik verileri ve dağılımları, Loizides (2017) tarafından özetlenmiştir. Çizelge 4.7’de Loizides (2017)’in çalışması esas alınarak bu veriler sunulmuştur.

Çizelge 4.7. Çalışma esnasında tespit edilen türlerin günümüze kadar elde edilmiş ekolojik ve dağılım bilgileri (Kaynak: Loizides, 2017)

Türler	Ekoloji	Dağılım
<i>M. deliciosa</i>	Kozalaklılar, çoğunlukla <i>Larix</i> , <i>Picea</i> ve <i>Pinus</i>	Fransa, İsveç, Türkiye
<i>M. dunalii</i>	<i>Pinus brutia</i> ve herdem yeşil <i>Quercus</i> spp., çok nadir <i>Cistus</i>	Kıbrıs, Fransa, İspanya, Türkiye
<i>M. dunensis</i>	Muhtemelen saprofit, aynı zamanda fakültatif biotrophic veya iç simbiyotik (endophytic), <i>Malus</i> altında ve kum tepelerinde	Kıbrıs, İspanya, Türkiye
<i>M. eohespera</i>	Karışık ormanlarda	Fransa, Kanada, Çin, Almanya, İsveç, İsviçre, ABD
<i>M. eximia</i>	Kesinlikle yangın sonrası, 1-2 yaşındaki yanmış kozalaklı ormanlarda	Arjantin, Avustralya, Kanada, Çin, Kıbrıs, Fransa, İspanya, Türkiye, ABD
<i>M. importuna</i>	Seçici yangın sonrası, 1-2 yaşındaki yanmış kozalaklı ormanlarda, odunluk alanlarda, <i>Malus</i> altında	Almanya, İspanya, İsviçre, Türkiye, ABD
<i>M. laurentiana</i>	<i>Abies</i> , <i>Betula</i> , <i>Malus</i> , <i>Picea</i> , <i>Thuja</i> , <i>Alnus</i> , <i>Amelanchier</i>	Kanada
<i>M. mediterraneensis</i>	Daha çok kozalaklı ormanlarda	İspanya, Türkiye
<i>M. pulchella</i>	Belirsiz, hem geniş yapraklılar hem de kozalaklılar	Çin, Fransa, Türkiye
<i>M. purpurascens</i>	<i>Pinus</i> ve diğer kozalaklılar	Çin, Danimarka, Fransa, Norveç, İsveç, Türkiye
<i>M. steppicola</i>	Muhtemelen biotrophic veya iç simbiyotik (endophytic), stepik çayırarda veya kuru çimlik alanlarda	Almanya, Macaristan, Sırbistan, Slovakya, Ukrayna, Özbekistan
<i>M. tridentina</i>	Büyük olasılıkla biotrophic veya iç simbiyotik (endophytic), <i>Abies</i> , <i>Arbutus</i> , <i>Castanea</i> , <i>Corylus</i> , <i>Fraxinus</i> , <i>Olea</i> , <i>Pinus</i> , <i>Pseudotsuga</i> , <i>Quercus</i> vb.	Arjantin, Ermenistan, Şili, Kıbrıs, Fransa, Hindistan, İtalya, İspanya, Türkiye, ABD

Abies: Köknar, *Alnus*: Kızılağaç, *Arbutus*: Kocayemiş, *Castanea*: Kestane, *Cistus*: Laden, *Corylus*: Fındık, *Fraxinus*: Dişbudak, *Larix*: Melez, *Malus*: Elma, *Olea*: Zeytin, *Picea*: Ladin, *Pinus*: Çam, *Pseudotsuga*: Douglas köknarı, *Quercus*: Meşe, *Thuja*: Mazi

Çalışmada tespit edilen türlerin karşılaştırma amaçlı görüntüleri, aynı zeminde Şekil 4.14’de sunulmuştur.



Şekil 4.14. Çalışmada tespit edilen türlerin bir arada görünümü (A) *Morchella steppicola* (B) *M. dunensis* (C) *M. tridentina* (D) *M. mediterraneensis* (E) *M. importuna* (F) *M. dunalii* (G) *M. deliciosa* (H) *M. pulchella* (I) *M. eximia*



5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmanın amacı, DNA dizi analizlerine dayalı yöntemlerle Türkiye *Morchella* cinsi çeşitliliğine katkılar sunulmasıdır. Türkiye’de *Morchella* cinsinin moleküler yöntemlerle doğrulanarak tespiti çalışmalarında günümüze kadar 21 adet tür belirlenmiştir (Taşkın ve ark, 2010, 2012; Işıloğlu ve ark, 2010). Ancak ülkemiz kuzugöbeği çeşitliliğinin daha fazla olduğunu tahmin etmek, elde edilen sonuçların ışığında zor olmamaktadır. Bu nedenle sunulan bu çalışmada, Türkiye’nin farklı lokalitelerinden yeni oluşturulmuş koleksiyonla, Türkiye çeşitliliğine katkı sağlanmaya çalışılmıştır. Çalışma ile elde edilmiş sonuçlar aşağıda özetlenmiştir:

- Koleksiyon içerisinde tespit edilen *M. tridentina*, *M. importuna*, *M. mediterraneensis*, *M. eximia*, *M. dunensis*, *M. dunalii*, *M. deliciosa* ve *M. pulchella* türleri moleküler yöntemlerin kullanımı ile yüksek desteklerle ve gen bankasında yüksek eşleşmeyle tespit edilmiştir. Bu türler, daha önce Taşkın ve ark (2010, 2012) çalışmalarında da tespit edilen türler olmuşlardır. Yeni koleksiyonların moleküler kanıtlı bir şekilde eklenmesiyle, incelenen örnek sayısı artırılmıştır. *M. mediterraneensis*, zaten Taşkın ve ark (2016) tarafından isimlendirilmiş bir tür olup, yoğun olarak Akdeniz ülkelerinde tespit edildiği için, “mediterraneensis” adı verilmiştir. *M. tridentina* ve *M. frustrata* türleri sinonim türler olup (Kuo ve ark, 2012; Richard ve ark, 2015), olgun halinde moleküler destek olmadan da tespit edilebilen nadir türlerdendir. Elata (siyah) *Morchella* grubunda yer alan bu tür, diğer siyah grup türlerinin tersine koyulaşmış sırta sahip olmayan tek tür olarak gözlemlenmiştir (Loizides ve ark, 2015, 2016; Loizides 2017). Türün diğer sinonim isimleri Loizides (2017) tarafından *M. quercus-ilicis*, *M. frustrata*, *M. elatoides*, *M. elatoides* var. *elegans*, *M. conica* var. *pseudoeximia* olarak belirtilmiştir. Tür aynı zamanda Loizides (2017) tarafından, büyük olasılıkla biotropik veya iç simbiyotik (endophytic) olarak tanımlanmıştır. Daha önce Taşkın ve ark (2010, 2012) çalışmalarında *M. tridentina*, Türkiye’de en fazla rastlanan kuzugöbeği türü olmuştur. *M. importuna*’da ülkemizde daha önce yoğun tespit

edilen türlerden birisi olmuştur. Bu türün en ilginç özellikleri tüm dünyada ev bahçeleri, yol kenarları, meyve bahçeleri gibi ormanlık alanlar dışında en fazla rastlanan tür olması ve aynı zamanda hem yangın görmüş hem de görmemiş alanlarda görülmesidir. Ülkemiz koleksiyonunda da hem yangın görmüş hem de görmemiş alanlardaki örnekler bu grupta yer almış ve ev bahçeleri ve peyzaj alanlarından toplanan türlerde, yine bu gruba yerleşmiştir. Loizides (2017) tarafından bu türün sinonimleri; *M. elata*, *M. hortensis*, *M. pragensis* ve *M. vaporaria* olarak rapor edilmiş, görüldüğü habitat ise, fakültatif, yakılmış zeminde gelişebilen (pyrophilic), 1-2 yaşındaki yanmış ormanlarda, zarar görmüş alanlarda, odunluk alanlarda, aynı zamanda *Malus* altında olarak tanımlanmıştır. Son zamanlardaki moleküler veriler eşliğinde, *M. elata* olarak bilinen türün bu tür olduğuna dair önemli kanıtlar sunulmuştur (Richard ve ark, 2015; Loizides ve ark, 2016; Loizides, 2017). *M. mediterraneensis* Türkiye’de ilk tanınması yapılmış (Taşkın ve ark, 2016) bir tür olup, yoğun olarak Akdeniz ülkelerinde kaydedilmiştir. Loizides (2017) tarafından bu türün Türkiye ve İspanya’dan kaydı bildirilmiş ve habitatı çoğunlukla kozalaklı ağaçlı ormanlar olarak tanımlanmıştır. Son zamanlarda bu türün Kıbrıs ve Yunanistan gibi diğer Akdeniz ülkelerinde de varlığı bilinmektedir. *M. eximia* İngilizce “post-fire” olarak adlandırılan yangın sonrası mantarı olarak da bilinmektedir. Loizides (2017) tarafından sinonimleri *M. anthracophila*, *M. carbonaria* ve *M. septimelata*; habitatı ise kesinlikle zorunlu olarak yakılmış zeminde gelişebilen (pyrophilic), 1-2 yaşındaki yanmış kozalaklı ormanlar olarak tanımlanmıştır. Kuzugöbeği mantarı türlerinde yangın sonrası çıkışın mekanizması tam olarak çözülmemiş olmakla birlikte, bazı tahminler bulunmaktadır. Bu tahminlerden bazıları, yangın sonrası steril alanların elde edilmesi ve ölmek üzere olan ağaçlarla bağlantıdır (Greene ve ark, 2010; Loizides, 2017). Bu durum Elata (siyah) *Morchella* grubunda görülürken, Esculenta (sarı) grupta görülmemektedir. Loizides (2017), Du ve ark (2012b) ve Loizides ve ark (2016) çalışmalarına atfen, siyah grupta görülen yangın sonrası çıkışın, orman yangınları gibi rahatsızlık fenomeni ile başa çıkmak için, sıcak ve kuru bölgelerde

siyah kuzugöbeklerinin adaptasyonları kaynaklı olabileceğini bildirmiştir. Türkiye’de de bu türe giren tüm örnekler yangın görmüş alanlardan toplanılmıştır (Taşkın ve ark, 2010, 2012; bu çalışma). *M. dunensis*, Taşkın ve ark (2010, 2012) çalışmalarında filogenetik adı ile *Mes-17* olarak kaydedilmiş ve sonrasında *Mes-17* *M. vulgaris* olarak adlandırılmıştır. Ancak daha sonra yapılan çalışmalarda, Türkiye’deki örneklerin *M. dunensis* olduğu bildirilmiştir (Loizides, 2017). Loizides (2017) bu türün sinonimlerini *M. esculenta* f. *dunensis*, *M. esculenta* f. *sterilis* ve *M. andalusiae*; habitatını ise muhtemelen saprofit, aynı zamanda fakültatif biyotrofik veya iç simbiyotik (endophytic), *Malus* altında ve kum tepeleri olarak rapor etmiştir. Kıbrıs, Türkiye ve İspanya’da kaydedilen *M. dunalii* bir Akdeniz türü gibi görünmektedir. Türkiye’de de yaygın rastlanan bir tür olmuştur (Taşkın ve ark, 2010, 2012). *M. deliciosa*’nın sinonim türleri Loizides (2017) tarafından *M. deliciosa* var. *elegans*, *M. deliciosa* var. *incarnata*, *M. conica* var. *flexuosa*, *M. conica* var. *nigra*, *M. conica* var. *violeipes* ve *Morilla deliciosa*; habitatı ise kozalaklılarla ilişkili, çoğunlukla *Larix*, *Picea* ve *Pinus* olarak tanımlanmıştır. *M. pulchella*’nın habitatı Loizides (2017) tarafından hem geniş yapraklılar hem de kozalaklı ağaçlar olarak rapor edilmiş; Çin, Fransa ve Türkiye’den kaydı bildirilmiştir. Bu türlerin tamamı zaten Türkiye’de bilinmekle birlikte, DNA dizi analizleri içeren ek koleksiyonlar sağlanmış ve ileride yapılacak çalışmalar için saklanmaktadır. Aynı zamanda, bu çalışma ile bu türlerin Türkiye’nin farklı bölge ve illerindeki kayıt sayısı da artırılarak ülkemiz envanter kaydı çalışmalarına katkı sağlanmıştır. Ayrıca daha önce ülkemiz kayıtlarına *M. vulgaris* olarak geçirilen *Mes-17* türünün aslında *M. dunensis* olduğu bu çalışma ile vurgulanmıştır.

- *M. steppicola* türüne dair ülkemizde daha önce kayıt olmasına rağmen (Alkan ve Kaşık, 2018), bu tür Türkiye’de ilk defa bu çalışma ile moleküler olarak doğrulanmıştır. Her ne kadar bu tür morfolojik olarak çok farklı olması nedeni ile moleküler veri olmadan da tanımlanabilmesine rağmen, dünya bilimi açısından moleküler doğrulama önem taşımaktadır. Bu doğrulama ile ülkemizdeki moleküler

olarak doğrulanmış tür sayısı 21'den 22'ye yükselmiştir. Esculenta (sarı) *Morchella* üyesi olan bu tür, bu grup içerisinde en erken farklılaşan tür olmuştur (Loizides, 2017). Habitatı Loizides (2017) tarafından muhtemelen biotropik veya iç simbiyotik (endophytic), stepik çayırlar veya kuru çimlik alanlar olarak tanımlanmıştır.

- Bu çalışmada elde edilen bulgularla, bazı türlerin tanımlamaları tam olarak yapılamamıştır. Bazı koleksiyon örnekleri; *M. purpurascens*, *M. laurantiana* ve *M. eoshespera* türleri için genbankasında benzer yüksek eşleşme göstermişlerdir. Bu üç tür, flogenetik olarak birbirlerine kardeş türler olmuşlardır (Voitk ve ark, 2016). Morfolojik olarak da benzerlik gösteren bu 3 tür için, koleksiyonumuzdaki türlerin hangisine ve hangilerine ait olduklarını tespit edebilmemiz için ayrıntılı mikroskobik tanımlamaların yapılması ve sonuç alınamayan bazı gen bölgelerinden de sonuçlar alınarak, bu türlerin çok genli değerlendirilmeleri gerekmektedir. Bu çalışma süresince, ITS rDNA ve 28S rDNA gen bölgelerinde incelenen tüm örneklerden kaliteli DNA dizileri elde edilmiş, ancak diğer gen bölgelerinde örneklerin bir kısmından başarılı sonuçlar alınabilirken, bir kısmından beklenen sonuçlar alınamamıştır. Bu durumun nedenleri araştırılmakta, farklı primer ve PCR koşullarında denemeler devam ettirilmektedir. Sunulan bu tezin yayın aşamasında, sonuç alınamayan DNA dizilerinin de eklenmesi ve aynı zamanda mikroskobik tanımlamalarında yapılması yoluyla, sonuçların daha net bir şekilde ortaya konulması planlanmaktadır. *M. purpurascens* ülkemizde daha önce de moleküler analizlerle tanımlanmış bir türdür (Taşkın ve ark, 2010, 2012). Ancak, *M. laurantiana* ve *M. eoshespera* türleri ülkemizde henüz tanımlanmamıştır. Bahsi geçen örneklerin bu türler olması durumunda, ülkemiz *Morchella* çeşitliğine sağlanan katkılar artırılmış olacaktır.

Loizides ve ark (2016) tarafından Akdeniz'deki *Morchella* cinsi tür çeşitliliğine değinilmiş, Taşkın ve ark (2010, 2012) tarafından Türkiye'den kaydedilen çeşitliliğin yoğun örnekleme sonucu olduğunu ve karşılaştırılabilir çeşitliliğin Akdeniz havzasında bulunmasının beklendiğini, bitkiler ve diğer

organizmalar için de kanıtlanmış olan Akdeniz bölgesindeki bu çeşitlilik ve endemizm, büyük ölçüde, dramatik düşüşlerin yaşandığı Pleistosen yani buzul dönemindeki, buzullarından göçlerin sonucu olabileceğini bildirmişlerdir. Loizides ve ark (2016) çalışmalarında, aynı zamanda Akdeniz’de yer alan Kıbrıs’da 11 adet olmak üzere önemli bir kuzugöbeği çeşitliliği yakalanmış ve bu çeşitliliğin 2 tanesi yeni tür olarak adlandırılmıştır. Yine Loizides ve ark (2016) tarafından, ılıman kuzey ve kıta bölgelerinde sarı kuzugöbeklerinin, güney ve Akdeniz bölgelerinde ise siyah kuzugöbeklerinin dominantlığının kaydedildiğini bildirmiş ve Kıbrıs’da yaptıkları çalışma ile Taşkın ve ark (2010, 2012) tarafından yapılan çalışmaların da bu durumu açıkça ortaya koyduklarını kaydetmiştir. Taşkın ve ark (2010, 2012) çalışmalarında, Türkiye’de tespit edilen 20 filogenetik türden sadece 5 adedi sarı kuzugöbeği grubunda yer almıştır. Bu çalışma ile Esculenta (sarı) grubuna 1 adet tür daha eklenmiş (*M. steppicola*) ve moleküler olarak doğrulanmış sarı grup üyesi sayısı altıya yükseltilmiştir. Loizides bu durumu, ekolojik tercih ve bitki ilişkilerine dayalı olarak Elata (siyah) grup üyelerinin daha çok iğne yapraklı, kozalaklı ağaç türleri ile Esculenta (siyah) kuzugöbeği türlerinin ise daha çok yaprak döken ağaçlarla ilişkileri ile açıklamıştır. Hakikaten de Türkiye’de *Morchella* mantarı daha çok *Pinus* spp. ormanlarında kaydedilmektedir.

Çalışma sonucu vurgulanmak istenen öneriler şu şekilde sıralanabilir:

- Çalışmada kaliteli DNA dizisi elde edilememiş bazı gen bölgelerinin tamamlanarak, çok genli daha güvenilir tanılamaya gidilmesi. Bu tez çalışmasındaki koleksiyona ait eksik DNA dizileri tamamlanmaya çalışılmaktadır.
- Mikroskobik tanılama yöntemleri ile de en azından moleküler olarak doğrulanmasında zorluklar çekilen türlerin tanınması yapılmalıdır. Tez çalışmasından elde edilen bilgilerle bu türlerdeki mikroskobik tanılamalar yapılarak, tez çalışmasından üretilen yayına eksik moleküler verilerle birlikte eklenecektir.

- Türkiye *Morchella* cinsi çeşitliliğinin moleküler yöntemlerle tanımlanmasına çalışmalarına devam ettirilmelidir. Daha önce Taşkın ve ark (2010, 2012) çalışmalarından ve bu araştırmadan elde edilen sonuçlar, Türkiye'nin bu cins açısından büyük bir çeşitlilik barındırdığını göstermektedir. Bu nedenle çalışmaların devam ettirilmesi gerekmektedir. Bu çalışmalar devam ettirilirken, maliyetli olan moleküler çalışmaların daha tasarruflu hale getirilmesi için günümüze kadar belirli bir noktaya getirilmiş morfolojik ve moleküler tanımlama yöntemlerine ilişkin uygun bir Türkçe deskripsiyon oluşturularak, bazı belirgin ve Türkiye'den kaydedilmiş, yani yeni tür veya yeni kayıt ihtimali olmayan türlerin moleküler analizleri göz ardı edilebilmelidir. Bu tür bir deskripsiyon hazırlanması çalışmalarına başlanılmış ve kısa sürede tamamlanması beklenmektedir. Bu yolla hem bazı moleküler analizlerin yapılmasına gerek kalmayacak, hem de halkımızdan bu konuda merakı olan kişiler kendi bilgileri ve merakları için kısmen tür tahminleri yapabileceklerdir.

KAYNAKLAR

- Acar, İ., and Uzun, Y., 2017. An Interesting Half-Free Morel Record for Turkish Mycobiota (*Morchella populiphila* M. Kuo, M.C. Carter & J.D. Moore). Mantar Dergisi, 8(2):125-128.
- Alkan, S., ve Kaşık, G., 2018. Nadir bulunan *Morchella steppicola* Zerova türü için Türkiye’den yeni bir lokalite. 1st International Congress on Plant Biology, 10-12 May 2018, Konya, Turkey. p. 21.
- Baran, J., and Boron, P., 2017. Two species of true morels (the genus *Morchella*, *Ascomycota*) recorded in the Ojców National Park (south Poland). Acta Mycol., 52(1):1094.
- Baroni, T.J., Michael, W., Beug, M.W., Cantrell, S.A., Teresa, A., Clements, T.A., Iturriaga, T., Læssøef, T., Holgado Rojas, M.E., Aguilarh, F.M., Quispeh, M.O., and Lodgei, D.J., 2018. Four new species of *Morchella* from the Americas. Mycologia, doi.org/10.1080/00275514.2018.1533772.
- Batyrova, G.S., 1977. Pileate fungi of Kopet Dag (Pezizales, Agaricales s.str., Gasteromycetes). Thesis for the commencement of the degree of Candidat in Botany, Ashkhabad, 23 pp. [In Russian]
- Boudier, J.LE., 1887. Notice sur les discomycètes figurés dans les dessins inédits de Dunal conservés à la Faculté de Montpellier. Bull. Soc. Mycol. Fr., 3:88-96.
- Buscot, F., 1992. Mycorrhizal succession and morel biology. In: Read, D.J., Lewis, D.H., Fitter, A.H., and Alexander, I.J. (eds) Mycorrhizas in ecosystems. CAB International, Wallingford. pp 220-224 .
- _____, and Roux, J., 1987. Association between living roots and ascocarps of *Morchella rotunda*. Trans. Br. Mycol. Soc., 89(2):249-252.
- Castañera, V., and Moreno, G., 1996. Una *Morchella* (*Morchella esculenta* forma *dunensis* f. nov.) frecuente en las dunas de Cantabria. Yesca, Rev. Soc. Micológica de Cántabria, 8:27.

- Clowez, P., 1997. *Morchella dunensis* (Boud.) Clowez (stat. et comb. nov. ad int.).
Une bonne espèce pour un mystère nomenclatural. Documents
Mycologiques, 26(104):13-20.
- _____, 2012. Les morilles. Une nouvelle approche mondiale du genre *Morchella*.
Bull. Soc. Mycol. Fr., 126:199-376.
- _____, Alvarado, P., Becerra, M., Bilbao, T., and Moreau, P.A., 2014. *Morchella*
fluvialis sp. nov. (Ascomycota, Pezizales): A new but widespread morel in
Spain. Bol. Soc. Micol. Madrid, 3:23-32.
- _____, Bellanger, J.M., De La, O., Luis, R., and Moreau, P.A., 2015. *Morchella*
palazonii sp. nov. (Ascomycota, Pezizales): une nouvelle morille
méditerranéenne. Clé des *Morchella* sect. *Morchella* en Europe.
Documents Mycologiques, XXXVI:71-84.
- Dahlstrom, J.L., Smith, J.E., and Weber, N.S., 2000. Mycorrhiza-like interaction
by *Morchella* with species of the Pinaceae in pure culture synthesis.
Mycorrhiza, 9(5):279-285.
- Doğan HH, Bozok F, Taşkın H, Büyükalaca S, 2016. Türkiye İçin Beş Yeni
Morchella Kaydı. Alatarım, 15(1): 1-11.
- Du, X.H., Zhao, Q., O'Donnell, K., Rooney, A.P., and Yang, Z.L., 2012a.
Multigene molecular phylogenetics reveals true morels (*Morchella*) are
especially species-rich in China. Fungal Genet. Biol., 49:455-469.
- _____, Zhao, Q., Yang, Z.L., Hansen, K., Taşkın, H., Büyükalaca, S., Dewsbury,
D., Moncalvo, J.M., Douhan, G.W., Robert, V.A.R.G., Crous, P.W. ,
Rehner, S.A. , Rooney, A.P., Sink, S., and O'Donnell, K., 2012b. How
well do ITS rDNA sequences differentiate species of true morels
(*Morchella*)?. Mycologia, 104:1351-1368.
- Dzhagan, V.V., Prudenko, M.M., and Helyuta, V.P., 2008. Fungi of Kaniv Nature
Reserve. Kyiv University, Kyiv, 271 pp. [In Ukrainian, English summary]

- _____, Prydiuk, M.P., and Senchylo, O.O., 2010. New records of macromycetes listed in the Red Data Book of Ukraine. *Ukrainian Botanical Journal*, 45(2): 587-695. [In Ukrainian, English summary]
- Elliott, T.F., Bougher, N.L., O'Donnell, K., and Trappe, J.M., 2014. *Morchella australiana* sp. nov., an apparent Australian endemic from New South Wales and Victoria. *Mycologia*, 106:113-118.
- Greene, D.F., Hesketh, M., and Pounden, E., 2010. Emergence of morel (*Morchella*) and pixie cup (*Geopyxis carbonaria*) ascocarps in response to the intensity of forest floor combustion during a wildfire. *Mycologia*, 102(4): 766-773.
- Häffner, J., and Lukács, Z., 1995-1996. Recent findings of ascomycetes XVII. *Morchella steppicola* Zerova. *Rheinland-Pfälzisches Pilzjournal*, 5-6:108-118.
- Hobbie, E.A., Weber, N.S., and Trappe, J.M., 2001. Mycorrhizal vs saprotrophic status of fungi: the isotopic evidence. *New Phytologist*, 150(3):601-610.
- Işiloğlu, M., Alli, H., Spooner, B.M., and Solak, M.H., 2010. *Morchella anatolica* (Ascomycota), a new species from southwestern Anatolia, Turkey. *Mycologia*, 102:455-458.
- Karpenko, K.K., 2004. New and rare species of macromycetes for Ukraine from Northern-East part of Left-Bank Forest-Steppe. *Ukrainian Botanical Journal*, 61(2): 34-40. [In Ukrainian, English summary]
- Korbonskaya, Ya.I., 1975. Edible and poisonous mushrooms of Tadjikistan. Dushanbe, 18 pp. [In Russian]
- Kuo, M., Dewsbury, D.R., O'Donnell, K., Carter, M.C., Rehner, S.A., Moore, J.D., Moncalvo, J.M., Canfield, S.A., Stephenson, S.L., Methven, A., and Volk, T.J., 2012. Taxonomic revision of true morels (*Morchella*) in Canada and the United States. *Mycologia*, 104:1159-1177.
- Lebedeva, L.A., 1937. Mushrooms. Collection and Processing. Moscow-Leningrad, 200 pp. [In Russian]

- Liu, Y.J., Whelen, S., and Hall, B.D., 1999. Phlogenetic relationships among ascomycetes: evidence from an RNA polymerase II subunit. *Mol. Biol. Evol.*, 16:1799-1808.
- Liu, Q., Ma, H., Zhang, Y., and Dong, C., 2017. Artificial cultivation of true morels: current state, issues and perspectives. *Critical Reviews in Biotechnology*, doi.org/10.1080/07388551.2017.1333082.
- Liu, W., Chen, L.F., Cai, Y.L., Zhang, Q.Q., and Bian, Y.B., 2018. Opposite Polarity Monospore Genome De Novo Sequencing and Comparative Analysis Reveal the Possible Heterothallic Life Cycle of *Morchella importuna*. *International Journal of Molecular Sciences*, 19:2525. doi:10.3390/ijms19092525.
- Loizides, M., 2017. Morels: the story so far. *Field Mycology*, 18(2):42-53.
- _____, Alvarado, P., Clowez, P., Moreau, P.A., Romero de la Osa, L., and Palazón, A., 2015. *Morchella tridentina*, *M. rufobrunnea*, and *M. kakiicolor*: a study of three poorly known Mediterranean morels, with nomenclatural updates in section Distantes. *Mycol. Progress*, 14:1-18.
- _____, Bellanger, J.M., Clowez, P., Richard, F., and Moreau, P.A., 2016. Combined phylogenetic and morphological studies of true morels (Pezizales, Ascomycota) in Cyprus reveal significant diversity, including *Morchella arbutiphila* and *M. disparilis* spp. nov. *Mycol. Progress*, 15:39.
- Masaphy, S., Zabari, L., Goldberg, D., and Jander-Shagug, G., 2010. The complexity of *Morchella* systematics: a case of the yellow morel from Israel. *Fungi*, 3:14-18.
- Matheny, P.B., Liu, Y.J., Ammirati, J.F., and Hall, B.D., 2002. Using RPB1 sequences to improve phylogenetic inference among mushrooms (Inocybe, Agaricales). *Am. J. Bot.*, 89:688-698.
- Matočec, N., Kušan, I., Mrvoš, D., and Raguzin, E., 2014. The autumnal occurrence of the vernal genus *Morchella* (Ascomycota, Fungi). *Nat. Croat.*, 23:163-178.

- Miller, A.N., Raudabaugh, D.B., Iturriaga, T., Matheny, P.B., Petersen, R.H., Hughes, K.W., Gube, M., Powers, R.A., James, T.Y., and O'Donnell, K., 2017. First report of the post-fire morel *Morchella exuberans* in eastern North America. *Mycologia*, 109(5):710-714.
- Moreau, P.A., Hériveau, P., Bourgade, V., Bellanger, J.M., Courtecuisse, R., Fons, F., and Rapior, S., 2011. Redécouverte et typification des champignons de la région de Montpellier illustrés par Michel-Félix Dunal et Alire Raffeneau-Delile. *Cryptogram Mycol.*, 32:255-276.
- O'Donnell, K., Cigelnik, E., and Weber, N.S., 1997. Phylogenetic relationships among ascomycetous truffles and true and false morels from 18S and 28S ribosomal DNA sequence analyses. *Mycologia*, 89:48-65.
- _____, Rooney, A.P., Mills, G.L., Kuo, M., Weber, N.S., and Rehner, S.A., 2011. Phylogeny and historical biogeography of true morels (*Morchella*) reveals an early Cretaceous origin and high continental endemism and provincialism in the Holarctic. *Fungal Genet. Biol.*, 48:252-265.
- Ower, R.D., 1982. Notes on the Development of the Morel Ascocarp: *Morchella esculenta*. *Mycologia*, 74:142-144.
- _____, Mills, G.L., and Malachowski, J.A., 1986. Cultivation of *Morchella*. U.S. Patent 4, 594,809.
- Perić, B., and Radić, S., 2013. Deux taxons du genre *Morchella* (Pezizales), intéressants et rares en Europe: *M. steppicola* et *M. eximia*. *Mycologia Montenegrina*, 16:29-44.
- Pildain, M.B., Visnovsky, S.B., and Barroetavena, C., 2014. Phylogenetic diversity of true morels (*Morchella*), the main edible non-timber product from native Patagonian forests of Argentina. *Fungal Biology*, 118:755-763.
- Prudenko, M.M., and Solomakhina, V.M., 1998. Fungi of Kaniv Nature Reserve included to the Red Data Book of Ukraine. Role of protected territories in biodiversity conservation. Kaniv, 136-137. [In Ukrainian, English summary]

- Reeb, V., Lutzoni, F., and Roux, C., 2004. Contribution of RPB2 to multilocus phylogenetic studies of the euascomycetes (Pezizomycotina, Fungi) with species emphasis on the lichen-forming Acarosporaceae and evolution of polyspory. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 32:1036-1060.
- Rehner, S.A., and Buckley, E., 2005. A *Beauveria* phylogeny inferred from nuclear ITS and EF1-sequences: evidence for cryptic diversification and links to *Cordyceps* teleomorphs. *Mycologia*, 97:84-98.
- Richard, F., Bellanger, J.M., Clowez, P., Hansen, H., O'Donnell, K., Urban, A., Sauve, M., Courtecuisse, R., and Moreau, P.A., 2015. True morels (*Morchella*, Pezizales) of Europe and North America: evolutionary relationships inferred from multilocus data and a unified taxonomy. *Mycologia*, 107:359-383.
- Shvartsman, S.R., 1958. Fungal resources of the Kazakhstan. *Izvestiya AN Kazakhskoj SSR*, 1: 3-15. [In Russian]
- Smytska, M.F., 1988. New records of *Morchella steppicola* (Zerova) in URSR. *Ukrainian Botanical Journal*, 45(2):71-72. [In Ukrainian, English summary]
- Sukhomlyn, M.M., Kutkova, O.V., and Panina, Z.O., 2007. *Morchella steppicola* Zer.: morphological features, ultrastructure, distribution in South-East part of Ukraine. *Ukrainian Botanical Journal*, 64 (6):867-874. [In Ukrainian, English summary]
- Taşkın, H., Büyükalaca, S., Doğan, H.H., Rehner, S.A., and O'Donnell, K., 2010. A multigene molecular phylogenetic assessment of true morels (*Morchella*) in Turkey. *Fungal Genet. Biol.*, 4:672-682.
- _____, Büyükalaca, S., Hansen, K., and O'Donnell, K., 2012. Multilocus phylogenetic analysis of true morels (*Morchella*) reveals high levels of endemics in Turkey relative to other regions of Europe. *Mycologia*, 104:446-461.

- _____, Doğan, H.H., and Büyükalaca, S., 2015. *Morchella galilaea*, an autumn species from Turkey. *Mycotaxon*, 130:215-221.
- _____, Doğan, H.H., Büyükalaca, S., Clowez, P., Arthur, P.A., and O'Donnell, K., 2016. Four new morel (*Morchella*) species in the Elata Subclade (sect. *Distantes*) from Turkey. *Mycotaxon*, 131:467-482.
- Tkachenko, F.P., Popova, O.M., and Babenko, O.A., 2009. New records of fungi listed in the Red Data Book of Ukraine in Odessa region. *Ukrainian Botanical Journal*, 66 (2):250-253. [In Ukrainian, English summary]
- Vasilkov, B.P., 1952. About *Morchella steppicola* Zerova. *Notulae Systematicae e Sectione Cryptogamica Instituti Botanici nomine V.L Komarovii Academiae Scientiarum USSR* 8. [In Russian]
- _____, 1955. Geographic distribution of pileate fungi in the USSR. Moscow–Leningrad, AS USSR Press. [In Russian]
- Vodyanitskaya, O.S., and Morozova, I.I., 2011. Record of new habitat of *Morchella steppicola* Zer. in Lugansk region. In: Bondareva A.A. (Ed.) Materials of VI international scientific conference of young scientists “Biology: from a molecule to the biosphere” (20-25 Nov 2011, Kharkiv). Kharkiv, Operativna poligraphiia, pp. 507–509. [In Russian, English summary]
- Voitk, A., Burzynski, M., O'Donnell, K., Voitk, M., and Marceau, A., 2014. Mel-36-preliminary description of a new morel species. *Omphalina*, 5(2):7-10.
- _____, Beug, M. W., O'Donnell, K., and Burzynski, M., 2016. Two new species of true morels from Newfoundland and Labrador: cosmopolitan *Morchella eohespera* and parochial *M. laurentiana*. *Mycologia*, 108:31-37.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S., and Taylor, J., 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: *PCR–Protocols and Applications–A Laboratory Manual Academic Press, San Diego*, pp: 315-322.

- Yatsiuk, I., Saar, I., Kalamees, K., Sulaymonov, S., Gafforov, Y., and O'Donnell, K., 2016. Epitypification of *Morchella steppicola* (Morchellaceae, Pezizales), a morphologically, phylogenetically and biogeographically distinct member of the Esculenta Clade from central Eurasia. *Phytotaxa*, 284(1):031-040.
- Zerova, M.Ya., 1941. A new morel from virgin steppe (*Morchella steppicola* Zerova sp. nov.). *Botanical Journal of the Academy of Science of the Ukrainian SSR*, 2(1):155-159. [In Ukrainian, Russian and English summaries]
- _____, 1956. Soil fungi of the virgin steppe soils of the Ukrainian SSR. *Ukrainian Botanical Journal*, 13(2):68-77. [In Ukrainian, Russian summary]
- Zhang, Q., Liu, W., Cai, Y., Lan, A.F., and Bian, Y., 2018. Validation of Internal Control Genes for Quantitative Real-Time PCR Gene Expression Analysis in *Morchella*. *Molecules*, 23:2331; doi:10.3390/molecules23092331.

ÖZGEÇMİŞ

Üniversite Lisans eğitimimi 2001-2006 yılları arasında Çukurova Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünde tamamladı. Hemen sonrasında 2007 yılında, askerlik hizmetimi yerine getirdi. Askerlik hizmetinin ardından çeşitli firmalarda çalışmış olup, son olarak Roche Diagnostik A.Ş.'de Satış Uzmanı olarak görev yapmakta. 2017 yılında Çukurova Üniversitesi Biyoteknoloji Anabilim Dalında Doç. Dr. Hatıra TAŞKIN danışmanlığında yüksek lisans eğitimime başladı.