



## Metagenomic Analysis of the Fungal Microbiome in Contaminated Soil with Heavy Metal

Melike Çebi Kılıçoğlu<sup>1,a,\*</sup>

<sup>1</sup>Samsun Vocational High School, Ondokuz Mayıs University, Samsun, Türkiye

\*Corresponding author

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p><i>Research Article</i></p> <p>Received : 01-08-2023 Accepted : 16-09-2023</p> <p><b>Keywords:</b> Metagenomic Analysis Fungal Microbiota Heavy metal Microbiome Samsun OIZ</p>	<p>Heavy metal contamination, which has become one of the most important problems of today with the developing industrial activities, is a serious threat to all living organisms. Some fungi have resistance mechanisms against heavy metals and this is recognized as a sustainable approach for remediation processes. The aim of this study was to shed light on biological remediation approaches for heavy metals by identifying resistant fungal microbiota in areas with high levels of heavy metal contamination. In this study, Cr, Mn, Ni, Cu, Zn, Cd, Pb, As and V heavy metal ratios in soil samples taken from Samsun Organized Industrial Zone, which has high heavy metal pollution, were determined by ICP-OES. Soil fungal microbiota were determined using metagenomic next generation sequencing technology. Illumina MiSeq technology was used for metagenomic sequencing and QIIME 2 2017.4 was used for statistical microbiome analysis. In the heavy metal contaminated study area, <i>Mortierella</i> 53.90%, <i>Halokirschsteiniiothelia</i> 18.01%, <i>Rhizopogon</i> 2.74%, <i>Cladosporium</i> 1.88%, <i>Aspergillus</i> 1.62% and <i>Gibberella</i> 1.12% genera were detected at the highest rates, respectively. The results show that taxa resistant to excess heavy metal concentrations are dominant in the environment.</p>

Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 11(9): 1671-1677, 2023

## Ağır Metal ile Kontamine Toprakta Fungal Mikrobiyomun Metagenomik Analizi

MAKALE BİLGİSİ	ÖZ
<p><i>Araştırma Makalesi</i></p> <p>Geliş : 01-08-2023 Kabul : 16-09-2023</p> <p><b>Anahtar Kelimeler:</b> Metagenomik Analiz Fungal Mikrobiyota Ağır metal Mikrobiyom Samsun OSB</p>	<p>Gelişen sanayi faaliyetleri ile birlikte günümüzün en önemli sorunlarından biri haline gelen ağır metal kontaminasyonu tüm canlı organizmalar için ciddi bir tehdittir. Bazı funguslar ağır metallerle karşı direnç mekanizmalarına sahiptir ve bu durum iyileştirme süreçleri için sürdürülebilir bir yaklaşım olarak kabul edilmektedir. Bu çalışmanın amacı ağır metal kontaminasyonunun yüksek oranlarda olduğu alanlardaki dirençli fungal mikrobiyotayı belirleyerek ağır metallerin biyolojik islah yaklaşımlarına ışık tutmaktır. Araştırmada yüksek oranda ağır metal kirliliğine sahip Samsun Organize Sanayi Bölgesinden alınan toprak örneklerindeki Cr, Mn, Ni, Cu, Zn, Cd, Pb, As ve V ağır metal oranları ICP-OES ile tespit edilmiştir. Toprak fungal mikrobiyotası ise metagenomik yeni nesil sekanslama teknolojisi kullanılarak belirlenmiştir. Metagenomik sekanslama için illumina MiSeq teknolojisi, istatistiksel mikrobiyom analizi için QIIME 2 2017.4 kullanılmıştır. Ağır metalle kontamine olmuş çalışma alanında en yüksek oranlarda sırasıyla <i>Mortierella</i> %53,90, <i>Halokirschsteiniiothelia</i> %18,01, <i>Rhizopogon</i> %2,74, <i>Cladosporium</i> %,1,88, <i>Aspergillus</i> %1,62 ve <i>Gibberella</i> %1,12 cinsleri tespit edilmiştir. Sonuçlar metal konsantrasyonundaki fazlalığa dirençli taksonların ortamda dominant olduğunu göstermektedir.</p>

<sup>a</sup> [mcebi@omu.edu.tr](mailto:mcebi@omu.edu.tr)

<https://orcid.org/0000-0001-6263-4111>



## Giriş

Topraktaki mikroorganizma çeşitliliği, doğal ekosistemlerin devamlılığının sağlanmasında önemli rol oynamaktadır (Alsabhan ve ark., 2022). Funguslar, toprak mikrobiyotasının en dirençli ve çalışkan işçileri arasında yer alan ökaryotik mikroorganizmalardır. Mikroorganizmalar, her yerde bulunmaları, diğer canlı organizmalara göre çok sayıda olmaları, biyokütelleri, biyolojik çeşitlilikleri, anaerobik veya diğer aşırı koşullar altında bile işlev görme potansiyelleri ve katalitik mekanizmalarındaki yetenekleri nedeniyle güçlü detoksifikasyon ajanlarıdır (Singh ve ark., 2020). Çevredeki atık veya kimyasalların biyoyararlılığını etkileyen funguslar kimyasal modifikasyonlar yoluyla toksik maddeleri detoksifiye etmek için muazzam bir metabolik ve fizyolojik eğilime sahiptir (Akpasi ve ark., 2023).

Ağır metallerin neden olduğu çevre kirliliği, birçok ekosistemdeki canlı organizmalar için ciddi bir tehdit haline gelmiştir. Metal toksisitesi, biyolojik olarak birikmeleri ve doğada biyolojik olarak bozunmamaları nedeniyle büyük bir çevresel sorundur. Krom, kurşun, cıva, kadmiyum, nikel ve kobalt gibi ağır metal ve metaloidler eser miktarlarda bile toksik ve kanserojen olup, insan yaşamı için ciddi bir tehdit oluşturmaktadır (Isinkaralar ve ark., 2023; Ghoma ve ark., 2023). Doğal ekosistemlerdeki mikrobiyal biyokütle ile ağır metaller arasındaki etkileşim oldukça karmaşıktır. Mikroorganizmalar, özelleşmiş moleküller ve sinyallerle bitki ve topraktaki fiziksel, kimyasal ve biyolojik değişimlere dahil olurlar. Ağır metaller, organik kirleticilerin aksine mikroorganizmalar tarafından degrade edilemez fakat oksidasyon durumları, toksisitesi ya da hareketliliği değiştirilebilir (Vaksmas ve ark., 2023).

Ağır metaller gibi küresel kirleticilerin varlığı, doğrudan veya dolaylı olarak tüm organizmaların sağlığına zarar vermektedir. Ağır metallerin toprak, hava ve su gibi ortamlardaki konsantrasyonlarının azaltılması günümüzün endişe verici bir sorunu ve ihtiyacıdır (Elsunousi ve ark., 2021; Yayla ve ark., 2022). Standart yöntemler kullanılarak yapılan ağır metal iyileştirme çalışmaları, beraberinde bir dizi kirleticinin emisyonuna yol açtığı ve buna ek olarak uygun maliyetli olmadığı için çevre dostu değildir. Bu sorun, bir mikroorganizmanın kendisini toksisiteden korumak ve kirleticiyi iyileştirmek için metabolik mekanizmasını kullanarak ağır metali daha az toksik formlara indirgeme süreciyle gerçekleşen biyoremediasyon teknolojileri ile ortadan kaldırılabılır (Singh ve ark., 2021). Funguslar, büyük miselyal ağlar oluşturma yetenekleri, katabolik enzimlerinin fazla seçici olmaması, büyüme substratı olarak kirleticilere bağımlı olmamaları nedeniyle ağır metallerin biyoremediasyonu için idealdir (Akpasi ve ark., 2023).

Biyosferde bulunan mikroorganizmaların çok az bir bölümü kültürlenme metoduyla belirlenebilmiştir. Kültürlenmemiş ya da kültüre alınmayan mikroorganizmalar ise, mikrobiyal çeşitliliğin büyük bir bölümünü oluşturmaktadır. Metagenomik analiz, kültürlenme yapılmaksızın, çevresel örneklerden izole edilen toplam DNA'nın (mikrobiyom) yeni nesil dizileme (NGS) teknikleri kullanılarak analiz edilmesidir (Huang ve ark., 2022). Metagenomik, mikroorganizmaların tür tayininin yapılmasına, genetik çeşitliliğinin, popülasyon

yapısının ve bu mikroorganizmaların insan yaşantısını da etkileyen ekolojik rollerinin anlaşılmasına olanak sağlamaktadır. Mikrobiyal metagenomik hava, toprak ve su gibi birçok ekosistemdeki kirliliğin izlenmesinde çok önemli bir rol oynamaktadır (Morelli ve ark., 2020). Metagenomik kütüphanelerin taranması, çeşitli ortamlardan sayısız yeni biyomolekülün tanımlanmasına yol açmıştır. Metagenomik analizle belirlenen mikrobiyal topluluklardaki ve spesifik genlerdeki çeşitlilik, kirlilik biyobelirteçleri olarak hizmet etme potansiyeline de sahiptir (Datta ve ark., 2020). Fungal mikrobiyotadaki fungusların amplikon temelli metagenomik ile belirlenmesinde funguslara özgü gen bölgesi rDNA-Internal transcribed spacer (rDNA-ITS) kullanılmaktadır (Antil ve ark., 2023).

Atık ve tehlikeli madde birikimleri çoğu zaman doğada toksisite seviyesini arttırarak insan sağlığı da dahil olmak üzere birçok olumsuz etkiye neden olmaktadır. Doğada biriken kirleticileri yok etmek için funguslar, atık maddelerin ayrıştırılmasında önemli rol oynamaktadır. Bu mikroorganizmalar farklı çevre koşullarına uyum sağlayarak farklı koşullarda hayatta kalmalarını sağlayan çeşitli hidrolize edici enzimleri üreten potansiyel adaylar arasındadır. Bu nedenle, etkili bir mikoremediasyon elde etmek için belirli kirleticileri hedefleyen mantar türlerinin tanımlanması gerekmektedir. (Singh ve ark., 2020). Bu amaçla çalışmada ağır metal kirliliğinin yüksek seviyelerde olduğu Samsun OSB'den alınan toprak örneklerindeki ağır metal birikimi ve metal kirliliğine dirençli fungusların metagenomik yöntemle belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu yönüyle bu çalışma çevrenin kirlilik ajanı ağır metaller ile fungal mikrobiyota arasındaki ilişkileri belirleyerek ağır metallerin biyolojik ıslah yaklaşımlarına katkı sağlayabilir.

## Materyal ve Yöntem

### Kimyasal Analiz

Toprak örnekleri 2023 yılında ağır metal kontaminasyonunun yüksek olduğu belirlenen (İstanbul ve ark., 2023) alanı temsilen Samsun OSB'den (41°14'26.88"K, 36°26'13.52"D) alınmıştır (Şekil 1). Belirlenen alanda üç farklı noktadan alınan toprak örnekleri homojen bir karışım elde etmek için taş ve bitki artıkları uzaklaştırıldıktan sonra iyice karıştırılmıştır. Element analizi için alınan örnekler 1000 µm gözenekli bir elekten geçirilip büyük parçalar ayrıştırılmış ve petri kaplarına yerleştirilerek 15 gün boyunca etüvde 45 °C'de kurutulmuştur. 0.5 gr. örnek 6 ml %65'lik HNO<sub>3</sub> ve 2 ml %30'luk H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ilave edilerek mikro dalga fırınına yerleştirilmiştir. Örnekler 0.45 µm filtreden geçirilip balon jöjelere transfer edilmiş ve ddH<sub>2</sub>O ile toplam hacim 50 ml'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan numuneler ICP-OES cihazı (GBC Scientific Equipment Pty Ltd., Melbourne, Australia) ile 3 tekerrürlü olarak analiz edilmiş, elde edilen değerler seyreltme faktörü ile çarpılarak metal konsantrasyonları hesaplanmıştır (Cesur ve ark., 2021; Isinkaralar ve ark., 2023). SPSS 22.0 paket programı yardımıyla istatistiksel analizler yapılmış, verilere varyans analizi uygulanarak sonuçlar yorumlanmıştır (Cobanoğlu ve ark., 2023; Kuzmina ve ark., 2023).

### Amplikon Temelli Metagenomik Analiz

Amplikon temelli metagenomik analiz için yeni nesil dizileme işlemleri Macrogen Inc. Company (Seoul, South Korea) tarafından yapılmıştır. Toprakta DNA izolasyonu için Qiagen DNeasy Power Soil Pro kit kullanılmıştır. Metagenomik kütüphane oluşturmak için fungal rDNA-ITS hedef gen bölgesinin amplifikasyonunda FWD ITS3: (5' GCATCGATGAAGAACGCAGC 3') ve REW ITS4: (5' TCCTCCGCTTATTGATATGC 3') (White ve ark., 1990) primerleri kullanılmış ve her örnek için paired-end okuma tipinde çift yönlü okuma yapılmıştır. Final kütüphanenin sekans analizinde illumina MiSeq teknolojisi kullanılmıştır. Her örnek için 2 okumaya ait ham metagenomik sekans verileri fastq dosya formatları şeklinde elde edilmiştir. Cins seviyesinden phylum seviyesine kadar tüm taksonomik seviyelerde fungal çeşitliliği belirlemek için istatistiksel mikrobiyom biyoinformatikleri QIIME 2 2017.4 (Bolyen ve ark., 2019) ile gerçekleştirilmiştir. Ham sekans verileri, DADA2 (Callahan ve ark., 2016) kullanılarak kalite filtresine tabi tutulmuştur. Her örnek için çift yönlü okumalar filtrelemeden sonra birleştirilmiş ve operasyonel taksonomik üniteler (OTU) üretilmiştir. Tüm amplikon sekans varyantları funguslar için referans veri tabanı

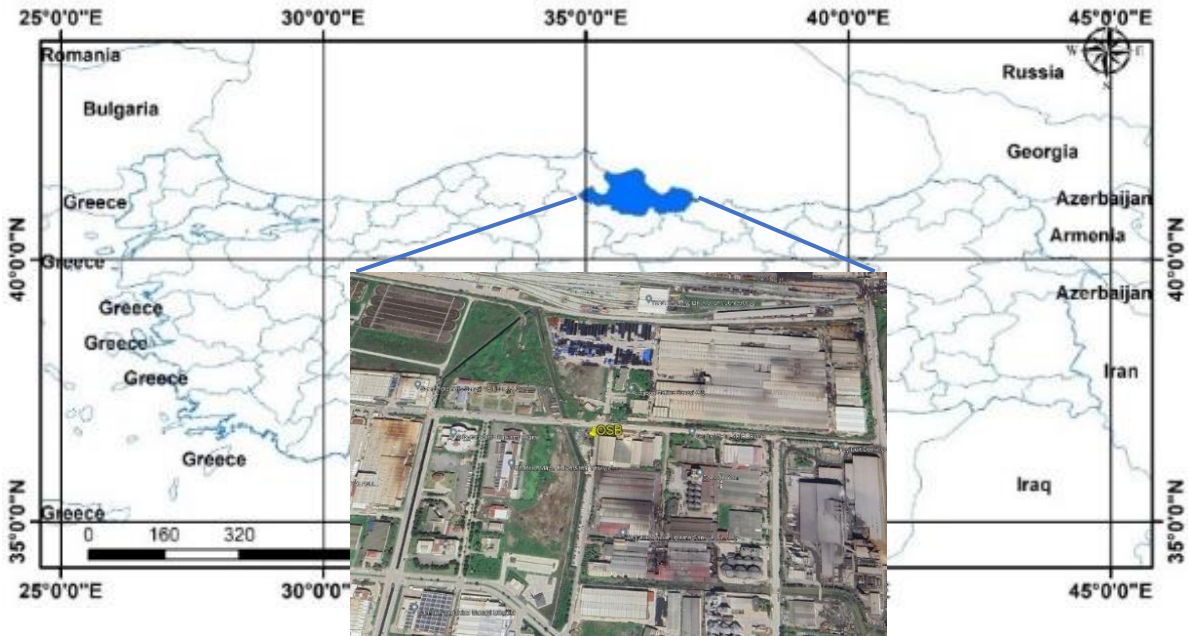
UNITE classifier kullanılarak hizalanmış ve fungal mikrobiyoma ait taksonlar belirlenmiştir.

### Sonuçlar

Çalışmada kullanılan toprak örneklerinin Cr, Mn, Ni, Cu, Zn, Cd, Pb, As ve V konsantrasyonları ppb olarak belirlenmiştir (Çizelge 1).

Tablo değerleri incelendiğinde ortalama olarak en düşük değerlerin Cd ve Zn'da elde edildiği, en yüksek değerlerin ise Mn ve V'da elde edildiği görülmektedir. Ortalama konsantrasyonların V'da yaklaşık 77 ppm, Mn'da ise 82 ppm civarında olması dikkat çekmektedir. Bunun dışında Cr, Cu ve Pb değerleri de oldukça yüksek seviyelerdedir.

Amplikon temelli metagenomik sekans analizinde ham sekans okumaları sonucu toplam okuma sayısı (OTU) 248930 olarak elde edilmiştir. Fungal mikrobiyoma ait ham sekansların kalite filtrelemesi ve birleştirilmesinin ardından OSB fungal mikrobiyomunun toplam OTU'su 104637 olarak belirlenmiştir. UNITE classifier kullanılarak yapılan taksonomik sınıflandırmada net olarak tanımlanmış toplam 7 phylum, 19 sınıf, 51 ordo, 91 familya ve 142 cins belirlenmiştir.



Şekil 1. Toprak örnekleme yapılan Samsun Organize Sanayi Bölgesinin coğrafik konumu

Figure 1. Geographic location of Samsun Organized Industrial Zone where soil sampling was performed

Çizelge 1. Toprak örneklerindeki ağır metal konsantrasyonları

Table 1. Heavy metal concentrations in soil samples

	Ortalama	Minimum	Maksimum	St Sapma
Cr (ppb)	18044,3	17884,3	18160,8	143,3
Mn (ppb)	81769,6	81511,8	82199,3	374,6
Ni (ppb)	6714,8	6561,8	6816,0	134,8
Cu (ppb)	18524,9	17867,8	19143,8	638,9
Zn (ppb)	4089,3	3985,8	4165,3	92,9
Cd (ppb)	589,0	575,0	602,8	13,9
Pb (ppb)	10546,3	10450,3	10693,3	129,3
As (ppb)	8279,5	8129,5	8549,3	234,1
V (ppb)	76998,4	76117,8	78429,5	1250,3

Fungal taksonomik üniteler phylum seviyesinde incelendiğinde Mortierellomycota OSB toprak mikrobiyotasında %53,96, Ascomycota %37,48 ve Basidiomycota %6,21 oranında belirlenmiştir. Mucoromycota, Chytridiomycota, Rozellomycota ve Olpidiomycota phylumlarının ise toprak mikrobiyotasında %1'in altındaki düşük oranlarda temsil edildiği gözlenmiştir.

OSB mikrobiyotası sınıf seviyesinde incelendiğinde Mortierellomycetes %53,95, Dothideomycetes %22,47, Sordariomycetes %5,47, Leotiomycetes %4,59, Eurotiomycetes %3,64, Agaricomycetes %3,31 ve Tremellomycetes %1,55 oranında belirlenmiştir. Bioinformatik analiz sonucunda belirlenen 19 sınıfın 12'si ise fungal mikrobiyotada %1'in altındaki oranlarda tespit edilmiştir (Şekil 2.).

Fungal mikrobiyom ordo seviyesinde değerlendirildiğinde belirlenen 51 ordodan 10 tanesi %1'in üstündeki oranlarda mikrobiyotada temsil edilirken geri kalan 41 ordo %1'in altındaki oranlarda tesbit edilmiştir. Fungal mikrobiyotada Mortierellales %53,95 ile en yüksek oranda temsil edilen ordoyu temsil etmektedir. Bunu Mytiliniales %18,06, Hypocreales %4,54, Boletales %2,75, Thelebolales %2,43, Pleosporales %2,31, Eurotiales %2,19, Helotiales %2,15, Capnodiales %1,90 ve Filobasidiales %1,1 oranları ile takip etmektedir (Şekil 3).

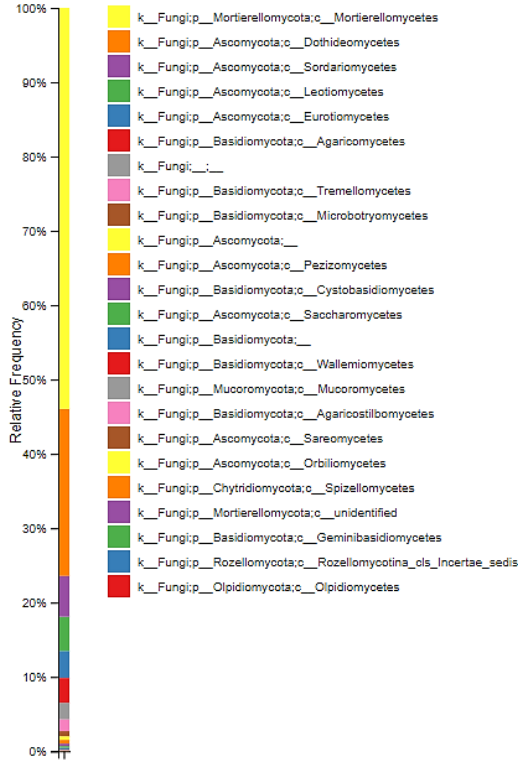
Mikrobiyom bioinformatikleri sonucunda belirlenen 91 familyadan 7'si %1'in üstündeki oranlarda toprak fungal mikrobiyotasında temsil edilmektedir. Familya seviyesinde Mortierellaceae %53,95 oranıyla toprak mikrobiyotasının en dominant üyesidir. Nectriaceae

%2,84, Rhizopogonaceae %2,74, Pseudeurotiaceae %2,38, Aspergillaceae %2,01, Cladosporiaceae %1,88 ve Helotiaceae %1,22 oranında mikrobiyotada temsil edilmektedir. Belirlenen diğer 84 familya ise toprak örneğinde %1'in altındaki oranlarda bulunmaktadır (Şekil 4).

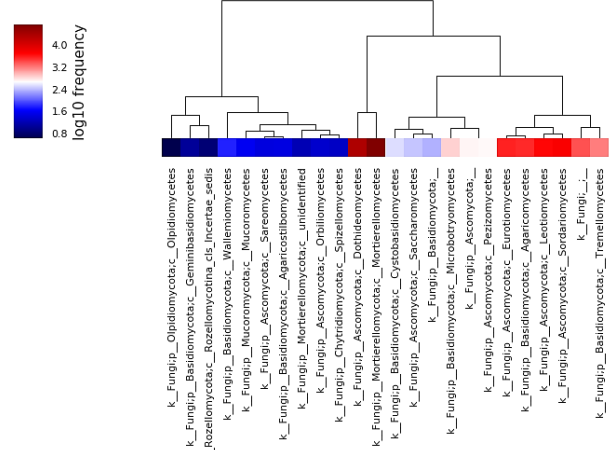
OSB toprak fungusları cins seviyesinde incelendiğinde belirlenen 142 cinsten 6'sının %1'in üzerindeki oranlarda mikrobiyotada temsil edildiği belirlenmiştir. Bunlardan Mortierella %53,90 oranıyla ilk sırada yer almaktadır. Halokirschsteiniothelia %18,01, Rhizopogon %2,74 Cladosporium %1,88, Aspergillus %1,62 ve Gibberella %1,12 oranlarıyla fungal mikrobiyotada %1'in üzerindeki oranlarda belirlenen diğer cinslerdir (Şekil 5.).

## Tartışma

Mikroorganizma çeşitliliğindeki artış, doğal ekosistemlerin devamlılığının sağlanmasında önemli rol oynamaktadır (Bertola ve ark., 2021). Toprak mikrobiyotasında cins seviyesinde net olarak 142 takson belirlenmiştir. Çalışma alanının Cr, Mn, Ni, Cu, Zn, Cd, Pb, As ve V değerleri oldukça yüksek seviyelerdedir. Ağır metal kontaminasyonunun fazla olduğu çalışma alanında fungal çeşitlilikteki fazlalığın nedeni, ağır metal direncine sahip birçok fungusun burada üreyebilmesi ve C kaynağı olarak bu kirlilik ajanlarını kullanabiliyor olmasıyla ilişkili olabilir. Sonuçlar yüksek ağır metal konsantrasyonlarında fungal çeşitliliğinde oldukça yüksek olduğunu göstermektedir.

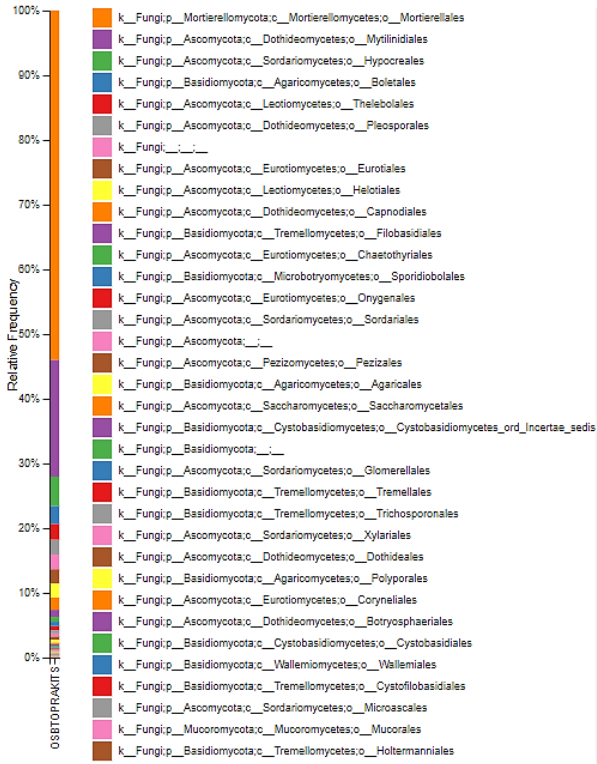


(a)

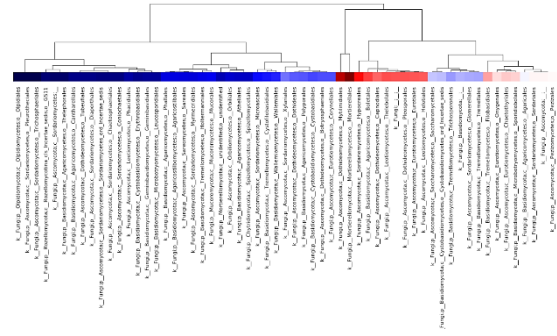


(b)

Şekil 2. a) Fungal mikrobiyom içinde sınıf seviyesinde dağılımın taksonomik bar plots görünümü b) Fungal sınıf bolluğunun heatmap kümelemesi. Bolluk en yüksek koyu kırmızıdan en düşük koyu maviye  
Figure 2. a) Taxonomic bar plots of fungal microbiota by class level b) Heatmap clustering of fungal class abundance. Abundance from dark red representing the highest level to dark blue representing the lowest.

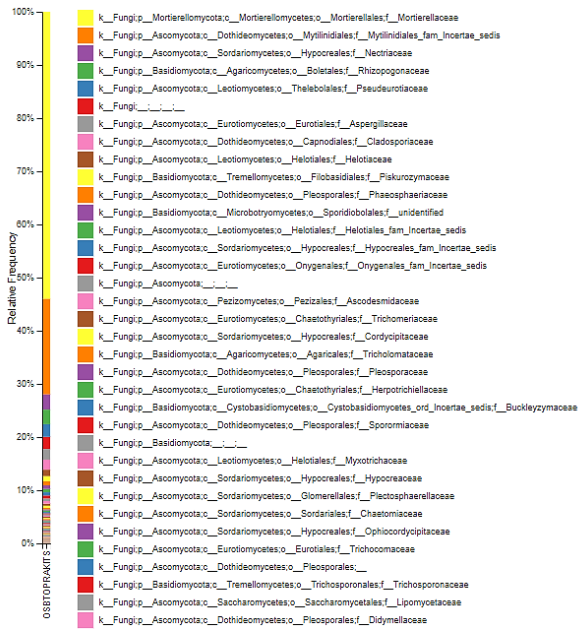


(a)



(b)

Şekil 3. a) Fungal mikrobiyom içinde ordo seviyesinde dağılımın taksonomik bar plots görünümü b) Fungal ordo bolluğunun heatmap kümelemesi. Bolluk en yüksek koyu kırmızıdan en düşük koyu maviye  
 Figure 3. a) Taxonomic bar plots of fungal microbiota at order level b) Heatmap clustering of fungal order abundance. Abundance from dark red representing the highest level to dark blue representing the lowest



Şekil 4. Fungal mikrobiyom içinde familya seviyesinde dağılımın taksonomik bar plots görünümü  
 Figure 4. Taxonomic bar plots of fungal microbiota at family level



Şekil 5. Fungal mikrobiyom içinde cins seviyesinde dağılımın taksonomik bar plots görünümü  
 Figure 5. Taxonomic bar plots of fungal microbiota at genus level

Çalışma alanında en yüksek oranlarda belirlenen cinsler sırasıyla *Mortierella* (%53,90), *Halokirschsteiniothelia* (%18,01), *Rhizopogon* (%2,74), *Cladosporium* (%1,88), *Aspergillus* (%1,62) ve *Gibberella*'dır (%1,12). Önceki çalışmalarda da ağır metallere karşı yüksek düzeyde direnç sergileyen mikrofunguslar bildirilmiştir. Bunlardan bazıları bu çalışmada belirlenenlerle aynı olmakla birlikte *Mortierella*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Rhizopogon*, *Gibberella*, *Trichoderma*, *Penicillium*, *Geotrichum* cinsleridir (Luo ve ark., 2014; Cui ve ark., 2017; Zhang ve ark., 2022).

Çalışma alanında en yüksek oranda bulunan *Mortierella* cinsinin Pb, Mn ve Zn ağır metal absorpsiyonu üzerinde iyi bir biyoremediasyon etkisine sahip olduğu belirtilmiştir (Cui ve ark., 2017). Ayrıca bu cinse ait birkaç türün OSB toprağında da yüksek konsantrasyonlarda belirlenen Pb, Mn, Zn, Cu gibi ağır metallere tolerans gösterdiği ve toprak ekosistemlerinde ağır metallerin biyolojik ıslahı için umut verici adaylar arasında olduğu bildirilmiştir. (Chun ve ark., 2021). *Mortierella*'nın metallerin biyosorpsiyonu ve/veya biyobirikimi için iyi bir ajan olduğu ve toplam misel uzunluğunun kirli topraklardaki yüksek metal konsantrasyonlarından etkilenmediği gösterilmiştir (Li ve ark., 2017). Sonuçlar OSB mikrobiyotasında bu cinse ait üyelerin en yüksek oranda bulunmasıyla uyumludur.

Çalışma alanı toprağında belirlenen *Rhizopogon* cinsi OSB toprağında yüksek konsantrasyonlarda belirlenen Cd, Pb, As ve Ni' e karşı dirençlidir (Luo ve ark., 2014). Ağır metallere olan toleransı bu cinsin üyelerinin toprak mikrobiyotasında üreyebilmesini sağlamıştır. OSB toprak mikrobiyotasında bulunan *Cladosporium* Hg, Pb, Cu, Zn, Mn ve Cd'ye karşı yüksek tolerans göstermektedir (Wang ve ark., 2022). *Cladosporium* cinsi funguslar çevrenin ağır metal detoksifikasyonunda büyük uygulama potansiyeline sahiptir (Dusengemungu ve ark., 2022).

OSB toprak mikrobiyotasında bulunan *Aspergillus* özellikle Cr, Pb, Cu, Cd, Ni, V, Zn gibi ağır metalleri detoksifiye etme yeteneğine sahiptir (Kumar ve Dwivedi, 2021; Jeyakumar ve ark., 2023). *Aspergillus* cinsi Cr ve Pb gibi ağır metalleri biosorpsiyon yoluyla Cd ve Cu'yu ise bioakümülyasyon ile detoksifiye ederek bu metallere karşı tolerans kazanmıştır (Deshmukh ve ark., 2016; Priya ve ark., 2022; Akpasi ve ark., 2023).

Çalışma alanında %1'in üzerinde temsil edilen cinsler arasında yer alan *Gibberella*'nın Zhang ve ark. tarafından yapılan çalışmada Zn ile kirlenmiş toprakta %1'in üstündeki oranlarda bulunduğu gösterilmiştir (Zhang ve ark., 2022). *Gibberella* ortamdaki Cu kontaminasyonuna karşı da yüksek tolerans sergiler ve bakıra dayanıklı bir fungustur (Tu ve ark., 2018).

OSB mikrobiyotasında *Halokirschsteiniothelia* cinsi funguslarda %18,01 gibi yüksek oranda temsil edilmektedir. OSB mikrobiyotasında yüksek oranda temsil edilen bu cinsin ağır metallere direnç gösterdiği açıktır. Ancak bildiğimiz kadarıyla bu fungusların ağır metal detoksifikasyonuna dair herhangi bir rapor şu ana kadar sunulmamıştır. Horizontal gen transferi ökaryotik funguslarda prokaryotlara oranla daha az görülmektedir. Genom evrimi üzerine etkisi küçük olmasına rağmen fenotipik sonuçlarının funguslar için önemli olabileceği ve bu sayede onların yeni ekolojik nişler oluşturabileceği düşünülmektedir (Soanes ve Richards, 2014). OSB

mikrobiyotasında bulunan ağır metallere dirençli diğer funguslar ile *Halokirschsteiniothelia* arasında bu çeşit bir gen transferi bu cinse direnç kazandırmış olabilir. Bu fungusların direnç ve detoksifikasyon metabolizmalarının anlaşılabilmesi için detaylı moleküler çalışmalara ihtiyaç vardır.

## Öneriler

Ağır metal kirliliği mavi gezegende yaşayan tüm türler için en büyük tehditlerden biridir. Küresel çevre kirleticileri, nüfus artışı, kentleşme ve sanayileşmenin etkisiyle yoğunlaşmaktadır. Atık ve tehlikeli madde birikimleri çoğu zaman doğada toksisite seviyesini artırarak insan sağlığı ve ekosistemi olumsuz etkilemektedir. Bu kalıcı sorunu çözmek için stratejiler oluşturmak oldukça önemlidir. Mikroorganizmalar direnç sistemleri geliştirerek ağır metallerin yoğun olduğu ortamlarda yaşamaya adapte olmuşlardır. Fungusların ağır metalleri detoksifiye etme kabiliyeti ağır metal kirliliği olan ortamdan metale dayanıklı mantarlar seçilerek değerlendirilebilir. Ağır metal kirliliğinin yerinde ıslahı için metal adsorbe eden mantarların biyolojik olarak büyütülmesi, bölgeye özgü etkili bir yöntem olarak kullanılabilir. Küresel çevre sorunlarını düzeltmek için bu teknolojiye katkı sağlayacak, ağır metallere dirençli yeni fungusların belirlenmesi gerekmektedir. Bu çalışmada Samsun OSB toprağında ağır metal kirliliğinin yüksek oranlarda olduğu belirlenmiş ve bu kirliliğe tolerans gösteren funguslar metagenomik yöntemler ile tespit edilmiştir. Bu yönüyle bu çalışma çevrenin kirlilik ajanı ağır metaller ile fungal mikrobiyota arasındaki ilişkileri belirleyerek ağır metal birikiminin azaltılmasına yönelik teknolojilere katkı sağlayabilecek niteliktedir.

## Kaynaklar

- Akpasi SO, Anekwe IMS, Tetteh EK, Amune UO, Shoyiga HO, Mahlangu TP, & Kiambi SL. 2023. Mycoremediation as a Potentially Promising Technology: Current Status and Prospects-A Review. *Applied Sciences*, 13(8):4978.
- Alsabhan AH, Perveen K, Alwadi AS. 2022. Heavy metal content and microbial population in the soil of Riyadh Region, Saudi Arabia. *Journal of King Saud University-Science*, 34 (1):101671.
- Antil S, Abraham JS, Sripoorna S, Maurya S, Dagar J, Makhija S, ... & Toteja R.(2023). DNA barcoding, an effective tool for species identification: a review. *Molecular Biology Reports*, 50(1):761-775.
- Bertola M, Ferrarini A, & Visioli G. 2021. Improvement of soil microbial diversity through sustainable agricultural practices and its evaluation by-omics approaches: A perspective for the environment, food quality and human safety. *Microorganisms*, 9(7):1400.
- Bolyen E, Rideout JR, Dillon MR, Bokulich NA, Abnet CC, Al-Ghalith GA, ... & Caporaso JG. 2019. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nature Biotechnology*, 37(8):852-857.
- Callahan BJ, McMurdie PJ, Rosen MJ, Han AW, Johnson AJA, & Holmes SP. 2016. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods*, 13(7):581-583.
- Cesur A, Zeren Cetin I, Abo Aisha AES, Alrabiti OBM, Aljama AMO, Jawed AA, ... & Ozel HB. 2021. The usability of *Cupressus arizonica* annual rings in monitoring the changes in heavy metal concentration in air. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(27): 35642-35648.

- Chun SJ, Kim YJ, Cui Y, & Nam KH. 2021. Ecological network analysis reveals distinctive microbial modules associated with heavy metal contamination of abandoned mine soils in Korea. *Environmental Pollution*, 289:117851.
- Cobanoğlu H, Sevik H, & Koç İ. 2023. Do Annual rings really reveal Cd, Ni, and Zn pollution in the air related to traffic density? An example of the cedar tree. *Water, Air, & Soil Pollution*, 234(2):65.
- Cui Z, Zhang X, Yang H, & Sun L. 2017. Bioremediation of heavy metal pollution utilizing composite microbial agent of *Mucor circinelloides*, *Actinomucor* sp. and *Mortierella* sp. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 5(4):3616-3621.
- Datta S, Rajnish KN, Samuel MS, Pugazlendi A, & Selvarajan E. 2020. Metagenomic applications in microbial diversity, bioremediation, pollution monitoring, enzyme and drug discovery. A review. *Environmental Chemistry Letters*, 18:1229-1241.
- Deshmukh R, Khardenavis AA, & Purohit HJ. 2016. Diverse metabolic capacities of fungi for bioremediation. *Indian Journal of Microbiology*, 56: 247-264.
- Dusengemungu L, Gwanama C, Simuchimba G, & Mubemba B. (2022). Potential of bioaugmentation of heavy metal contaminated soils in the Zambian Copperbelt using autochthonous filamentous fungi. *Frontiers in Microbiology*, 13:1045671.
- Elsunousi AAM, Sevik H, Cetin M, Ozel HB, Uzun Ozel H. 2021. Periodical and regional change of particulate matter and CO<sub>2</sub> concentration in Misurata. *Environ Monit Assess* 193: 707(2021). DOI: 10.1007/s10661-021-09478-0
- Ghoma WEO, Sevik H, & Isinkaralar K. 2023. Comparison of the rate of certain trace metals accumulation in indoor plants for smoking and non-smoking areas. *Environmental Science and Pollution Research*, 1-9.
- Huang WL, Wu PC, & Chiang TY. 2022. Metagenomics: Potential for bioremediation of soil contaminated with heavy metals. *Ecological Genetics and Genomics*, 22:100111.
- Isinkaralar K, Isinkaralar O, Koç İ, Özel HB, & Sevik H. 2023. Assessing the possibility of airborne bismuth accumulation and spatial distribution in an urban area by tree bark: A case study in Düzce, Türkiye. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 1-12.
- Istanbullu SN, Sevik H, Isinkaralar K, & Isinkaralar O. 2023. Spatial distribution of heavy metal contamination in road dust samples from an urban environment in Samsun, Türkiye. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 110(4):78.
- Jeyakumar P, Debnath C, Vijayaraghavan R, Muthuraj M. 2023. Trends in bioremediation of heavy metal contaminations. *Environmental Engineering Research*, 28 (4):2021.631.
- Kumar V, & Dwivedi SK. 2021. Mycoremediation of heavy metals: processes, mechanisms, and affecting factors. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(9):10375-10412.
- Kuzmina N, Menshchikov S, Mohnachev P, Zavyalov K, Petrova I, Ozel HB, ... & Sevik H. 2023. Change of aluminum concentrations in specific plants by species, organ, washing, and traffic density. *BioResources*, 18(1):792.
- Li X, Zhang X, & Cui Z. 2017. Combined bioremediation for lead in mine tailings by *Solanum nigrum* L. and indigenous fungi. *Chemistry and Ecology*, 33(10): 932-948.
- Luo ZB, Wu C, Zhang C, Li H, Lipka U, & Polle A. 2014. The role of ectomycorrhizas in heavy metal stress tolerance of host plants. *Environmental and Experimental Botany*, 108: 47-62.
- Morelli M, Bahar O, Papadopoulou KK, Hopkins DL, & Obradović A. 2020. Role of endophytes in plant health and defense against pathogens. *Frontiers in Plant Science*, 11: 1312.
- Priya AK, Gnanasekaran L, Dutta K, Rajendran S, Balakrishnan D, & Soto-Moscoco M. 2022. Biosorption of heavy metals by microorganisms: Evaluation of different underlying mechanisms. *Chemosphere*, 307: 135957.
- Singh V, Singh J, & Mishra V. 2021. Development of a cost-effective, recyclable and viable metal ion doped adsorbent for simultaneous adsorption and reduction of toxic Cr (VI) ions. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(2): 105124.
- Singh V, Singh MP, Mishra V. 2020. Bioremediation of toxic metal ions from coal washery effluent Desalin. *Water Treat*, 197: 300-318:10.5004/dwt.2020.25996
- Soanes D, & Richards TA. 2014. Horizontal gene transfer in eukaryotic plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 52: 583-614.
- Tu C, Liu Y, Wei J, Li L, Scheckel KG, & Luo Y. 2018. Characterization and mechanism of copper biosorption by a highly copper-resistant fungal strain isolated from copper-polluted acidic orchard soil. *Environmental Science and Pollution Research*, 25: 24965-24974.
- Vaksmas A, Guerrero-Cruz S, Ghosh P, Zeghal E, Hernandez-Morales V, Niemann H. 2023. Role of fungi in bioremediation of emerging pollutants. *Frontiers in Marine Science* 10:1070905
- Wang M, Xu Z, Dong B, Zeng Y, Chen S, Zhang Y, ... & Pei X. 2022. An efficient manganese-oxidizing fungus *Cladosporium halotolerans* strain XM01: Mn (II) oxidization and Cd adsorption behavior. *Chemosphere*, 287:132026.
- White TJ, Bruns T, Lee SJWT, & Taylor J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*, 18(1):315-322.
- Yayla EE, Sevik H, & Isinkaralar K. 2022. Detection of landscape species as a low-cost biomonitoring study: Cr, Mn, and Zn pollution in an urban air quality. *Environmental Monitoring and Assessment*, 194(10):687.
- Zhang J, Fan X, Wang X, Tang Y, Zhang H, Yuan Z, ... & Li T. 2022. Bioremediation of a saline-alkali soil polluted with Zn using ryegrass associated with *Fusarium incarnatum*. *Environmental Pollution*, 312:119929.