

PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**GÖKOVA, AKYAKA BÖLGESİNDEKİ *EUCALYPTUS CAMALDULENSIS* DEHNH. AĞAÇLARI'NIN
ODUN DÖKÜNTÜLERİNDEN ELDE EDİLEN BESİYERLERİNDE *CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS*
(SAN FELICE) VUILL.'İN BAZİDYOSPORLANMASININ İNCELENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
TUĞBA KARTAL**

Anabilim Dalı: Biyoloji

Programı: Yüksek Lisans

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Ali ÇELİK
II. Danışman: Prof. Dr. Çağrı ERGİN**

MAYIS 2012

YÜKSEK LİSANS TEZ ONAY FORMU

Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü 91461021 nolu öğrencisi Tuğba KARTAL tarafından hazırlanan "GÖKOVA, AKYAKA BÖLGESİNDEKİ *EUCALYPTUS CAMALDULENSIS* DEHNH. AĞAÇLARI'NIN ODUN DÖKÜNTÜLERİNDEN ELDE EDİLEN BESİYERLERİNDE *CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS* (SAN FELICE) VUILL.'İN BAZİDYOSPORLANMASININ İNCELENMESİ" başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Ali ÇELİK (PAÜ)



Eş Danışman : Prof. Dr. Çağrı ERGİN (PAÜ)



Jüri Üyesi : Prof. Dr. Mustafa İŞİLOĞLU (MÜ)

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Kudret GEZER (PAÜ)


Jüri Üyesi : Doç. Dr. Aykut GÜVENSEN (EGE ÜN.)



Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 06.06.2012 tarih ve 15/21 sayılı kararıyla onaylanmıştır.


Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü
Prof. Dr. Nuri KOLŞUZ

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğine beyan ederim.

İmza : 

Öğrenci Adı Soyadı : Tuğba KARTAL

ÖNSÖZ

Bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 2010FBE087 no'lu proje olarak desteklenmiştir.

“Gökova, Akyaka bölgesindeki *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. Ağaçlarının Odun Döküntülerinden Elde Edilen Besiyerlerinde *Cryptococcus neoformans* (San Felice) Vuill.'ın Bazidyosporlanmasının İncelenmesi” adlı bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Anabilim Dalı ve Tıp Fakültesi Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda yüksek lisans tezi olarak hazırlanmıştır.

Yaşamım boyunca her türlü maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen ve hep yanımda olan sevgili aileme;

Tüm eğitim hayatım süresince engin ve değerli bilgilerinden yararlandığım, tecrübelerinden mümkün olduğunca faydalanmaya çalıştığım, tezimin çalışma ve yazım aşamasında bilgi ve deneyimleri ile yardımcı olan değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ali ÇELİK'e;

Konu seçimi ve çalışmaların yönlendirilmesinde ilgi ve desteğini esirgemeyen, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, tezimle ilgili test örneklerinin hazırlanmasında büyük emek sarf eden, bana her zaman güvenen ve destekleyen eş danışmanım Sayın Doç. Dr. Çağrı ERGİN'e;

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ABD'nin laboratuvarlarında çalışmama izin vererek tezimin tamamlanmasını olanaklı kılan Sayın Prof.Dr. İlnur KALELİ'ye, tüm değerli hocalarına ve çalışma arkadaşlarıma;

Laboratuvar çalışmalarında yardımlarını ve desteklerini benden hiçbir zaman esirgemeyen değerli arkadaşım Nazlı ÜNAL ve hayat arkadaşım Celal Çağın ELGÜN'e;

Arazi çalışmalarında ve laboratuvar çalışmalarında yardımını ve bilgisini eksik etmeyen Yard. Doç. Dr. Mustafa ŞENGÜL'e;

Bilgi ve deneyimlerinden yararlanma olanağı bulduğum, bana her zaman güvenen değerli hocam Sayın Nesrin BULUŞ'a;

Kimyasal içerik yönünden değerlendirme aşamasında bilgilerini esirgemeyen Ramazan MAMMADOV'a

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	ix
SUMMARY.....	x
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1 <i>Cryptococcus</i> 'un Tarihçesi ve Taksonomisi.....	7
2.2 <i>C.neoformans</i> 'ın Dağılımı, Yayılımı ve Tanımlanması.....	8
2.2.1 Dağılımı.....	8
2.2.1.1 <i>Eucalyptus</i> 'un Sistematikteki Yeri ve <i>C.neoformans</i> İle İlişkisi.....	9
2.2.2 Yayılımı.....	10
2.2.2.1 Konağın Bağışıklık Durumu.....	11
2.2.2.2 <i>C.neoformans</i> 'ın Virülens Faktörleri:.....	12
2.2.3 Tanımlanması.....	14
3. MATERYEL VE YÖNTEM.....	15
3.1 Araştırma Bölgesinin Tanımı:.....	15
3.1.1 Tarihçesi.....	16
3.1.2 İklimi.....	16
3.1.3 Bitki Örtüsü.....	16
3.2 Materyel.....	16
3.2.1 Proje Materyallerinin Toplanması.....	16
3.2.2 Besiyerlerinin Hazırlanması.....	19
3.2.3 Örneklerin Besiyerlerine Ekimi.....	20
3.2.4 Yurt dışından ithal edilen saf <i>C.neoformans</i> (A α) ATCC 208821 ve <i>C.neoformans</i> (Aa) IUM 96-2828 suşlarının uygun laboratuvar şartlarında canlandırılması.....	20
3.2.5 PDA Besiyerine Suşların Aktarımı.....	20
3.2.6 Sırasıyla Canlandırma Ekim Aşamaları.....	21
3.2.7 Mating Aşaması.....	22
3.2.8 Odun Döküntülerinden Besiyeri Hazırlanması.....	23
3.3 Okaliptüs Ağacından Uçucu Yağ Eldesi.....	27
3.3.1 Örnek Hazırlama.....	27
3.3.2 GC ve GC-MS Analizleri.....	27
4. BULGULAR.....	28
5. TARTIŞMA.....	35
6. KAYNAKLAR.....	37

SEMBOLLER VE KISALTMALAR

% ;	Yüzelik İfade
°C ;	Santigrat Derece
N ;	Azot
pH ;	Bir Sıvının Asit veya Bazlık Derecesi, Sertlik Derecesi
NaCl ;	Sodyom Klorür
gr ;	Gram Cinsinden Ağırlık
cm³ ;	Santimetre Küp
M.Ö ;	Millattan Önce
var. ;	Varyete
GC/MS ;	Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi
m ;	Metre
µm ;	Mikrometre
mm ;	Milimetre
BOS ;	Beyin Omurilik Sıvısı
AIDS ;	Acquired Immuno Deficiency Syndrome (Edinilmiş Yetersiz Bağışıklık Sistemi Sendromu)
PDA ;	Patates Dekstroza Agar
ha ;	Hektar Alan
NK ;	Doğal Öldürücü Hücreler
GPS ;	Global Positioning System (Küresel Konumlama Sistemi)
Atm ;	Atmosfer
psi ;	Akış Hızı
dk ;	Dakika
rpm ;	Dakikadaki Devir Sayısı

TABLO LİSTESİ

Tablolar

- 3.1 : Çalışmaya Alınan Okaliptüs Ağaçlarının Numaraları ve GPS Kayıtları.....17
- 4.1 : *C.neoformans*'ın Doğadan İzolasyonunun ve *C.neoformans*'ın Okaliptüs Odun Döküntülü Besiyerinde Mating Yapmasının Gösterilmesi31
- 4.1 : *C.neoformans* kolonizasyonunun saptandığı ve eşeyli üremenin gösterildiği *E.camaldulensis* odunlarını içeren besiyerlerinin karşılaştırılması31
- 4.1 : *E.camaldulensis* Yapraklarından Elde Edilen Uçucu Yağ Bileşenleri34

ŞEKİL LİSTESİ

Şekiller

2.1 : Ülkemizde Okaliptüs'ün Yayılış Alanları.....	10
2.2 : <i>C.neoforman</i> 'ın İnsana Ulaşımı.....	11
2.3 : <i>C.neoforman</i> 'ın Yaşam Döngüsü.. ..	13
3.1 : Araştırma Bölgesi.	15
3.2 : Okaliptüs Ağaçlarından Örnek Alma İşlemleri	18
3.3 : Besiyelerinin Petrilere Dağıtılması İşlemi.. ..	19
3.4 : Örneklerin Besiyelerine Ekim İşlemleri.....	20
3.5 : PDA Besiyerine Aktarım	21
3.6 : Besiyelerinin Numaralandırılması ve Tarihlendirilmesi	21
3.7 : Besiyerine Ekim.....	22
3.8 : Toz Haline Getirilen Odun Döküntüsü.....	23
3.9 : Stoklardan Mating Yapmak Üzere Numune Alımı	24
3.10 : Mating İçin Suşların Karıştırılması.....	24
3.11 : Suşların Odun Döküntülü, V8 ve Staib Besiyelerine Ekimleri.	25
3.12 : Besiyelerinin İnkübasyonu	25
3.13 : Preparatların Hazırlanması	26
3.14 : Mikroskopta Tarama İşlemi	26
4.1 : Staib Besiyerinde <i>C.neoforman</i> 'ın Varlığının Gösterilmesi.	28
4.2 : Mikroskopta Fotoğraflama Aşaması.....	29
4.3 : V8 Besiyerindeki <i>C.neoforman</i> s Kolonileri	29
4.4 : V8 Besiyerinde Hif ve Konjugasyon Tüpü Oluşumu.	30
4.5 : <i>E.camaldulensis</i> odun döküntülerinde konjugasyon tüpü(pozitif).....	32
4.6 : <i>E.camaldulensis</i> odun döküntülerinde konjugasyon tüpü(negatif).. ..	32
4.7 : <i>E.camaldulensis</i> odun döküntülerinde konjugasyon tüpü(negatif).. ..	33
4.8 : Okaliptus Ağaçlarının Gövdesinde Bulunan <i>L.sulphureus</i> Mantarı.....	33

ÖZET

GÖKOVA, AKYAKA BÖLGESİNDEKİ *EUCALYPTUS CAMALDULENSIS* DEHNH. AĞAÇLARI'NIN ODUN DÖKÜNTÜLERİNDEN ELDE EDİLEN BESİYERLERİNDE *CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS* (SAN FELICE) VUILL.'İN BAZİDYOSPORLANMASININ İNCELENMESİ

Cryptococcus neoformans (San Felice) Vuill., özellikle bağışıklığı baskılanmış konakta hayatı tehdit eden enfeksiyonlar oluşturan bazidiyomiset sınıfından kapsüllü bir maya mantarıdır. *C.neoformans*'ın doğal kaynağı olarak gösterilen *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. (okaliptüs) florası ülkemizde geniş bölgelerde bulunmasına rağmen çevresel *C.neoformans* izolasyonu çok azdır. Bu araştırmada çevresel tarama, 2010-2011 yılları arasında, *C.neoformans*'ın daha önceki çalışmalarda da izole edilebildiği, Gökova-Akçapınar bölgesinde yapılmış ve tarama için eküvyon tekniği kullanılmıştır. *C.neoformans* kolonizasyonu 32 ağaçtan 11'inde (%36,6) bulunmuştur. Okaliptüs odun döküntülü, Staib ve V8 besiyerlerinde mating yapma özellikleri araştırılmıştır. Çalışmaya okaliptüs ağaç döküntülerinin tamamı dahil edilmiştir. *E.camaldulensis* döküntülerini içeren besiyerinin %59,3'ünde konjugasyon tüpü gözlenmiştir. Ülkemizde Akyaka bölgesinde kültür bitkisi olarak yetiştirilen *E.camaldulensis*'in yapraklarından ve tohumlarından su distilasyon yöntemi ile uçucu yağı elde edilmiştir. Uçucu yağın analizleri, gaz kromatografisi/kütle spektrometrisi (GC/MS) ile yapılmıştır. Türkiye'de bulunun (Akyaka bölgesi dışındaki) *E.camaldulensis* ağaçları ve Akyaka bölgesinde bulunan *E.camaldulensis* ağaçlarının yağ içeriklerine bakıldığında; *Cryptococcus*'ların Akyaka bölgesinde bulunabilmesi arasında anlamlı bir veri tespit edilememiştir.

Anahtar Kelimeler: *C.neoformans*, *E.camaldulensis*, Bazidyospor, GC/MS, V8.

SUMMARY

MATING OF *C.NEOFORMANS* (SAN FELICE) VUILL. ON *EUCALYPTUS* *CAMELDULENSIS* DEHNH. WOOD DEBRIS IN GÖKOVA, AKYAKA

C.neoformans (Sanfelice) Vuillemin which belongs to the class Basidiomycetes is an encapsulated yeast that is among the most prevalent agents of life-threatening fungal infections especially in immunosuppressed individuals. Although wide *E.camaldulensis* plantation as a natural niche of *C.neoformans* has been present in our country, the isolation of the yeast is lower than expected. In this study, swabbing technique was used for environmental screening of *C.neoformans* in Gökova-Akçapınar region where *C.neoformans* has been isolated in the area in 2011. *C.neoformans* colonization was found as 11/32 (36,6%). The mating capability of five (two negative and three positive debris) the *C.neoformans* strains was evaluated on similar debris. *C.neoformans* strains tested were either able to mate or develop filaments when crossed on *E.camaldulensis* debris, Staib and V8 juice. The mating (conjugation) on *E.camaldulensis* wood debris was found as 19/33 (%59,3). Essential oils were produced by bench scale and pilot plant scale distillation of the leaves and seeds of *E.camaldulensis* cultivated in Akyaka, Turkey. The oils were analysed by modern techniques such as gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS).

Key Words: *C.neoformans*, *E.camaldulensis*, Basidiospore, GC/MS, V8.

1. GİRİŞ

Yaklaşık olarak bir buçuk milyon civarında mantar türünün bulunduğu inanılmaktadır ancak mikolojik araştırmaların başladığı günden bu yana geçen zaman diliminde bu türlerin yalnızca yüz bin kadarı araştırmacılar tarafından tanımlanabilmiştir. Ülkemizde bunların 2 bin 400 kadarını makrofunguslar oluşturmaktadır [38].

Mantarların 150 kadarının insan ve hayvanda patojen olduğu tespit edilmiştir [98,102]. Mantar enfeksiyonları mikoz olarak adlandırılmaktadır. Bunlar deri ve deri altından veya mukoza enfeksiyonlarından başlayarak sistemik ve potansiyel ölümcül hastalıklara kadar geniş bir enfeksiyon yelpazesine sebep olurlar. İnsan ve hayvanlarda mikozu yol açan mantarlar; vücuda girdiğinde konağın yüksek ısısından etkilenmeyen, doku içindeki azalmış oksidasyon, redüksiyona ve savunma mekanizmasına rağmen hayatta kalan cinslerdir. Özellikle dimorfik mantarların büyük bir uyum yeteneğine sahip oldukları; konağa yerleştikleri sırada kendi yapılarında, hücre duvarlarının içeriğinde, metabolizmalarında, enzim sistemlerinde ve çoğalma biçimlerinde büyük değişiklikler oluşturabildikleri anlaşılmıştır [1,2,91,96,104].

Mantar enfeksiyonlarına ilişkin bilinen en eski belge MÖ 2000-1000 arasında tarihlenen Hindu kutsal yazıtında (Samhita) bulunmaktadır ve ayakta misetomadan söz eder. Ortaçağın sonlarına doğru enfeksiyon hastalıklarından söz edilmeye başlanmış ve 15-19 yüzyılları arasında mikoloji ve özellikle tıp mikolojisinde, İtalya'da hekimlerle diğer bilim adamları mikozları ve etiyolojik etkenlerini anlamaya çalışmışlar, tarif etmişler ve tartışmışlardır [93,101]. 15. yüzyılın sonunda hekim ve Syphilis şiiirinin sahibi G.Fracastoro hastalıklarda germ teorisini ortaya atmış, pandemilerin çok küçük parçacıkların veya sporların doğrudan temasla taşınarak uzak mesafelere bile yayılması yoluyla gerçekleştiği kuramlaştırılmıştır [

Mantarlar değişik habitatlarda gelişebilme özellikleriyle yeryüzünde geniş bir dağılıma sahiptir. Mantarlar üremeyi garanti altına almak için bol miktarda spor üretmektedirler. Birçok fungus sporu uzun süre canlılığını koruyabilmektedir. Bu durum mantarların çoğalması, patojenitesi ve allerjik etkileri bakımından önem taşımaktadır [14,39].

Mantarlar alemi içinde yer alan organizmaların yaşam döngülerinde hem eşeyli hem de eşeysiz üreme safhaları yer alır. Mantarların sınıflandırılmasında kullanılan temel kriterler, yaşam döngülerinin eşeyli safhasında oluşturdukları üreme yapılarıdır [58]. Ancak eşeyli üreme yapıları özel koşullar altında oluşturulduğu için bazı fungusların eşeyli safhası ya henüz belirlenememiş ya da bazı mantarlar da bu safha tamamen ortadan kalkmış olabilir. Bundan dolayı günümüzde mantarlar iki şekilde sınıflandırılmaktadır. Bunlardan, mantarların yaşam döngülerinin eşeyli safhalarında oluşturdukları fruktifikasyon yapıları, eşeyli sporları ve tallus yapıları kriter alınarak gerçekleştirilen sınıflandırma teleomorfik sınıflandırma olarak adlandırılır. Eşeyli üreme yapıları tespit edilemediği için, bazı mantarlar tallus yapıları ve eşeysiz sporları göz önüne alınarak sınıflandırılırlar, bu sınıflandırma biçimi ise anamorfik sınıflandırma olarak adlandırılır [78].

Cryptococcus neoformans (San Felice, 1895) Vuillemin 1901; doğada kolonize olan, heterobazidiyomisetlerden anamorf, hem dokuda hem de kültürde kapsül üretebilen, insana hava yolu ile bulaşan, özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış konakta enfeksiyon etkeni olan bir maya mantarıdır. Başta kazanılmış immün yetmezlik sendromu (AIDS) olmak üzere, malignite, organ nakli gibi bağışıklığı bozuk hastalarda sıklıkla karşılaşılmaktadır [20,57]. *C.neoformans*, hem bitki hem de hayvanlarda yaşayabilmektedir. *C.neoformans*'ın tam yaşamı 1975'e kadar bilinmezken Kwon-Chung α ve a olarak ayrılan iki çaprazlama tipinin olduğunu, bu iki tipin çaprazlanmasıyla teleomorf bir bazidiyomisetin geliştiğini bulmuştur. Bu şekliyle *Filobasidiella* cinsinde sınıflandırılmıştır [50,94,97]. *C.neoformans*'ın genetik, ekoloji ve bazı biyokimya özellikleri sayesinde; *C.neoformans var. neoformans*, *C.neoformans var. gattii* ve *C.neoformans var. grubii* olmak üzere üç varyeteye ayrılmıştır. Kapsülün antijen farklılıklarına, aglütinasyon ve immunofluoressans deneylerine göre de *C.neoformans var. neoformans*'da serotip D ve AD'nin, *C.neoformans var. gattii*'de serotip B ve C'nin, *C.neoformans var. grubii*'de serotip A'nın bulunduğu belirlenmiştir [18,49].

Çevresel ortamdan, insana solunum yolu ile bulaşması sonucunda hastalık meydana getirebilmektedir. Son yıllarda mantar enfeksiyonlarının öneminin artmasından dolayı etken olan mantarların tanısı, tür tayini, tiplendirilmesi ve antifungal dirençlilikle ilgili çalışmalar hız kazanmıştır [11, 37].

C.neoformans'ın yurdumuzda doğal kaynaklarda araştırılması 1965'de Unat ve Yücel tarafından başlatılmıştır. *C.neoformans*'ın Türkiye'de doğal kaynaklardan ayrılma oranı %1.0-35.0 arasında değişmektedir. Türkiye'de ilk insan kriptokokkozu 1953 yılında tanımlanmış ve bugüne dek 49 olgu bildirilmiştir. Bu olguların yıllara göre dağılımı incelendiğinde;

- ✓ 1953-1990 yılları arasında 11 olgu,
- ✓ 1991-2000 arasında 13 olgu (üçü HIV pozitif),
- ✓ 2001 yılından sonra ise 25 olgu (yedisi HIV pozitif) bildirilmiştir.

Son yıllarda *Cryptococcus spp.* ile oluşan enfeksiyonlarda görülen belirgin artış, bu maya mantarının çevresel odaklarda araştırılmasını zorunlu kılmıştır [44].

Eucalyptus camaldulensis (Dehn.), *C.neoformans*'ın kolonizasyonunun ilk tanımlandığı ve en yaygın taramaların yapıldığı ağaç türüdür ve doğal kaynaklarından biridir. Bu nedenle daha önceden kolonizasyonunun tanımlandığı, Gökova'nın Akyaka bölgesi çalışma alanı olarak seçilmiştir. Dünya'da yapılanlara benzer şekilde ülkemizde de *C.neoformans*'ın çevresel kolonizasyonunu araştıran taramalar yaklaşık 45 yıldır sürdürülmektedir [42,89]. Bu araştırmada da *E.camaldulensis*'den alınan örneklerde *C.neoformans*'ın varlığının kültür yöntemi ile taranması gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışma, Gökova Körfezindeki *E.camaldulensis* ağaçlarında *C.neoformans*'ın bazidyosporlanma özelliklerini ve izole edilen *C.neoformans* suşlarının ülkemizde, doğal ortamda mating (çaprazlanma) yapıp yapmadığını yani eşeyli formda bulunup bulunmadığını belirlemek amacıyla yapılmış.

2. GENEL BİLGİLER

Bilindiği gibi mantarlar, 1969'da Whittaker tarafından yeniden açıklanıp birçoklarınınca benimsendikten sonra, doğadaki canlıları 5 evrene ayıran yeni sistemde; bitkiler, hayvanlar, protistler ve monerlerden ayrı bir evren olarak kabul edilmektedir. Bu evreni oluşturan canlılar; bazidiyokarp'larının biçiminden dolayı şapkalı mantarlar denilen ve çıplak gözle görülen belirli yapıdaki mantar türlerinden; iri bir amip gibi görünen çok çekirdekli yapışkan küflere; tek hücreli ve ancak mikroskopta görülebilenlere kadar çeşitlidir [1,91].

Mantarları inceleyen bir bilim dalı olan mikoloji sözcüğü Yunanca şapkalı mantar anlamına gelen "mykes" kelimesinden kaynaklanmaktadır [1,91]. G. Bauhin (1560-1624) mantarlar üzerine araştırmalar yapmış ve "Pinax Theatri Botanici" adlı eserinde 100 kadar mantarın özelliklerini bildirmiştir. 17. yüzyılda mikroskopun bulunmasıyla mantar sistematigi çalışmaları başlamış, Tournefort çeşitli mantarlar ve likenler üzerinde incelemeler yaparak bunları, morfoloji ve diğer karakterlerine dayanarak, 6 gruba (1-Fungus, 2-Boletus, 3-Agaricus, 4-Lycoperdon, 5-Coralloides, 6-Tubira) ayırmış ve "Element de Botanique" adlı eserinde yayımlamıştır [6]. 1688'de Redi etin kokuşması ile ilgilenmiş, sineklerin bulaştırmasını önlemeye çalışmış; Spallanzani deneylerinde, üzerinde mantar sporları bulunmayan organik malzeme üzerinde küflerin görülmediğini göstermiş, hava kaynaklı mantar sporlarından söz etmiştir. Mikolojinin kurucusu sayılan İtalyan botanist P. A. Micheli 1729'da Nova Plantarum Genera'da mantarla ilgili araştırmalarını yayımlamıştır [2]. H. Peroson (1761-1836), mantarlara ilişkin incelemelerini, taksonomik bir yapıt olan "Synopsis Methodica Fungorum" (1801)'da toplamış, ayrıca Mycologia Europea 3 cilt halinde yayımlamıştır. Bu konuda ayrıca "Mycologia Europea" (1822; 1828) adlı çalışmaları da yayımlamış; mantarları 2 sınıf, 6 takım ve 71 cinse ayırarak sınıflandırmıştır [6].

E. Fries (1794-1878), bugünkü mantar sistematiginin esasını kurmuş, "Systema Mycologicum" adlı eseri hazırlamıştır. Ancak diğer bilimlerde olduğu gibi esaslı bilgiler 19. yüzyılda toplanmaya başlamıştır. 1835'de avukat A. Bassi hasta ipek böcekleriyle çalışarak muskardin hastalığının etkeninine *Beauvaria bassieni* adını vermiştir [6].

1837'de Remak ilk defa insanlardaki bir mantar hastalığı ile ilgili bir açıklamada bulunmuştur. Sabouraud, Pasteur'ün saf kültürler elde edebilmek için bulduğu metodlardan çok önce, mantar kültürlerinin yapıldığını yazmıştır [2,83,92]. Saccardo, mantarlar üzerinde 1880 yılına kadar yapılmış inceleme ve araştırmaları 25 cilt halinde "Sylloge Fungorum" adlı eserde toplamış; bu eserde 80.000 mantar türü bildirmiştir [6].

Bu gelişmeler üzerine Almanya ve Fransa'da klinikçiler mantarların insan hastalıklarına da sebep olup olmadığını belirlemeye çalışmışlardır. R. Remak, J. L. Schönlein, bir Macar hekimi olan D. Gruby (1841-1844 yılları arasında) birbirlerinden bağımsız olarak favusu incelemiş ve bu hastalığa bugün *Trichophyton schoenleinii* adı verilen mantarın sebep olduğunu bulmuşlardır. Gruby favus'un mantarını tam olarak izole etmiş ve sağlam bir insana bulaştırmak suretiyle bir enfeksiyona yol açan mikrobun o enfeksiyonun etkeni olarak kabul edilebilmesi için ileri sürülen şartları çok önceden uygulamıştır. Bu alandaki birçok başarılı çalışmalarından dolayı tıp mikolojisinin başlangıcı daima Gruby ile başlatılmıştır [101].

Mikolojinin bugünkü duruma gelinceye kadar geçirdiği dönemler içinde Sabouraud, önemli bir dönüm noktası olmuştur. Mikolojinin tarihi gelişimini; 1835'de Bassi ile başlayan ilk çalışmalar dönemi, Sabouraud'nun 50 yıllık çalışmalarını kapsayan ve kendi ismiyle vurgulanacak olan Sabouraud dönemi ve son dönem olarak üç devrede gözden geçirmek uygun görülmüştür [93].

Mikolojinin tarihi belki de son 50 yılda ve özellikle de Emmons'un çalışmalarıyla değişmeye başlamıştır. Emmons'dan önce özellikle dermatofitlerin tasnifi, klinik bulgular ve besiyerindeki üreme şekilleri dikkate alınarak yapılmıştı; fakat bir mantar türü farklı klinik tablolara sebep olduğu gibi aynı klinik tablo, ayrı türler olarak kabul edilen mantarlar tarafından da gelişebilmekte, ayrıca bir tür farklı şekillerde de üreyebilmekte ve kolonilere göre yanlış tanımlar yapılabilmekteydi. Bütün bu eksikliklere rağmen R. Sabouraud'nun "Les Teignes" adlı eseri en büyük başvuru kitabı idi. Bilindiği gibi, Emmons *C.neoformans*'ı da topraktan izole etmiş olan araştırmacıdır [90].

Modern biyolojinin kurucusu sayılan ve 1938'de uluslararası Mycopathologia dergisini çıkaran R. Ciferri ve fermentasyon hakkındaki klasik çalışmalarıyla fermentleyici mikroorganizmaların kimyaca değişiklikler oluşturduklarını gösteren Pasteur; I. Dünya Savaşı sırasında patojen mayaları araştıran ve üç önemli *Candida* türü olan *C.guilliermondii*, *C.krusei*, *C.tropikalisi*'i ayırarak tarif eden Castellani; daha sonra yine Alman maya taksonomistleri Lodder ve Kreger van Rij mikolojiye büyük, temel hizmetler vermiştir [48].

Maya taksonomisi ile ilgili olarak J.Lodder'in hazırlamış olduğu monograf, Kreger-van Rij ve Barnett tarafından yapılan bir kısım değişiklik ve eklemelerle halen temel kaynak durumundadır. Küflerde olduğu gibi mayaların da tanımında morfoloji, vejetatif ve eşeyli üreme özelliklerinin incelenmesi öncelik taşımakta, bunlar fermentleme özellikleri ile birleştirilerek üst taksonlara ulaşılmakta; diğer biyokimya özelliklerinin aranması ile de alt taksonlara gidilmektedir. Üreme özellikleri ve morfolojilerine dayanarak mikromantarlar, maya ve küf olmak üzere iki grupta incelenmektedir. Önceleri morfoloji, mayalardan çok küfler için önemli kabul edilmekteyken bugün bağışıklığı baskılanmış hastalardan ayrılan maya cinsleri geniş bir yelpazeye yayılma eğilimi gösterdiğinden bunların tanımlanmasında da temel basamak sayılmaktadır [48].

Maya ve küfler ile ilgili kısaca bilgi verilecek olursa; küf şeklindeki mantarların esas yapı birimi hif olarak adlandırılan çok hücreli filamentöz kolonilerdir. Hiflerin bir araya gelerek oluşturdukları topluluğa misel adı verilmektedir. Bazı küflerde hifler enine olarak bölünmüştür. Bu bölmeler septum adını alır. Septumlara sahip olan küfler septumlu (bölmeli), olmayanlar ise septumsuz (bölmesiz) hifli olarak adlandırılır. Bölmesiz hiflerin çapı 10-15 µm olup, 2-5 µm çaplı bölmeli hiflerden daha geniştir. Miseller; beslenme işlevi gören vejetatif miçelyum ve çoğunlukla üreme elemanlarını (eşeyli spor, eşeysiz konidya) taşıyan havasal (aeryal) ya da üreme (reproduktif) miçelyumu olmak üzere iki çeşittir. Raket, nodüler, taraksı, spiral, favus samdanı ve köksü (rizoid) yapıdaki hifler mantar türlerine göre değişiklik gösterip, mikroskopik incelemede tanıya yardımcı olurlar

Maya şeklindeki mantarlar tek hücreli olup, yuvarlak veya oval (2-8 X 3-15 µm), bazen de silindirik şekilde olabilir ve Gram pozitif özellik gösterirler. Mayalar basitçe tomurcuklanarak üreyen mikroorganizmalardır. Tomurcuklanma sonucu oluşan yavru hücre (blastokonidya) ana hücre büyüklüğüne eriştiğinde kopar ve ana hücrenin aynısı olan yeni bir hücre meydana gelir. Bazen kopma olayı tam anlamı ile gerçekleşmeyebilir ve oluşan yeni hücreler birbirlerine yapışık kalarak zincir görüntüsü verirler; bu yapı yalancı hif ya da yalancı miçelyum olarak adlandırılır.

2.1 *Cryptococcus*'un Tarihçesi ve Taksonomisi

1884 yılında Buscke ve Busse 31 yaşındaki kadın hastanın tibia örneğini pirinç besiyerine ekerek *S.hominis* olarak adlandırdıkları suşu izole etmişlerdir. San Felice 1895 yılında şeftali suyunda gördüğü oluşumları, deney hayvanlarına şiringa etmiş. Bu oluşumların granülomatöz lezyonlar oluşturan kapsüllü maya hücreleri olduğunu tespit etmiş ve onlara *Saccharomyces neoformans* adını vermiştir. 1896 yılında Curtis bir hastanın kalçasına ait doku örneğinde gördüğü hücreleri Buscke ve Busse'nin bildirdiği olguya benzetmiş ve *Saccharomyces subcutaneus tumefaciens* olarak adlandırmıştır. P.Vuille 1901 yılında Busse ve Curtis'e ait suşu *Saccharomyces* cinsine özgü olan askospor içermemesi nedeni ile *C.hominis* olarak adlandırmış; San Felice'nin izole ettiği suş için de *C.neoformans* adını kullanmıştır. 1951 yılında Emmons, Amerika Birleşik Devletleri'nde ilk kez bu fırsatçı mantarı topraktan izole etmiştir. San Felice'nin çeşitli meyva sularından ayırarak *S.neoformans* adını verdiği kapsüllü maya ile O.Busse'nin (1894) insanda ve sığırlarda dokudan ayırarak *S.lithogenes* adını verdiği mantarın aynı olduğunu keşfederek *C.neoformans* olarak belirleyen (1952) Kreger-van Rij'dir [2,11,37,43,50,88].

Cryptococcus cinsinde 34 tür bulunmakta ve bunlar; kolonilerinin rengine, psödohiflerinin bulunup bulunmamasına, iki morfoloji ve 21 fizyoloji deneyine dayanarak birbirinden ayrılabilir [9,12]. *Cryptococcus* türleri içinde insanda ve hayvanlarda enfeksiyona yol açabilen ve patojen olarak kabul edilen tek tür *C.neoformans*'dir [12-16]. *C.laurentii* ve *C.albidus*'a bağlı enfeksiyonlar bildirilmiş ise de bunların anlamı şüpheli kalmıştır [1].

C.neoformans'in sistematikteki yeri;

Alem: Fungi

Bölüm: Basidiomycota

Sınıf: Basidiomycetes

Alt sınıf: Tremellomycetidae

Takım: Filobasidiales

Familya: Filobasidiaceae

Cins: *Cryptococcus*

Tür: *C.neoformans* (San Felice) Vuill. 1901

Sinonim: *Filobasidiella neoformans*-*F.bacillispora* Kwon-Chung 1975 (Eşeyli Form)

C.neoformans'ın son genetik çalışmalara göre, *grubii* (serotip A), *neoformans* (serotip D) ve *gattii* (serotip B ve serotip C) olmak üzere 3 varyetesi mevcuttur. Eşeyli üreme evresinde bazidiyosporları ile çoğalmaktadır. AD ve son zamanlarda BD serotip hibridleri de tanımlanmıştır [30].

2.2 *C.neoformans*'ın Dağılımı, Yayılımı ve Tanımlanması

2.2.1 Dağılımı

C.neoformans serotipleri tüm dünyada düzensiz dağılım göstermektedir. Serotip A'nın Kuzey Amerika'da çok nadiren görüldüğü, buna karşın Japonya, Brezilya, Güneydoğu Asya ülkeleri ve Avrupa'da sıklıkla saptandığı, B ve C serotiplerine ise tropik ve subtropik iklim bölgelerinde rastlandığı, serotip B'nin, C'den daha çok görüldüğü bildirilmiştir. Moleküler çalışmalar sonucunda yeni bir varyasyon olarak *C.neoformans var. grubii* (serotip A) tanımlanmıştır. *C.neoformans var. neoformans*'ın eşeyli şekli *F.neoformans*; *C.neoformans var. gattii*'nin eşeyli şekli ise *F.bacillispora* adını almaktadır [65].

C.neoformans var. neoformans tüm dünyada yaygın olup, özellikle kurumuş güvercin dışkısı ile kontamine nitrojenli toprakta bolca bulunur. Ayrıca seyrek olarak sebze, meyve ve süt ürünlerinden de izole edildiği bildirilmiştir. Son yapılan çalışmalarda *E.camaldulensis*, *C.neoformans var. neoformans*'ın doğal kaynakları arasında gösterilmektedir [25,26].

C.neoformans var. gattii'nin ise doğal kaynağı *E.camaldulensis*'dir. Çok nadiren badem gibi diğer ağaçlardan ve ağaç kovuklarından izole edilmiştir, koalalar (özellikle) ve yarasaların asemptomatik taşıyıcı olduğu gösterilmiş, ayrıca keçilerin akciğer infeksiyonlarından etken olarak soyutlanabildiği belirtilmiştir [65].

E.camaldulensis mayanın kolonizasyonunun ilk tanımlandığı ve en yaygın taramaların yapıldığı ağaç türüdür. Bu ortamlarda yüksek sayıda bulunan sporlar, havaya karışmakta, hayvan ve insanlarda kriptokokkoza neden olmaktadır [56].

2.2.1.1 *Eucalyptus*'un Sistematikteki Yeri ve *C.neoformans* İle İlişkisi

Bölüm: Spermatopyta

Alt Bölüm: Angiospermae (kapalı tohumlular)

Sınıf: Dicotyledoneae (çift çenekliler)

Alt Sınıf: Choripetalae (periyant yaprakları ayrı)

Grup: Dialypetaleae

Takım: Myrtales

Familya: Myrtaceae

Cins: *Eucalyptus*

Tür: *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh.

Okaliptüs cinsinde yaklaşık olarak 700 tür bulunmaktadır [21,33,44]. Herdem yeşil ağaç, bazen de ağaççık şeklinde bulunmaktadır. Okaliptüslerin doğal yayılış alanı Avustralya'dır. Bundan dolayı Avustralya ağaçları olarak da bilinmektedir. Okaliptüs ağaçları, sıtma hastalığının yaygın olduğu bölgelerde bataklıkların kurutulması amacıyla kullanıldığı için halk arasında bu ağaca "sıtma ağacı" adı da verilmektedir [32]. *E.camaldulensis* türü hızlı büyüyen ve 50 m. boya ulaşabilen bir türdür. Doğal yayılış alanlarında 20–700 m yükseltilerde ve genellikle düzlük ve düşük eğimli arazilerde bulunur [15].

Okaliptüsler, ait oldukları Myrtales takımının diğer familya örneklerinden, değişik dokularında lisigen eteri yağ bezelerinin bulunması ile ayrılır [4,78]. Okaliptüs ağacının yapraklarından elde edilen ve uçucu bir madde olan "okaliptol" adı verilen yağın, 1800'lü yıllarda çok çeşitli amaçlar için kullanıldığı, okaliptolün ilaç kodeksine girdiği ve günümüzde de kullanıldığı belirtilmektedir [32].

Okaliptüslerin yaprak şekilleri, vejetatif tomurcukları, çiçek tomurcuklarının üç aşamada gelişmesi, tomurcuklarındaki operkulum ve odunsu meyveleri (kapsül) en önemli özelliklerindedir [44,54].

Yapılmış araştırmalar incelendiğinde, türün doğal yayılış alanlarında ılıktan sığağa, yarı nemliden yarı kuruluğa kadar geniş bir aralığa sahip iklim koşullarında yetiştiği bilgisine varılmıştır. Bilgiler doğrultusunda, yayılış alanlarında en sıcak aya ait ortalama yüksek sıcaklık 27-40 °C, en soğuk aya ait ortalama düşük sıcaklık 3-15°C olduğu belirtilmektedir [15].

E.camaldulensis'in yayılışını sınırlayan en önemli faktör düşük sıcaklık faktörüdür. Doğal yayılış alanlarındaki toprakların tipik kumlu alüvyal toprak olduğu belirtilmiştir. Güney Avustralya'daki Eyre Yarımadası'nda bulunan bir orijini hariç, kalker ana kayasına uyum sağlayamadığı bilgisine varılmıştır [15].

Okaliptüsün ülkemizdeki yayılışına bakacak olursak; ilk defa 1885 yılında *E.camaldulensis* türü ile ülkemize girmiştir. Adana-Mersin demiryolunu yapan Fransız şirketi tarafından demiryolunun etrafına süs bitkisi olarak dikilmek amacıyla getirilmiştir. Doğu Akdeniz Bölgesi başta olmak üzere Akdeniz ve Ege Bölgesinde denize yakın yerlerde yetişmektedir (Şekil 2.1) [67].



Şekil 2.1 : Ülkemizde Okaliptüs'ün Yayılış Alanları

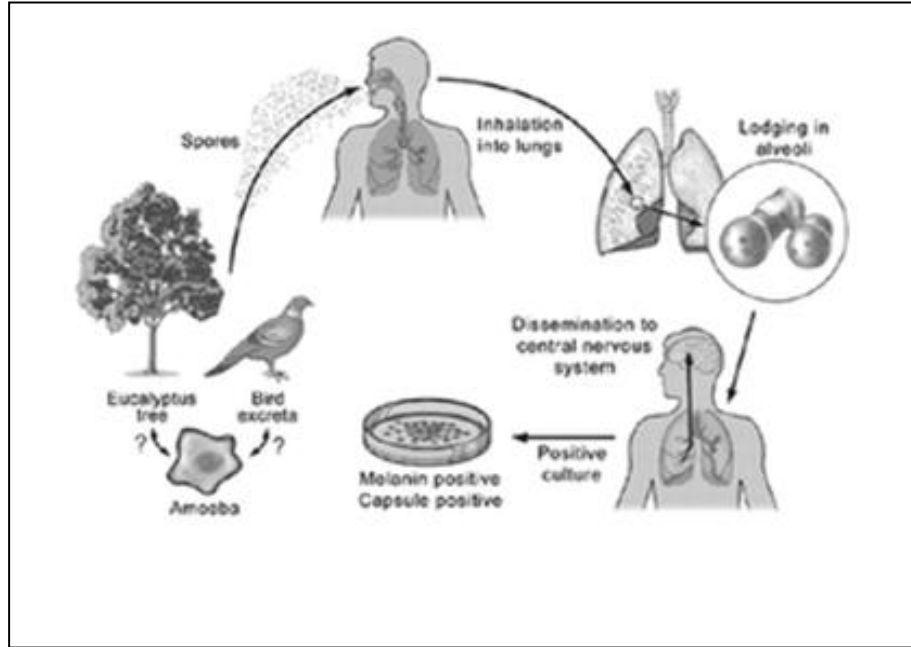
Ülkemizde bu tür aynı zamanda kıyı şeridindeki kumul alanların tespitinde kullanılmaktadır [34].

2.2.2 Yayılımı

C.neofomans doğa kaynaklı bir mantardır. Enfeksiyöz mantar yapılarının kolonize olduğu çevresel ortamdan insana solunum yolu ile bulaşmaktadır. *C.neofomans var. neofomans* nörotropik özellikli olduğu için en sık gözlemlenen klinik şekil meningoensefalitdir (menenjit); bunun yanısıra deri, akciğer, prostat, üriner sistem, göz, miyokard, kemik ve eklemlerde tutunabilmektedir

2.2.2.1 Konağın Bağışıklık Durumu

C.neoformans insanın normal florasına ait bir üye değildir, solunum yoluyla vücuda girer. Kriptokokkozun patogenezi henüz tam açıklanamamıştır. Maya hücreleri solunum epiteli tarafından atılamazsa alveollere ulaşır. Maya hücreleri alveollere vardığında ilk bağışıklık yanıt, alveoler makrofajlardandır; hastalık gelişip gelişmeyeceği bu aşamada belli olmaktadır [20,46,57]. Akciğerde bir süre tutunduktan sonra kan yoluyla dokulara ve beyine kadar yayılmaktadır. Konağın T hücrelerine bağımlı bağışıklık yanıtı yetersizse ve tedavi edilmezse yaşamı tehdit edebilen meningoensefalitlere (menenjit) sebep olur (Şekil 2.2). *C.neoformans* bağışıklık sistemi zayıf olanlarda daha etkilidir [51,57,68].



Şekil 2.2: *C.neoforman*'ın İnsana Ulaşımı [69].

Hayvan deneyleri ve hastalardan edinilen deneyimler; bağışıklık sisteminin koruyucu bileşiklerinin başlıca aktive edilmiş alveoler makrofajlar, doğal öldürücü (NK) hücreler ile hem CD4+ hem de CDS+ lenfositlerden oluşan hücre aracılığıyla olduğunu göstermektedir. In-vitro deneylerde de alveoler makrofajlardan başka, insan nötrofil ve monositlerinin, mikroglial hücrelerinin, NK hücrelerinin ve T lenfositlerinin de hücre içi ve hücre dışı mekanizmalarla kriptokokları öldürebildiği veya üremesini önleyebildiği gözlemlenmiştir. Konağın hücresel bağışıklık yanıtı iyi işliyorsa makrofajlar aktive olur ve mikroorganizmayı çevreleyip öldürür, sonuç olarak hastalık gelişmez. Hücresel bağışıklık yanıtı bozukluğuna bağlı olarak makrofaj aktivasyonu olmazsa enfeksiyon ortaya çıkabilir [20,46,57].

2.2.2.2 C. neoformans'ın virülens faktörleri:

Çaprazlaşma (Mating) Tipi

Mantarlar eşeysiz ve eşeyli olmak üzere iki farklı şekilde üremektedirler. Eşeysiz şekil maya hücrelerinden oluşur ve tomurcuklanarak veya nadiren bölünerek üremektedirler. Bu haploid bir hücreli maya şekli *C.neoformans*'ın doğadan ve insan enfeksiyonlarından elde edilen şeklidir [54].

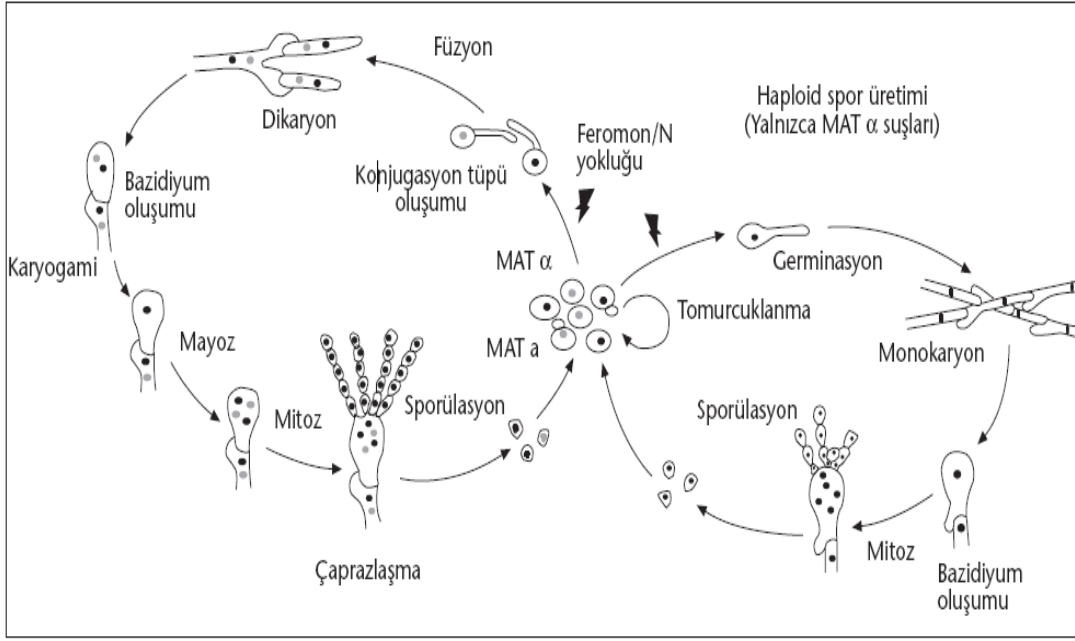
Bir hücrenin haploid evreden diploid evreye ve mayoz bölünmeye geçmesi için gerekli tüm özgül etkinlikleri içermektedir. Bu etkinlikler MAT (Mating Type) lokusunda yer alan genetik bilgi ile belirlenir. Kodlanan düzenleyici proteinler, haploid, "a" ya da "α" çaprazlaşma tipindeki özgül genlerin ifade edilmesini denetler. Bu gen ürünlerinin kaybı durumunda, çoğalamayan, steril (kısır) mutantlar oluşur [54].

Kwon Chung, *C.neoformans*'ın α ve a olarak ayrılan iki çaprazlama tipi olduğunu; bu iki tipin belirli fakir besiyerlerinde çaprazlanmasıyla teleomorf bir bazidiyomisetin geliştiğini bulmuş; bu tam şekil *Filobasidiella* cinsinde sınıflandırılmıştır. α ve a çaprazlama tipleri arasındaki konjugasyon sonucunda kanca bağlantılar yapabilen dikaryotik hiflerden oluşan teleomorf şekil gelişir; bazı hifler bazidiyum denen özelliştirmiş yapılar geliştirmektedir [54].

Serotip A ve D kökenleri çaprazlandığında gelişen teleomorf şekil *F.neoformans* var. *neoformans* ve B ve C kökenleri çaprazlandığında *F.neoformans* var. *bacillispora* olarak adlandırılmaktadır. Doğadan ve hastalardan ayrılan kökenler içinde α çaprazlama tipinin a'dan fazla olduğu görülmektedir [20,35,51,97].

Yapılan çalışmalara göre a ve α hücreleri dikaryotik filamentler oluşturmak üzere füzyon yapmakta; genişlemiş bazidyumlar (taban) meydana gelmekte, geçici bir a/α diploidi oluşturmak üzere çekirdekler arası füzyon ve bunu takiben mayoz bölünme olmaktadır. Sonuç olarak, zincirler oluşturan a ve α haploid yavrular yani enfektif sporlar üretilmektedir [56, 60].

Çaprazlaşma konjugasyon tüpünün oluşumu ile başlar, hücreler füzyona gider ve dikaryotik filamentler oluşur. Çaprazlaşan filamentlerdeki çekirdekler arası füzyonu (karyogami) takiben terminal bazidyumlar oluşur. Bunu mayoz ve sporlanma izler ve uzun zincirler oluşturan bazidyosporlar meydana gelir (Şekil 2.3) [54].



Şekil 2.3: *C. neoformans*'ın Yaşam Döngüsü [54].

Bu mikroorganizmanın hem serotipleri hem de çaprazlaşma tipleri virülans ile ilgilidir. Dünya genelinde en sık saptanan serotip A, serotip D'den daha patojendir; A α suşları da D α suşlarına göre daha virülandır. A serotipinin a ve α izolatları arasında virülans farkı saptanmamıştır, ancak birlikte enfeksiyon sırasında α hücreler kan-beyin engelini aşmada daha başarılıdır. Bununla ilgili olarak öne sürülen görüşlerden birisi; makrofajlar içine alınan sporelerde MAT genlerinin indüklenmesini takiben üretilen feromonların, α hücrelerde virülans ile ilgili olan lakkaz ve üreaz enzimlerinin fazlaca üretilmesine yol açtığı ve böylece hücrelerin santral sinir sisteminde daha fazla yayıldığı şeklindedir. İkinci hipotez, α hücre feromonlarının a tipi hücrelerde boyutça büyümeye yol açması ve böylece kanbeyin engelini aşamaz hale gelmelerine neden olmasıdır [61].

2.2.3 Tanımlanması

Bu cinsin türleri hücre duvarında ksiloz içerir, şekerleri fermente etmez; inozitolu asimile eder, üreaz oluşturur ve % 0.1 siklohekzimide dirençlidir [11,50]. *C.neoformans*; 48-72 saatte 25-37°C'de yumuşak kıvamlı, parlak, mat, s şeklinde, çoğunlukla mukoid, sabouraud besiyerinde krem, sarımsı, pembe renkli koloniler oluşturmaktadır. Spesifik besiyeri olan Staib (kafeik asit, kuş tohumu) agar besiyerinde kahverengi, siyah koloniler yapmaktadır. 37°C'de üreyebilmesi ve Staib agar besiyerinde fenol oksidaz enzimi sayesinde melanin oluşturarak kahverengi siyah koloniler meydana getirmesi, *C.neoformans*'i diğer türlerden ayıran özelliğidir. Sert hücre duvarına sahip olup, tek veya çoklu tomurcuklu hücreler görünümündedir.

Kapsül kalınlığı (3.5-7.5 µm) suşa özgü olmakla birlikte çevre koşulları ile de yakından ilişkilidir. %1 pepton ilavesi kapsül oluşumunu hızlandırır. Kapsül varlığı en iyi olarak çini mürekkebi ile boyalı preparasyonda saptanmaktadır. *Rhodotorula* cinsinden, inozitolü asimile etmesi; *C.glabrata*'dan, inozitolü asimile etmesi ve üreaz oluşturması ile farklanır

3. MATARYEL VE YÖNTEM

3.1 Araştırma Bölgesinin Tanımı:

Ege Bölgesi, insan patojeni mantarların varlığı ve yayılımı yönünden değerlendirildiğinde, iklim çeşitliliği özellikleri nedeni ile çok sayıda insan fungal patojenine odak durumundadır. Bugün için saptanabilen, doğada varlığı gösterilebilen etkenlerin yanında, farklı iklim ve çevre özellikleri nedeni ile araştırmalara çok açık bir bölgedir. *C.neoformans*'ın Gökova-Akyaka bölgesinde ilk izolasyonu *E.camaldulensis* döküntülerinden 2004'de rapor edilmiştir. Aynı bölgede izolasyonlar zaman içinde yapılabilmektedir [28,29].

Araştırma 2010-2011 yılları arasında, daha önceki benzer çalışmalarla *C.neoformans* izolasyonunun yapıldığı Gökova körfezinde, Akyaka-Akçapınar yolu üzerinde, 37° 03' 14 Kuzey, 28° 21' 33 Doğu ile 37° 01' 37 Kuzey, 28° 21' 32 Doğu koordinatları arasında okaliptüs ağaçlarının yoğun bulunduğu bölgede (Şekil 3.1) yapılmıştır.



Şekil 3.1: Araştırma Bölgesi

3.1.1 Tarihçesi

Akyaka ve Gökova bölgesinde bilinen tarih M.Ö. 2600 yıllarına kadar dayanmaktadır. Akyaka'nın şu anki bulunduğu yörede Karia Uygarlığı'na ait İdima adında bir kent kurulduğu söylenilmektedir. Bölgede yapılacak gezilerde Karia, Rodos ve Ada uygarlıkları, Mısır, Asdur, İon, Dor, Pers, Makedon, Suriye, Roma, Bizans, Selçuklu ve Osmanlı medeniyetlerinin izlerini görmek mümkündür. Akyaka beldesi 1988 yılında Çevre Koruma Bölgesi'ne dahil edilmiştir [Anonim].

3.1.2 İklimi

Akdeniz iklimi ve enlem etkisine bağlı olarak yazları artan sıcaklık değerleri, kışları deniz etkisine ve yüksekliğe bağlı olarak kıyılarda ılık, dağlık kesimlerde düşüktür. Kentte mutlak nem oranı yüksektir. Kurak mevsim süresince akşamları nem yoğunlaşarak bitkilerin ve toprağın üzerinde görülmektedir. Yaz mevsimi süresince rüzgarlar KD., kış mevsimi boyunca da GB. den eser [Anonim].

3.1.3 Bitki Örtüsü

Akdeniz bitki topluluğu türlerini içermektedir. İklim ve toprak koşullarına göre şekillenen doğal bitki örtüsü çok çeşitli ve zengin bir flora oluşturur. Kış aylarında aşırı düşük sıcaklık ve kuraklık olmaması bitkilerin gelişimi için elverişlidir. Yaz kuraklığı çok belirgin olduğundan kurakçıl (kserofit) formasyonlar gelişmiştir. Bunlara "maki formasyonu" denir. Yüksek dağlık alanlarda ise iğne yapraklı ormanlar bulunmaktadır [Anonim].

3.2 Materyel

3.2.1 Proje materyallerinin toplanması

Doğal kaynak olan okaliptüs ağaçlarından örnek alma amacı ile çalışma alanı olarak seçilen Muğla'nın Akyaka beldesine gidilmiştir. Bu okaliptüs ağaçlarının derin kovuklu olanlarının tamamı çalışmaya dahil edilmiştir. Örnek alımları ve rutin takipleri 10.09.2010-26.09.2011 tarihleri arasında iki ay aralıklarla gerçekleştirilmiştir. Çalışma alanındaki ağaçlar numaralandırılmıştır ve her bir ağacın GPS kayıtları (Tablo 3.1) alınmıştır.

Tablo 3.1: Çalışmaya Alınan Okaliptüs Ağaçlarının Numaraları ve GPS Kayıtları

ÖRNEK NO	GPS KAYDI	
1	35620898 D	4101718 K
2	35620887 D	4101685 K
3	35620887 D	4101686 K
4	35620888 D	4101649 K
5	35620896 D	4101587 K
6	35620896 D	4101589 K
7	35620892 D	4101545 K
8	35620891 D	4101493 K
9	35620899 D	4101252 K
10	35620894 D	4101254 K
11	35620899 D	4101163 K
12	35620903 D	4101163 K
13	35620902 D	4101067 K
14	35620900 D	4101021 K
A1	35620901 D	4100942 K
A2	35620900 D	4100846 K
A3	35620901 D	4100829 K
A4	35620895 D	4100811 K
A5	35620897 D	4100688 K
A6	35620900 D	4100636 K
A7	35620903 D	4100605 K
A8	35620904 D	4100565 K
A9	35620900 D	4100456 K
A10	35620904 D	4100400 K
A11	35620904 D	4100350 K
A12	35620898 D	4100220 K
A13	35620907 D	4100004 K
A14	35620908 D	4099801 K
A15	35620908 D	4099727 K
A16	35620908 D	4099718 K
A17	35620909 D	4099308 K
A18	35620907 D	4099987 K

Numaralandırma işlemi ve GPS kaydının yapılması takibinde; bu ağaçlardan Randhawa ve arkadaşları tarafından önerilen eküvyon tekniği ile örnekler alınmıştır [7]. Bu tekniğe göre; deney tüplerinde, 50-60 cm uzunluğunda bambu çubukları ile hazırlanmış steril eküvyonlar serum fizyolojik ile ıslatılmıştır. Eküvyon ile ağaçtaki kovuğun çeşitli bölgelerinden Şekil 3.2’de görüldüğü gibi örnekler alınmıştır. Eküvyonun pamuklu kısmı 2 ml steril %0.9 NaCl içine batırılmış olarak aynı gün içinde oda ısısında laboratuvara ulaştırılmıştır [70].



Şekil 3.2: Okaliptüs Ağaçlarından Örnek Alma İşlemleri

Laboratuar çalışmalarında kullanılmak üzere, örnek alınan ağaçların genç ve yaşlı odun döküntüleri de ayrı ayrı numaralandırılmış ve plastik torbalara alınmıştır. Odun döküntüleri 20-25 gram olacak şekilde ayarlanarak, arazi çalışmaları sonucu laboratuara getirilmiştir. Tüm odun döküntüleri, yapraklar incelemeye dahil edilene kadar itina ile gölgede kurutulmuştur [16].

3.2.2 Besiyerlerinin hazırlanması

C.neoformans'ın varlığını saptamak için üç farklı besiyeri hazırlanmıştır. Kriptokokların pigment üretme özelliklerinden faydalanmak için daha çok pigmentli besiyerleri tercih edilmiştir. Daha önce bilimsel olarak varlıkları test edilmiş besiyerleri kullanılmıştır. 1000 cc'lik Ph 6 değerindeki besiyeri içerikleri aşağıda verilmiştir:

Staib Besiyeri

- 50 gr kuş yemi
- % 1 KH_2PO_4
- % 5 Glukoz
- %0.1 Bifenil
- % 0.4 gr/l Kloramfenikol
- % 1 Kreatin
- 16 gr/l Agar

PDA

- 300 gr patates
- 20 gr Dekstroz
- 20 gr Agar

V8 Besiyeri

- 200 ml V8 (sebze suyu)
- 3 gr CaCO_3
- 20 gr/l Agar

Besiyeri içerikleri hassas terazide itinayla tartılarak izoterm balonlara aktarılmıştır. Distile su yavaş yavaş eklenerek elde çalkalanmıştır. Bu sayede karışım daha homojenize hale gelmektedir. İçerikler otoklavlanmadan önce benmari tekniği ile kaynatılmıştır. Besiyerleri hazırlandıktan sonra 121°C 'de 1 atm basınçta 15 dakika otoklavlanmıştır. Otoklavlanan besiyerleri 50°C 'ye geldiğinde petrilere 2 mm kalınlıkta olacak şekilde dağıtılmıştır (şekil 3.3) [52,79,80,82].



Şekil 3.3 : Besiyerlerinin Petrilere Dağıtılması İşlemi

3.2.3 Örneklerin Besiyerlerine Ekimi

Çalışma alanından laboratuvar ortamına getirilen örneklerin besiyerlerine ekimleri gerçekleştirilmiştir. Ekim yöntemi olarak eküvyonla yayma tekniği kullanılmıştır (Şekil 3.4).



Şekil 3.4 : Örneklerin Besiyerlerine Ekim İşlemleri

Besiyerlerine ekimleri gerçekleştirildikten sonra 30°C'de inkübasyona bırakılmıştır. 2 gün ara ile sürekli kontrolleri yapılmıştır.

3.2.4 Yurt dışından ithal edilen saf *C.neoformans* (A α) ATCC 208821 ve *C.neoformans* (Aa) IUM 96-2828 suşlarının uygun laboratuvar şartlarında canlandırılması

3.2.5 PDA Besiyerine Suşların Aktarımı

Dondurulmuş olarak gönderilen saf suşlar oda sıcaklığında bir gün bekletilmiştir. Sıvı forma dönüşen suşlar işleme alınmıştır. Maya ve küf florasının belirlenmesinde kullanılan PDA (Potato Dextrose Agar, Merck 1.10130) besiyeri hazırlanmıştır. 30°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. Canlandırma işlemi için steril edilmiş pipet uçları kullanılmıştır. 10 μ l *C.neoformans* (Aa) IUM 96-2828 suşundan alınarak PDA besiyerine aktarılmıştır. Yine 10 μ l *C.neoformans* (A α) ATCC 208821 suşundan alınarak PDA besiyerine Şekil 3.5'de görüldüğü üzere aktarımı gerçekleştirilmiştir [16].



Şekil 3.5: PDA Besiyerine Aktarım

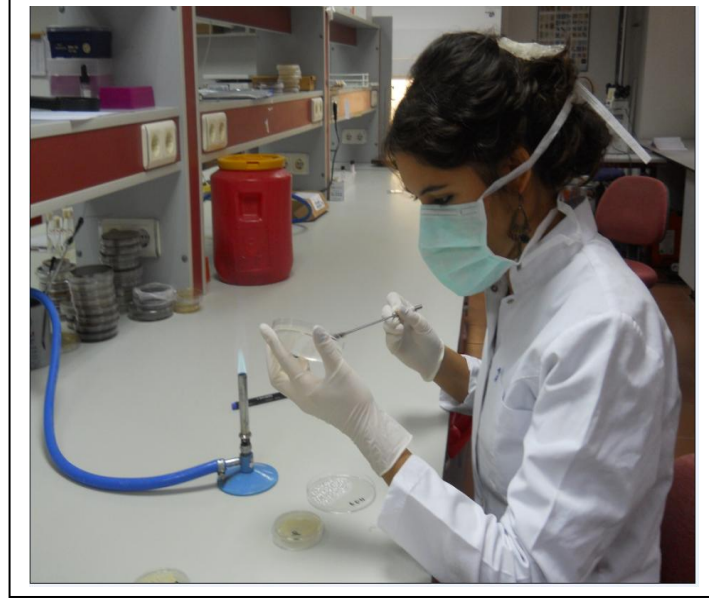
3.2.6 Sırasıyla Canlandırma Ekim Aşamaları

- PDA içeren petrilerin üzerine suşların numaraları ve tarih not edilmiştir. Daha sonra ortaya çıkabilecek karışıklığı önlemek amacı ile bu tür detaylara sürekli dikkat edilmiştir.



Şekil 3.6: Besiyerlerinin Numaralandırılması ve Tarihlendirilmesi

- Ekim işlemi yuvarlak uçlu öze ile gerçekleştirilmiştir. Yuvarlak uçlu öze bir besiyerinden diğer besiyerine aynı zamanda bir ekim bölgesinden diğer ekim bölgesine geçerken her seferinde bunzen bekinde streil edilmiştir.
- Streil edilen yuvarlak uçlu öze ile Şekil 3.6'da görülen numaralandırılmış ve tarihlendirilmiş petrilere aktarılan saf suşlar Şekil 3.7'de görülen besiyerine yayılmıştır.



Şekil 3.7: Besiyerine Ekim

Ekim işlemi sonrasında 30°C'de 48-72 saat inkübeye bırakılmıştır. Üreme işlemi gerçekleştikten sonra, canlandırmış olduğumuz *C.neoformans* (Aa) IUM 96-2828 ve *C.neoformans* (Aa) ATCC 208821 suşu stok görevini üstlenecektir.

3.2.7 Mating aşaması

Suşları canlandırma işlemi 48-72 saatte son bulduktan sonra üreyen *C.neoformans* suşları mating yapması için işleme alınmıştır. Standart olarak tanımlanmış besiyerleri olan V8, Staib besiyerleri kullanılmıştır. Ayrıca odun döküntülerinde matingi gözlelemek amacı ile odun döküntülerinden besiyerleri hazırlanmıştır. Buradaki amaç *C.neoformans* (Aa) IUM 96-2828 ve *C.neoformans* (Aa) ATCC 208821 suşları ülkemizde doğal yollarla mating yapıp yapmadığını araştırmaktır [16].

3.2.8 Odun Döküntülerinden Besiyeri Hazırlanması

E.camaldulensis ağaçlarının; kabuk, dal ve yaprak kısımları gölgede kurutulmuş ve değirmende öğütülmüştür (Şekil 3.9). Toz halindeki kısımlar böylece besiyeri için uygun hale getirilmiştir. Odun döküntüleri besiyeri hazırlanması için kullanılmıştır [14].

Besiyeri içeriği (300 cc'lik);

-10 gr Toz odun döküntüsü

-2 gr Agar

-100 ml Steril distile su

-0.1 gr Kloramfenikol

Belirtilen malzemeler hassas terazi ile tartılmıştır. Yukarıda bahsedilmiş olan besiyeri hazırlama prosedürüne göre işlemleri gerçekleştirilmiştir. Besiyerleri petrilere dağıtılmıştır. Besiyerleri bir gün dinlenmeye bırakılmıştır (04.10.2011) [16].



Şekil 3.8: Toz Haline Getirilen Odun Döküntüsü

Elde etmiş olduğumuz *C. neoformans* (Aa) IUM 96-2828 ve *C. neoformans* (Aa) ATCC 208821 stokları 05.10.2011 tarihinde işleme alınmıştır. Mating işlemi için a ve α suşlar ilk olarak ayrı ayrı ele alınmıştır.

Mating için;

- 16*100 cm'lik steril tüpelere 2 ml steril distile su otomatik pipet yardımı ile aktarılmıştır.

- Bunzen bekinde steril edilen yuvarlak uçlu öze ile stoğumuzdan örnek alınmıştır. Örnek özenin ucuna az miktarda alınarak steril tüplerin içine dikkatlice daldırılmıştır (Şekil 3.19).



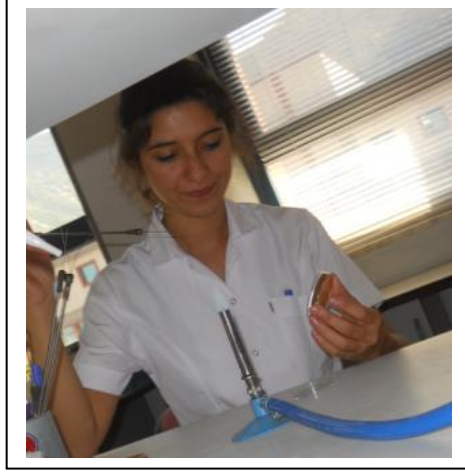
Şekil 3.9 : Stoklardan Mating Yapmak Üzere Numune Alımı

- *C.neoformans* (Aa) ve *C.neoformans* (Aα) suşları için ayrı ayrı aynı işlemler yapılmıştır. Vortekste homojenize edilmiştir.
- 1000 rpm' de 15 dk santrifüj edilmiştir.
- Supernatant kısmı dökülüp üzerine 2 ml steril distile su ilave edilerek aynı işlemler iki defa olacak şekilde devam edilmiştir.
- En son aşamada iki defa santrifüj edilen suşlarımızın supernatant kısımları tekrar dökülmüştür. 1'er ml olacak şekilde iki suşa da steril distile su ilave edilmiştir.
- Tüpler vortekslenmiştir.
- Daha sonra iki
- suş tek tüpte mating yapmak üzere karıştırılmıştır.



Şekil 3.10: Mating İçin Suşların Karıştırılması

- Besiyerine ekimlerin yapılması için suşlarımız hazır hale gelmiştir (Şekil 3.11).



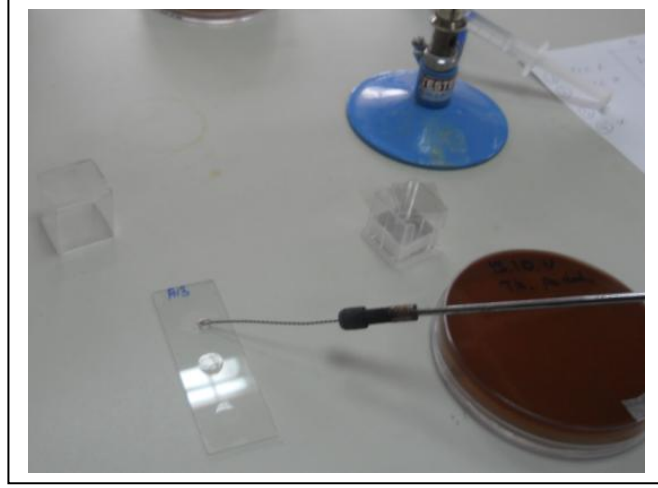
Şekil 3.11: Suşların Odun Döküntülü, V8 ve Staib Besiyerlerine Ekimleri (Matingi gözlemek için)

- Ekim işlemlerinin akabinde besiyerlerinin kurumaması için petripler parafilm ile sarıldı. 25 °C'de, nemli ortamda, 2-5 hafta süreyle inkübasyona bırakıldı (Şekil 3.12) [16].



Şekil 3.12: Besiyerlerinin İnkübasyonu

- İnkübasyon süresinden sonra bazidiospor oluşularını gözlemek amacı ile preparatlar hazırlanmıştır. Preparat hazırlanması işleminde; Steril distile su lamın üzerine damlatılır. Mating yapmaları için 2-5 hafta arası beklettiğimiz besiyerlerimizden yuvarlak uçlu özenin ucu ile kolonilerden alınmıştır. Şekil 3.13'de görüldüğü gibi lamın üzerinde steril distile su damlatmış olduğumuz alanda, öze ucuna almış olduğumuz örnek yayılmıştır. Üzerine lamel hava kabarcığı oluşturmayacak şekilde kapatılmıştır.



Şekil 3.13: Preparatların Hazırlanması

- Preparat hazırlama aşaması sona erdikten sonra, mikroskopta bazidiospor ve telomorf oluşumunu gözlemlemek üzere tarama yapılmıştır (Şekil 3.14). Tarama işlemi 40x'lik objektive gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.14: Mikroskopta Tarama İşlemi

3.3 Okalıptüs Ağacından Uçucu Yağ Eldesi

Muğla'nın Akyaka bölgesinden okalıptüs ağacına ait bitki materyalleri toplanmıştır. Bitkinin teşhis işlemi Pamukkale Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü herbaryumunda gerçekleştirilmiştir. Örnekler laboratuvar ortamına getirilene kadar, polietilen torbalarda ve kuru havada muhafaza edilmiştir. Laboratuvar ortamına getirilen bitki örnekleri karton tabakalar üzerine yayılarak gölgede kurutulmuştur. Uçucu yağ ekstraksiyon işlemine kadar bitki materyalleri oda sıcaklığında, 22 ± 3.5 °C, saklanmıştır.

Uçucu yağ ayırma , Avrupa kodeksine uygun olarak clevenger tipi su buharı damıtma (distilasyon) cihazı ile 3 saatte gerçekleştirilmiştir. İzole edilen yağlar susuz sodyum sülfat üzerinde kurutulduktan sonra +4°C'de muhafaza edilmiştir.

Uçucu yağların verimi belirlenerek, uçucu yağın kompozisyonu kalitatif ve kantitatif anlamda belirlenmiştir. Uçucu yağların kimyasal analizleri, Süleyman Demirel Üniversitesi Deneysel ve Gözlemsel Öğrenci Araştırma ve Uygulama Merkezi' nde bulunan QP 5050 GC-MS (Gaz kromatografisi- Kütle spektrometrisi) ile yapılmıştır [12,22].

3.3.1 Örnek Hazırlama

Clevenger apareyi ile okalıptus bitkisinin uçucu yağı elde edildikten sonra; 20 µl uçucu yağ hekzanla 1000 µl'ye tamamlanmıştır. QP 5050 GC-MS sistemine verilmiştir.

3.3.2 GC ve GC– MS Analizleri

Kromatografik işlem GC-MS sistemi kullanılarak yapılmıştır. Taşıyıcı gaz olarak Helyum kullanılmış; dedektör 70 eV ve sıcaklığı 250 °C, akış hızı (psi) 10, GC (Gaz kromatografisi)' nin sıcaklığı 60 °C' den 220 °C' e dakikada 2 °C' lik artışla ulaşmakta ve daha sonra 20 dk. 220°C' de beklemektedir. Uçucu yağlardaki bileşenlerin karakterizasyonu elektronik kütüphaneler (WILEY, NIST ve TUTOR) kullanılarak yapılmıştır.

Analizler Süleyman Demirel Üniversitesi, Deneysel ve Gözlemsel Öğrenci Araştırma ve Uygulama Merkezi' nde bulunan QP 5050 GC-MS (Gaz kromatografisi- Kütle spektrometrisi) ile yapılmıştır [12,22].

4. BULGULAR

Akyaka bölgesinden alınan örnekler laboratuarda işleme alınmasından 15-20 gün sonra, kriptokokların ürediği gözlemlenmiştir. Bu zamana kadar yapmış olduğumuz çalışmada okaliptüs ağaçlarının 32 örneği arasından 11 tanesinde (%36,6) üreme gözlenmiştir. Üremeleri elde ettiğimiz besiyerleri: Staib, V8, PDA'dır. Üremeyi gözlemlediğimiz ağaçlar: 1, 6, 14, A1, A2, A4, A5, A10, A12, A13, A14 ile kodlanmış ağaçlardır (Tablo 4.1).

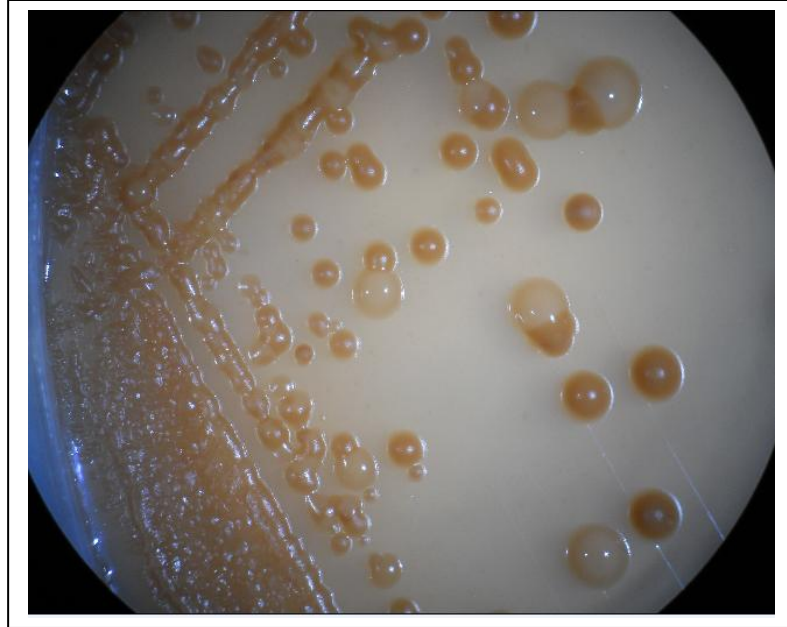


Şekil 4.1: Staib Besiyerinde *C.neoformans*'ın Varlığının Gösterilmesi

V8 ve Staib besiyerinde inkübasyon sonrasında oluşan *C.neoformans* kolonileri Şekil 4.2'de görülen mikroskop ile fotoğraflanmıştır.

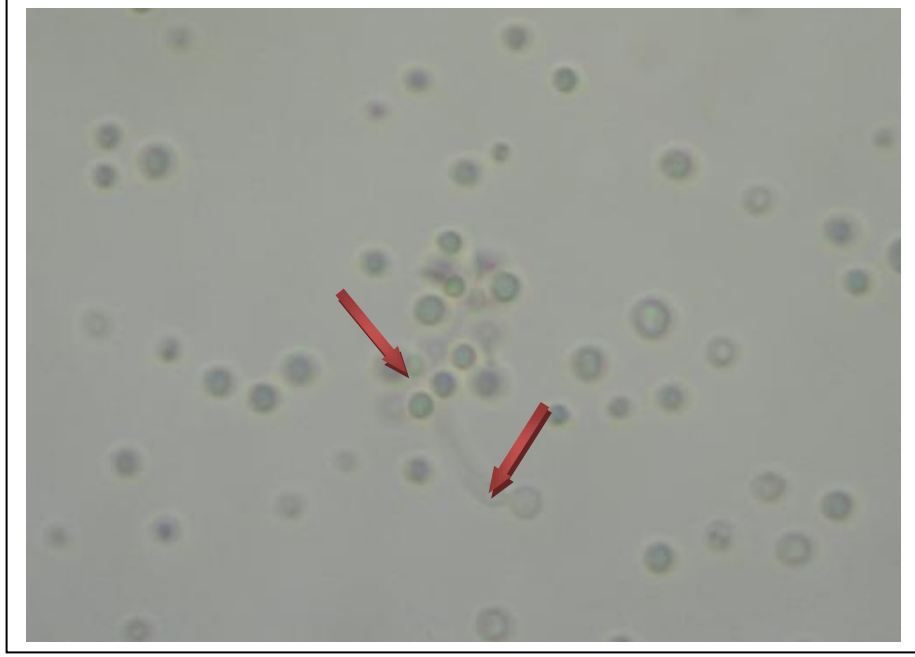


Şekil 4.2: Mikroskopta Fotoğraflama Aşaması



Şekil 4.3: V8 Besiyerindeki *C.neofomans* Kolonileri

Proje kapsamında, araştırmanın sonucunda görülmesi gereken en önemli safha *C.neofomans*'in bazidyosporlanması aşamasıdır. Şekil 4.4'de görüldüğü üzere bazidyosporlanma aşaması, konjugasyon tüpü oluşumu kontrol besiyerlerinde (V8) gözlenmiştir.



Şekil 4.4: V8 Besiyerinde Hif ve Konjugasyon Tüpü Oluşumu

Çalışmanın devamında ise; ülkemizde *C.neoformans* (Aa) ve *C.neoformans* (Aa) formlarının doğal şartlarda da bazidyospor oluşturup oluşturmadığı yani eşeyli formda olup olamayacağı tespit edilmeye çalışılmıştır. Bu amaç doğrultusunda tespit için; *E.camaldulensis* ağaçlarının her birinden almış olduğumuz odun döküntülerinden yapılan besiyerleri kullanılmıştır. 2-5 haftalık süre zarfı içinde değerlendirilmeye alınmıştır.

E.camaldulensis mayanın kolonizasyonunun ilk tanımlandığı ve en yaygın taramaların yapıldığı ağaç türüdür . Bizim yapmış olduğumuz bu çalışma ile bir kez daha doğruluğu gösterilmiştir. *E.camaldulensis* döküntülerini içeren besiyerinin %59,3'ünde konjugasyon tüpü gözlenmiştir. Yaşam döngülerindeki eşeyli üremenin ilk safhası olan konjugasyon tüpünü oluşturabilmişlerdir. Arazi çalışması akabinde laboratuvar ortamındaki ekimler sonucunda pozitif olarak değerlendirilmeyen ağaçlardan alınan odun döküntülerinde de yine *C.neoformans*'in üremesinin olduğu gösterilmiştir. Tablo 4.1'de *C.neoformans*'in mating yaptığı ağaçlar verilmiştir.

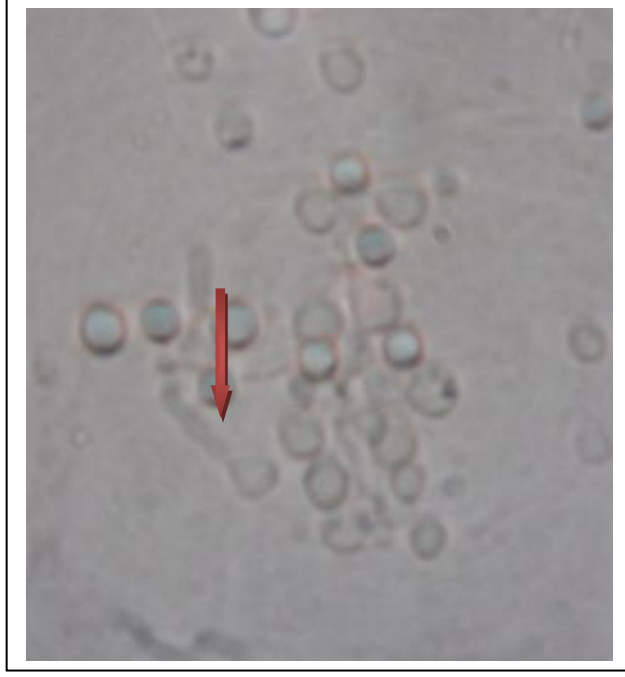
Tablo 4.1: *C.neoformans*'ın *E.camaldulensis*'ten izole edilen ve eşeyli üremelerinin dağılımları

Okaliptus Ağaçlarının Numaraları	Staib Besiyerinde <i>C.neoformans</i> Varlığı Gösterilen	Okaliptus Odun Döküntülü Besiyerinde Mating Yapanlar
1	+	+
2	-	-
3	-	-
4	-	+
5	-	-
6	+	+
7	-	+
8	-	-
9	-	-
10	-	+
11	-	-
12	-	-
13	-	+
14	+	+
A1	+	+
A2	+	+
A3	-	+
A4	+	+
A5	+	+
A6	-	+
A7	-	-
A8	-	-
A9	-	+
A10	+	+
A11	-	+
A12	+	+
A13	+	+
A14	+	+
A15	-	-
A16	-	-
A17	-	-
A18	-	-

C.neoformans izolasyonu yapılabilen 11 *E.camaldulensis* ağacına karşılık, araştırmaya alınan örneklerden 19'un eşeyli üreme gösterilmiştir (Tablo 4.2).

Tablo 4.2: *C.neoformans* kolonizasyonunun saptandığı ve eşeyli üremenin gösterildiği *E.camaldulensis* odunlarını içeren besiyerlerinin karşılaştırılması

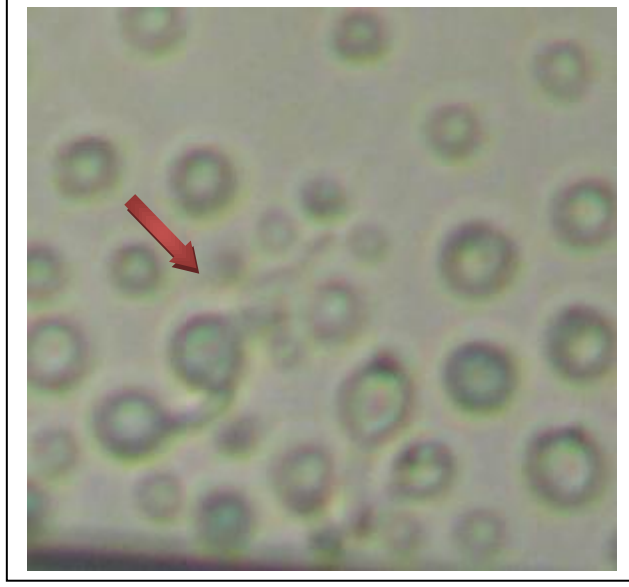
		<i>E.camaldulensis</i> 'ten <i>C.neoformans</i> izolasyonu		Toplam
		+	-	
Eşeyli üreme	+	11	7	18
	-	-	14	14
Toplam		11	21	32



Şekil 4.5: *E.camaldulensis* odun döküntülerinde konjugasyon tüpünün gösterilmesi (pozitif olarak değerlendirilen ağaç)



Şekil 4.6: *E.camaldulensis* odun döküntülerinde konjugasyon tüpünün gösterilmesi (negatif olarak değerlendirilen ağaç)



Şekil 4.7: *E.camaldulensis* odun döküntülerinde konjugasyon tüpünün gösterilmesi (negatif olarak değerlendirilen ağaç)

C.neoformans'in doğadan izole edilebildiği okaliptüs ağaçlarının (Tablo: 4.1) tümünde *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill, mantarının bulunduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.8).



Şekil 4.8:  kaliptus Ağaçlarının Gövdesinde Bulunan *L.sulphureus* Mantarı.

Okaliptüs Yağının İçeriği

Tablo 4.3: *E.camaldulensis* Yapraklarından Elde Edilen Uçucu Yağ Bileşenleri

No	Bileşenler	RT	%
1	alpha pinene	6,4	4,41%
2	beta pinene	9	8,88%
3	sabinene	9,4	0,53%
4	beta myrcene	11	0,46%
5	alpha – phellandrene	11,3	2,88%
6	alpha terpinene	11,9	0,44%
7	limonene	12,9	1,57%
8	1,8- Cineole	13,3	18,94%
9	gamma terpinene	15,1	0,88%
10	o-cymene	16,4	15,85%
11	beta terpineol	33,9	1,73%
12	pinocarvone	34,8	0,52%
13	terpinene-4-ol	36,5	5,18%
14	myrtenal	38,6	0,85%
15	carveol	40,9	0,61%
16	cryptone	41,8	11,54%
17	piperitol	44,8	0,30%
18	phellandral	45,1	1,39%
19	cuminal	48	2,56%
20	p-cymen-8-ol	50,7	0,81%
21	p-cymen-7-ol	64	0,92%
22	spathulenol	65,4	11,02%
23	ledene oxide	66,2	0,20%
24	carvacrol	69	0,95%
25	isopathulenol	70,2	0,43%

Türkiye’de bulunun (Akyaka bölgesi dışındaki) *E.camaldulensis* ağaçları ve Akyaka bölgesinde bulunan *E.camaldulensis* ağaçlarının yağ içeriklerine bakıldığında; *Cryptococcus*’ların Akyaka bölgesinde bulunabilmesi arasında anlamlı bir veri tespit edilememiştir.

5. TARTIŞMA

Ülkemizde yapılan okaliptüs florası ilişkili *C.neoformans* var. *grubii* izolasyonu, 1175 ağacın tarandığı sahalar içinde en düşük pH aralığına sahip (6.4-7.0) olan Gökova bölgesinden tek köken olarak izole edilebilmiştir [8]. Mayanın dış ortamda canlı kalabilmesi, ortamda fizyolojisi için gerekli olan besinsel desteğin odun dokudan sağlanmasına, ortamın nem ve sıcaklık gibi mikroklimatik özelliklerine bağlı olduğu görülmektedir [16,71]. Bu durum araştırmanın yürütüldüğü Akyaka bölgesinin çevresel faktörleri değerlendirildiğinde, ortamın *C.neoformans*'ın kolonizasyonuna uygun olduğunu göstermektedir.

Çevrede kolonize olan *C.neoformans*'ın hastadan izole edilen kökenler kadar kuvvetli olmasa da virulan köken olduğu kabul edilmektedir [17]. *C.neoformans*'ın doğada eşeyli çoğalabilmesi Dünya üzerinde mayanın yayılabilmesine olanak sağlamakta, immünsüprese hastalar için risk ortamı oluşturmaktadır [63]. Mantarlarda eşeysiz ve eşeyli çoğalma fazları farklı çevresel koşullara göre belirlenir; özellikle nitrojen yokluğunda eşeyli çoğalmaya gidilir [64]. Çalışmamızda *E.camaldulensis* odun döküntüleri ile yapılan besiyerlerinde yine bu tür ağaçların kovuklarından yapılan *C.neoformans* izolasyonunda; Botes ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmadakinden daha fazla sayıda eşeylenme gözlenmiştir [16]. Bu sonuç, ülkemisdeki *E.camaldulensis* ağaç kovuklarında mayanın mating (eşeylenme) yapabilme yeteneği olduğunu göstermektedir. Bu durum kovuk ortamlarından örnek alma tekniğindeki yetersizlik veya sorundan kaynaklanmış olabilir.

C.neoformans özellikle immünsüprese hastalarda hayatı tehdit eden infeksiyonlar oluşturmaktadır. Mayanın yaşam döngüsü ile yapılan çok sayıda araştırmanın önemli bir kısmında çevresel ortamlarda kolonizasyon için risk faktörü araştırmaları kapsamaktadır. Bilinen en önemli risk faktörleri güvercin dışkısı ile bulaşmış ortamlar ve bitki kaynaklı yapılardır [17]. Ancak dünyanın çeşitli ülkelerinden benzer sonuçlar bildirilirken, farklı bölgelerden çok sayıda örnek ile yapılan farklı çalışmalarda da risk faktörü olarak kabul edilen ortamlarda kolonizasyonun bulunmadığına dair veriler elde edilmiştir [36,47].

Ülkemizdeki geniş okaliptüs floralarında yapılan taramalarda az sayıda *C.neoformans* izole edilebilmiştir [25,38]. Ülkemizde az sayıda flora kökenli çevresel izolasyon yapılmasının nedeni; toprağın kimyasal özelliği ve yaygın çevresel antifungal maddelerin bulunabileceği şeklindeki hipotezler ile açıklanamamıştır [26,38]. Buna yol açan faktörün veya faktörlerin varlığının saptanması, izole edilerek saflaştırılması çevresel dekontaminasyonun sağlanması için önemlidir.

C.neoformans'ın çevresel uygun ortamların varlığına rağmen izole edilmesindeki engellerin araştırılmasının, *C.neoformans*'ın yaşam döngüsünün öğrenilmesine yardımcı olacağını düşünüyoruz. Son yıllarda yürütülen taramalar ile *Polyalthia longifolia*, *Mimusops elengi* (İspanyol kirazı), *Manilkara hexandra*, *Acacia nilotica* (Dikenli akasya), *Aegle marmelos* (Hint ayvası), *Azadirachta indica* (Yalancı tespih ağacı), *Cassia fistula* (Yağmur sinamekisi) ve *Mangifera indica* (Mango) gibi sürekli kolonizasyonun bulunduğu ağaçların yanısıra *Dalbergia sissoo* (Tali), *Ficus religiosa* (Bo ağacı), *Alstonia scholaris* (Hint şeytan ağacı), *Tamarindus indica* (Demirhindi) ve bazı okaliptüs türlerindeki ağaçlarda süreklilik göstermeyen ve çevresel şartlara göre *C.neoformans* kolonizasyonun tanımlandığı ağaç türleri de bulunmaktadır. Dünya üzerinde çok yaygın olarak taranan, oranın kriptokokkozis için risk grubu olarak tanımlanmasını gösteren *E.camaldulensis* için ise kolonizasyonun geçici olabildiği belirtilmektedir [72]. Ağaçların genetik yapılarının farklılıkları ve buna bağlı kimyasal yapılarındaki değişiklikler, mayanın kolonizasyonunda rol oynayabilmektedir [16].

Ağaç kovuklarının besinsel ve fizikokimyasal özelliklerinin, bu bölgeden izole edilen *C.neoformans* kökenlerinin yaşamlarına etkisi henüz açıklığa kavuşturulamamıştır. Ekolojik ve kimyasal birlikteliklerin *C.neoformans*'ın yaşam döngüsüne etkisinin incelenmesi, mayanın doğada var olma mücadelesinin değerlendirilmesi, *C.neoformans*'ın insanda infeksiyon etkeni olarak meydana getirdiği infeksiyöz patogenezin aydınlatılmasına da yardımcı olabilir. Bu nedenle ülkemizde saptanabilen kolonizasyon odaklarının uzun süreli ve/veya periyodik takibinin yapılmasının önemli olduğu kanısındayız.

6. KAYNAKLAR

- [1]. **Ainsworth G.C.**, 1986, Introduction to the History of Medical and Veterinary Mycology. Cambridge University press.
- [2]. **Ajello L.**, 1998, Italian contributions to the history of general and medical mycology. Medical Mycology, 36 (Suppl 1): 1-11.
- [3]. **Anonymous**, 1990, The United States Pharmacopeia (U.S.P. XXII): Mack Printing Co. Easton.
- [4]. **Anşın, R. ve Özkan, Z. C.**, 1993, Tohumlu Bitkiler (Spermatophyta) Odunsu Taksonlar. Karadeniz Teknik Üniversitesi Basımevi, Genel Yayın No:167, Fakülte Yayın No:19, Trabzon
- [5]. **Anonymous**, 1994, Devlet İstatistik Enstitüsü (DİE) Dokümanı, Ankara ZRIRA, S.S., BENJILALI, B.S., FECHTAL, M.M. and RICHARD, H.H. Essential Oils of Twenty-Seven *Eucalyptus* Species Grown in Morocco, *J. Essent. Oil Res.*, 4, 259-264., 1992.
- [6]. **Arda M.**, 1980, Mikoloji . A.Ü.Vet.Fak.Y.366. Ankara, A.Ü. Basımevi: 11-14.
- [7]. **Ateş A., Turaç Biçer A., İlkit M.**, 2008, Sedimentasyon ve eküvyon yöntemleri ile okaliptüs ağaçlarında *Cryptococcus* spp. varlığının araştırılması. Mikrobiyoloji Bülteni; 42: 655-60.
- [8]. **Avcıoğlu E., Gürses MK., Gülbaba AG., Genç A., Özkurt N., Özkurt A.**, 1994, Türkiye’de okaliptüslerin yetişebileceği bölgelerde tür ve orijin seçimi üzerine araştırmalar. Teknik Bülten No: 1, Tarsus.
- [9]. **Ayata Ü.**, 2008, Okaliptüs (*Eucalyptus camaldulensis* ve *Eucalyptus grandis*) ’ün Odun Özellikleri ve Kağıt Endüstrisinde Kullanım Alanlarının Araştırılması, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Orman Fakültesi, Orman Endüstri Mühendisliği bölümünde yüksek lisans tezi, Ocak.
- [10]. **Aygün G.**, 1998, İstanbul’da *Cryptococcus neoformans*’ın doğal kaynaklarda varlığının araştırılması; Cerrahpaşa Tıp Dergisi; 29: 18-22.
- [11]. **Baddley JW, Dismukes WE.**, 2003, Cryptococcosis, İçinde Dismukes WE, Pappas PG, Sobel JD, editors. Clinical Mycology. Oxford:University press;.pp.188-217.
- [12]. **Baydar H., Baydar Göktürk N.**, 2005, Industrial crops and product 21: 251 – 255.
- [13]. **Bilgehan H.**, 1986, *Candida*’ların tarihçesi, ekolojisi ve dağılımı. İçinde Tümbay E., editör. *Candida* ve İnfeksiyonları.Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti yayınları No:6.Bilgehan basımevi; sayfa.1-8.
- [14]. **Bavbek S., Erkeköl FÖ., Çeter T., Mungan D., Özer F., Pınar NM., et al.**, 2006, Sensitization to *Alternaria* and *Cladosporium* in patients with respiratory allergy and outdoor counts of mold spores in Ankara atmosphere, Turkey. Journal of Asthma;43:421-6.

- [15]. Boland D. J., M. I. H. Brooker, G. M. Chippendale, N. Hall, B. P. M. Hyland *et al.*, 1984, Forest trees of Australia. Ed. 4. Nelson- CSIRO, Melbourne.
- [16]. Botes A. & Boekhout T. & Hagen F. & Vismer H. & Swart J. & Botha A., 2009, Growth and Mating of *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* on Woody Debris. Fungal Microbiology, 57:757–765.
- [17]. Casadevall A., Perfect J., 1998, Ecology of *Cryptococcus neoformans*. "Casadevall A., Perfect JR. (eds): *Cryptococcus neoformans*", p41, American Society of Microbiology, Washington DC.
- [18]. Chang YC., Wickes BL., Miller GF., Penoyer L., Kwon- Chung K.J., 1999, The STE12 α and virulence in *Cryptococcus neoformans*. 4th International Conference on *Cryptococcus* and Cryptococcosis (September 12th-16th 1999) London: 8-9.
- [19]. Cogliati M., Esposto MC., Clarke DL., Wickes BL., Viviani MA., 2001, Origin of *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* diploid strains. J.Clin Microbiol 39: 3889–3894.
- [20]. Cox GM., Perfect JR., 2000, *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* and *gattii* and *Trichosporon* species. In: Coklier L, Balows A, Sussman M. Topley and Wilson.s Microbiology and Microbial Infections. 9th ed. vol 4 Ajello L, Hay RJ vol eds. Medical Mycology; 461- 486.
- [21]. Davis, P. H., 1972, Flora of Turkey and East Aegean Island. Volume 4, Edinburg Universty Press, XVIII, 657 p.
- [22]. Eikani M. H., Golmohammad F., Rowshanzamir S., Mirza M., 2005, Recovery of water – soluble constituents of rose oil using simultaneous distillation – extraction Flavour and fragrance Journal; 20: 555 – 558.
- [23]. Başbülbül G., Bıyık H., Kalyoncu F., Kalmış E., Oryaşın E., 2011, Aydın, İzmir ve Manisa illerinde Endüstriyel Atıksular ile Kirlenmiş Toprakların Mikrofungus Florasının Belirlenmesi, Ekoloji 20, 80, 66-73.
- [24]. Ellis DH., Pfeiffer TJ., 1990, Ecology, life cycle, and infectious propagule of *Cryptococcus neoformans*. Lancet; 366: 923-925.
- [25]. Ergin Ç., İlkit M., Hilmioğlu S., Kaleli İ., Gülbaba G., Demirci M., Kaya S., 2004, The first isolation of *Cryptococcus neoformans* from *Eucalyptus* trees in South Aegean and Mediterranean regions of Anatolia in Turkey despite Taurus Mountains alkalinity. Mycopathologia; 158: 43-7.
- [26]. Ergin Ç., Şengül M., Kaleli İ., Gürbüz M., 2005, *Eucalyptus* debris küf mantarı florasında antikriptokokkal aktivitenin araştırılması. Türk Mikrobiyoloji Cem. Derg.; 35: 256-9.
- [27]. Ergin Ç. ve diğ., 2007, Güney Batı Anadolu kökenli ökaliptüs sıvı besiyerlerinde *Cryptococcus neoformans* ve *Cryptococcus gattii* serotiplerinin üreme dinamikleri, Türk Mikrobiyol Cem Derg 37 (2) : 94-97.
- [28]. Ergin Ç., İlkit M., Hilmioğlu S. ve ark., 2004, The first isolation of *Cryptococcus neoformans* from *Eucalyptus* trees in South Aegean and Mediterranean Regions of Anatolia in Turkey despite Taurus Mountains alkalinity. Mycopathologia, 158: 43-7.
- [29]. Ergin Ç., 2010, Gökova bölgesinde eküvyon tekniği ile yüksek oranda çevresel *Cryptococcus neoformans* izolasyonu. Türk Mikrobiyoloji Cem. Derg.
- [30]. Escandon P., Ngamskulrungrroj P., Meyer W., Castaneda E., 2007, In vitro mating of Colombian isolates of the *Cryptococcus neoformans* species complex. Biomedica; 27: 308-14.

- [31]. Forbes BA., Sahm DF., Weissfeld AS., 1998, Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. 11th ed. Mosby, Inc. an Imprint of Elsevier Science, pp.711-95.
- [32]. Gökçe, N. ve Karlıkaya E., 2002, Okaliptüs (*Eucalyptus globulus*): Sıtma Ağacı. Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 19(3-4), 189-194.
- [33]. GÖKMEN, H., 1977, Kapalı Tohumlular Angiospermae. 2.Cilt, Orman Harita ve Fotogrametri Müdürlüğünde Basılmıştır, Ankara.
- [34]. Gürses MK., Gülbaba AG., ve Özkurt A., 1995, Türkiye'de okaliptüs yetiştiriciliğinin geliştirilmesi hakkında rapor, DOA Dergisi, No:1, Sayfa 1-11, Tarsus.
- [35]. Halliday C., Krockenberger M., Carter D., 1999, An investigation of mating type in Australian isolates of *Cryptococcus neoformans* var.*gattii* using molecular techniques. 4th International Conference on *Cryptococcus* and Cryptococcosis, (September 12th-16th) London; 133.
- [36]. Hamasha AMS., Yıldırım ŞT., Gönlüm A., Saraçlı MA., Doğanç L., 2004, *Cryptococcus neoformans* varieties from material under the canopies of Eucalyptus trees and pigeon dropping samples from four major cities in Jordan. Mycopathologia 158: 195.
- [37]. Hazen KC., Howell SA., 2003, *Candida*, *Cryptococcus*, and other yeasts of medical importance. İçinde Murray PR., Baron EJ., Jorgensen JH., Pfaller MA., Tenover FC., Tenover RC., editors. Manual of Clinical Microbiology; 8th ed, ASM press, Washington DC; pp.1693-710.
- [38]. Solak M H, Işıloğlu M, Kalmış E & Allı H., 2007, Macrofungi of Turkey Checklist. Üniversiteler Ofset, İzmir.
- [39]. İkit M., Ateş A., Turaç Biçer A., Yula E., 2006, Environmental study of *Cryptococcus neoformans* in and around Adana, Turkey. Ann Microb; 56: 97-9.
- [40]. İnci R., 1999, Mantarların yapıları, üreme özellikleri ve sınıflandırılması. İçinde Ustaçelebi S., editör. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Güneş kitabevi; sayfa.1015.
- [41]. Kantarcıoğlu AS., Yücel A., Cogliati M., et al., 2007, Three cases and current epidemiological features of cryptococcosis in Turkey. 3rd Trends in Medical Mycology, 28-31 October 2007, Turin, Italy. J Chemother; 19 (Suppl 3): 62-3.
- [42]. Karaca DY., Tümbay E., 2008, İzmir İl'inde doğal ve klinik *Cryptococcus neoformans* kökenlerinin varyete ve serotipleri. İnfek Derg; 22:53-58.
- [43]. Kasımoğlu Ö., 1988, *Cryptococcus neoformans* ekolojisi, dağılımı ve kriptokokkoz epidemiyolojisi içinde Tümbay E. editör. *Cryptococcus neoformans* ve Kriptokokkoz. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti yayınları No:12.Bigehan basımevi, sayfa.1-8.
- [44]. KAYACIK H., 1981, Orman ve Park Ağaçlarının Özel Sistematiği. İstanbul Üniversitesi Yayın No: 2766 , Orman Fak. Yayın No: 287, İstanbul.
- [45]. KAYACIK, H., 1982, Orman ve Park Ağaçlarının Özel Sistematiği. İstanbul Üniversitesi Yayın No: 3013, Orman Fak. Yayın No: 321, İstanbul.
- [46]. Kozel TR., 1995, Virulence factors of *Cryptococcus neoformans*, Trends Microbiology, 3: 295-299.
- [47]. Kielstein P., Hotzel H., Khaschabi D., Glawischnig W., 2000, Occurrence of *Cryptococcus* spp. in excreta of pigeons and pet birds. Mycoses 43: 7.
- [48]. Kreger-van Rij, NJW (Ed), 1984, The Yeasts A taxonomic study. Amsterdam: Elsevier Scientific.

- [49]. **Kwon-Chung KJ., Bennett JE.**, 1984, Epidemiologic differences between the two varieties of *Cryptococcus neoformans*. *Am J Epidemiol*; 120: 123-140.
- [50]. **Kwon-Cung KJ., Bennet JE.**, 1992, *Medical Mycology*, Lea&Febiger.
- [51]. **Kwon-Chung KJ.**, 1992, Cryptococcosis. In: Kwon-Chung KJ., Bennett JE., eds. *Medical Mycology*, Philadelphia: Lea and Febiger; 397-446.
- [52]. **Kwon-Chung KJ., Edman JC., Wickes BL.**, 1992, Genetic association of mating types and virulence in *Cryptococcus neoformans*, *Infect Immun*; 60: 602-605.
- [53]. **Laron DH.**, 1995, *Medically Important Fungi*. 3th ed. Washington DC: ASM press.
- [54]. **Lengeler KB., Davidson RC., D'souza C., et al.**, 2000, Signal transduction cascades regulating fungal development and virulence. *Microbiol Mol Biol Rev*, 64: 746-85.
- [55]. **Levitz SM., Dupont MP., Smail EH.**, 1994, Direct activity of human T lymphocytes and natural killer cells against *Cryptococcus neoformans*. *Infect Immun*; 62: 194- 202.
- [56]. **Lin X., Nielsen K., Patel S., Heitman J.**, 2008, Impact of mating type, serotype, and ploidy on the virulence of *Cryptococcus neoformans*. *Infect Immun*; 76: 2923-38.
- [57]. **Mitchell TG., Perfect JR.**, 1995, Cryptococcosis in the era of AIDS-100 years after the discovery of *Cryptococcus neoformans*, *Clin Microbiol Rev*; 8: 515-548.
- [58]. **Moore-Landecker, E.**, 1996, *Fundamentals of the Fungi*. Prentice Hall International Inc. New Jersey.
- [59]. **Nacar, M.**, 1997, Okaliptüs (*Eucalyptus camaldulensis* Dehn.) Odununun Yonga Levha Üretiminde Kullanılması İmkanları, Yüksek Lisans Tezi, K.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- [60]. **Nielsen K., Cox GM., Wang P., Toffaletti DL., Perfect JR., Heitman J.**, 2003, Sexual cycle of *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* and virulence of congenic α and α isolates. *Infect Immun*; 71: 4831-41.
- [61]. **Nielsen K., Cox GM., Litvintseva AP., et al.**, 2005, *Cryptococcus neoformans* α strains preferentially disseminate to the central nervous system during coinfection. *Infect Immun*; 73: 4922-33.
- [62]. **Nielsen K., Marra ER., Hagen F., et al.**, 2005, Interaction between genetic background and the mating type locus in *Cryptococcus neoformans* virulence potential. *Genetics*; 171: 975-83.
- [63]. **Nielsen K., De Obaldia AL., Heitman J.**, 2007, *Cryptococcus neoformans* mates on pigeon guano: implications for the realized ecological niche and globalization. *Eukaryot Cell*; 6: 949-959.
- [64]. **Nielsen K., Heitman J.**, 2007, Sex and virulence of human pathogenic fungi. *Adv Gen*; 57: 143-67.
- [65]. **Odds FC., Gow NA., Brown AJ.**, 2001, Fungal virulence studies come of age. *Genome Biol.*:2(3):1009.1-1009.4.
- [66]. **Özkurt A.**, 1994, Çukurova Bölgesinde Okaliptüs İşletmeciliğinin Yapısı ve Ekonomisi, Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Tarım Ekonomisi Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Adana.
- [67]. **Özkurt A.**, 2002, Türkiye'deki okaliptüs plantasyonları: Problemler, yönetim ve fırsatlar, DOA Dergisi, No:8, sayfa 1-18, Tarsus.

- [68]. **Perfect JR., Wong B., Chan.g YC., Kwon-Chung KJ., Williamson PR.,** 1998, *Cryptococcus neoformans*: virulence and host defences. *Med Mycol*; 36 (Suppl 1): 79-86.
- [69]. Potential role of cAMP signal transduction pathway in the environmental regulation of *Cryptococcus neoformans* biofilm formation, Master's Thesis, 2008, 52 Pages Master of Science (M.S.).
- [70]. **Randhawa HS., Kowshik T., Khan ZU.,** 2005, Efficacy of swabbing versus a conventional technique for isolation of *Cryptococcus neoformans* from decayed wood in tree trunk hollows. *Med Mycol*; 43:67-71.
- [71]. **Randhawa HS., Kowshik T., Preeti Sinha K., et al.,** 2006, Distribution of *Cryptococcus gattii* and *Cryptococcus neoformans* in decayed trunk wood of *Syzygium cumini* trees in north-western India. *Med Mycol*; 44: 623-30.
- [72]. **Randhawa HS, Kowshik T, Chowdhary A, et al.,** 2008, The expanding host tree species spectrum of *Cryptococcus gattii* and *Cryptococcus neoformans* and their isolations from surrounding soil in India. *Med Mycol*; 46: 823-33.
- [73]. **Reynolds, JEF.,** 1982, Martindale the Extra Pharmacopeia, 28'th Ed., The Pharmaceutical Press, London, p. 675.
- [74]. **Reynolds JEF.,** 1996, ed. Martindale's The Extra Pharmacopoeia. 31'st ed. London; The Royal pharmaceutical Society.
- [75]. **Rippon JW.,** 1988, Medical Mycology. 3th ed. W.B.Saunders Company;press.
- [76]. **Saraçoğlu N.,** 2006, Enerji ormancılığının kırsal kalkınmaya katkısı. Ormancılıkta Sosyo-Ekonomik Sorunlar Kongresi, 26-28 Mayıs,İlgaz Dağı.
- [77]. **Simmer M. and Secko D.,** 2003, A peach of a pathogen: *Cryptococcus neoformans*, The Science Creative Quarterly, August.
- [78]. **Sneh, B., Burpee L. and Ogoshi A.,** 1991, Identification of *Rhizoctonia* species. APS Press, St. Paul, MN.
- [79]. **Staib F., Seeliger HPR.,** 1968, Zur Selektivzüchtung von *Cryptococcus neoformans*. *Mykosen*; 11: 267.
- [80]. **Staib F.,** 1962, *Cryptococcus neoformans* beim Kanarienvogel. *Zentralbl. Bakt.*, 185.
- [81]. **Staib F.,** 1963, New concepts in the occurrence and identification of *Cryptococcus neoformans*. *Mycopathol Mycol Appl*, 19:143-145.
- [82]. **Staib F., Seibold M., Antweiler E.; Frohlich, B., Weber, S., Blisse A.** 1963, The brown color effect (BCE) of *Cryptococcus neoformans* in the diagnosis, control and epidemiology of *C.neoformans* infections in AIDS patients. *Zhl. Bakt. Hyg.*
- [83]. **Stoate TN. and Wallace WR.,** 1938, Jarrah sapling crown studies, 1928-1938. *Austuralian Forestry* 3, 64-73.
- [84]. **Şeker E., Yardımcı H.,** 2003, Mikrobiyoloji Laboratuvarlarında Biyogüvenlik. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi Cilt: 01 Sayı: 04 Sayfa: 3-32.*
- [85]. **Tan H.,** 1999, Tarsus-Karabucak Yöresi Buharlanmış ve Buharlanmamış Okaliptus Odununun (*Eucalyptus camaldulensis* Dehn.) Bazı Fiziksel ve Mekanik Özelliklerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, K.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- [86]. **Tania C., Sorrell & David H., Ellis,** 1997, *Micologico Ecology of Cryptococcus neoformans*, Centre for Infectious Diseases and Microbiology, University of Sydney,

Westmead Hospital, New South Wales and The Adelaide Women's and Children's Hospital, South Australia, Rev Iberoam Micol., 14: 42-43.

[87]. **Tüfekçi S.**, 2001, Odun kömürü ve Okaliptüs (*Eucalyptus camaldulensis* Dehn.) odun kömürünün özellikleri. Doğu Akdeniz Ormanlık Araştırma Enstitüsü Dergisi, sayı:7, sayfa: 1-17.

[88]. **Tümbay E.**, 1999, *Candida* türleri içinde, Ustaçelebi S, editör. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Güneş kitabevi; sayfa 1081-86.

[89]. **Unat EK., Yücel A.**, 1965, Konak dışında *Cryptococcus neoformans* ve *Histoplasma* araştırmaları. İÜ Tıp Fak Mecm; 28:47-52.

[90]. **Unat EK., Dr.Chester Wilson Emmons.**, 1990, Deri Hastalıkları ve Frengi Arşivi, ;24: 231-236.

[91]. **Unat EK., Yücel A.**, 1995, Tıp mikolojisi. Unat EK., Yücel A., Altaş K., Samastı M.; Unat'ın tıp parazitolojisi. İnsanın ökaryonlu parazitleri ve bunlarla oluşan hastalıkları'nda. 5. baskı. İstanbul, Cerrahpaşa Tıp Fak. Vakfı Yayınları: 15, 682-860.

[92]. **Uzun M.**, 2002, Mantarların tanısında moleküler tanı yöntemleri *Candida albicans*. İçinde Agaçfidan A., Badur S., Türkoglu S., editörler. İnfeksiyon hastalıklarının laboratuvar tanısında moleküler yöntemler. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti yayınları No:42. İstanbul; sayfa.182-4.

[93]. **Vazquez JA., Sobel JD.**, 2003, Candidiasis. İçinde Dismukes WE., Pappas PG., Sobel JD., editors. Clinical Mycology, Oxford:University press; pp.143-87.

[94]. **Warren N., Kevin CH.**, 1995, *Candida*, *Cryptococcus* and other yeasts of medical importance. In: Murray PR., Baron EJ., Pfaller MA., Tenover FC., Tenover RH. (eds). Manual of Clinical Microbiology. Washington DC: ASM Press, 723-737.

[95]. **Xiaorong Lin and Joseph Heitman**, 2004, The Biology of the *Cryptococcus neoformans* Species Complex Department of Molecular Genetics and Microbiology, Duke University Medical Center, Durham, North Carolina.

[96]. **Yegenoglu Y.**, 2002, Mantarlar içinde Bozkaya E., editör. Tıbbi Mikrobiyoloji-1- Nobel tıp kitabevi, sayfa 181-92.

[97]. **Yücel A.**, 2002, *Cryptococcus neoformans* ve Diğer Maya formundaki mantarlar. İnfeksiyon Hastalıkları'nda, Nobel Tıp Kitabevi 2. baskı. Ed.Topçu Wilke A., Söyletir G., Doğanay M., 1809-1817.

[98]. **Yücel A.**, 1999, Tıp mikolojisinin dünü bugünü. İçinde Tümbay E., İnci R., Hilmioglu S., Aydemir S. editörler. 1.Ulusal mantar hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi,Tutanaklar. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti yayınları No:36; Ege Üniversitesi basımevi, İzmir, sayfa 3-15.

[99]. **Yücel A.**, 2002, *Candida*'ların dünü. İçinde Kiraz N., Kiremitçi A., Akgün Y.; *Candida* Mikrobiyolojisi ve enfeksiyonları Simpozyumu Tutanaklar. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti yayınları No:43. Oğü Basımevi, Eskişehir, sayfa 3-28.

[100]. **Yücel A.**, 1988, *Cryptococcus neoformans*'ın mikolojisi. İçinde Tümbay E. editör. *Cryptococcus neoformans* ve *Kriptokokkoz*. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti yayınları No:12 Bigehan Basımevi, Sayfa 9-21.

[101]. **Yücel A.**, 1989, Tıp mikolojisinde son on yıldaki ilerlemeler. Türkiye Parazitoloji Dergisi; 13(2): 169.

[102]. **Yücel A., Sezgiç N.**, 1998, Lam-lamel arasında hazırlanan örneklerin mantar yönünden incelenmesi sırasında ortama dimethyl sulphoxide ilavesinin önemi. T.Parazitol.Derg., 22(3): 299-302.

[103]. Yücel A., 1999, Medical mycology: Yesterday and Today. *Cerrahpasa J Med*; 30 (2): 191-198.

[104]. Yücel A., 1988, Tıp Mikolojisi. Dünyada ve Türkiye'de 1850 yılından sonra Tıp Dallarındaki İlerlemelerin Tarihi'nde. (Ed. E. K. Unat) İstanbul, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Vakfı Yayınları 4, 424-434.

ÖZGEÇMİŞ



Kişisel bilgi	Milliyet:T.C Yaş:24 Doğum yeri: Çay/ AFYONKARAHİSAR
Üniversite eğitimi	Pamukkale Üniversitesi
Bölüm/Dönem	Biyoloji (2005-2009)
Bildiği Bilgisayar Programları	Minitap,Microsoft Word,Excel,Power Point,Access,SPSS
Bildiği Diller	İngilizce(Tömer temel ve orta seviye İngilizce sertifikası) ÜDS: 60 (2009 Mart)
İş Tecrübesi	2006 Kasım-2009 Haziran tarihleri arasında Pamukkale Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Merkez Laboratuvarında çalıştım. . 2009- Halen Denizli Devlet Hastanesinde Sitotoksik İlaç Hazırlama Biriminde Biyolog olarak görev yapmaktayım.
Katıldığı kongreler	09-10 Mayıs 2008'de Ege Mikrobiyoloji Günleri "laboratuardan Kliniğe- 2" Toplantısı'na katıldım. 23-27 Haziran 2008' de 19. Ulusal Biyoloji Kongresine poster sunumu ile katıldım. 1-4 Temmuz 2009 tarihleri arasında Niğde'de 16.Ulusal Biyoloji Öğrenci Kongresine Katıldım. 16-20 Ağustos 2009 tarihleri arasında Cenevre-İsviçre' de "57th International Congress & Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant Research" kapsamında kongreye poster sunumu ile katıldım.

Ulusal Yayın:

A.Celik, C.Ergin, I.Arslan and T. Kartal, Anticandidal activity of endemic *Salvia potentillifolia* Boiss. And Heldr. Ex Bentham and *Origanum hypericifolium* Schwartz and P.H.Davis in Turkey,Journal of Natural Science,Biology and Medicine,July 2010, Vol 1, Issue 1.

T.Kartal at al, 57th International Congress & Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research, 57th International Congress & Annual Meeting of the GA, PH43-1048, August 16-20, 2009, Geneva,Switzerland.

