BAZI FUNGAL TÜRLERİN STANDART VE İÇERİĞİ DEĞİŞTİRİLMİŞ BESİYERLERİNDEKİ MİKROSKOBİK VE MAKROSKOBİK YAPILARININ İNCELENMESİ

Hazırlayan: Nurcan BAHADIR
Biyoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi
2009/Edirne
Danışman: Prof. Dr. Ahmet ASAN

T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAZI FUNGAL TÜRLERİN STANDART VE İÇERİĞİ DEĞİŞTİRİLMİŞ BESİYERLERİNDEKİ MİKROSKOBİK VE MAKROSKOBİK YAPILARININ İNCELENMESİ

Nurcan BAHADIR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman:

Prof. Dr. Ahmet ASAN

EDİRNE - 2009

ÖZET

BAZI FUNGAL TÜRLERİN STANDART VE İÇERİĞİ DEĞİŞTİRİLMİŞ BESİYERLERİNDEKİ MİKROSKOBİK VE MAKROSKOBİK YAPILARININ İNCELENMESİ

Bu çalışmada 6 mikrofungus türü (*Penicillium janthinellum, Penicillium chrysogenum, Penicillium aurantiogriseum, Aspergillus niger, Aspergillus wentii, Aspergillus terreus*) ile çalışılmıştır. Bu türlerin standart 4 besiyeri ortamına ve bunların içeriği değiştirilmiş şekillerine uygun yöntemle ekimleri yapılarak, kültürlerdeki içerik değişikliğinin türlerin makroskobik ya da mikroskobik yapılarında fark oluşturup oluşturmadığı incelenmiştir. İçeriği değiştirilmiş besiyerlerindeki maddelerin gelişim üzerinde negatif ya da pozitif etkileri değerlendirilip, bu etkilerin kullanılan türler açısından teşhiste ayırt edici bir özellik olarak kullanılabilirliliği incelenmiştir.

Bu amaçla kullanılan 6 fungal türün, 20 mL besiyeri içeren petri plaklarına, 10^6 CFU/ mL spor solüsyonundan steril pipet yardımıyla 1 damla olacak şekilde ekimleri yapılmış, 25 °C ve 37 °C' de 7 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun başladığı 3. günün sonundan itibaren her 24 saatlik periyotta petri plaklarında oluşan kolonilerin çapları ölçülmüştür.

Toplam 15 besiyeri ile çalışılmıştır. 7 günlük inkübasyon sonunda oluşan kolonilerin makroskobik ve mikroskobik görünümlerinin fotoğrafları çekilmiştir.

Çalışmamızda, standart Czapek Yeast Autolysate Agar (CYA) ve standart Rose Bengal Streptomycin Agar (RB) besiyerinde 37 °C' de üremesi gözlenmeyen *A. wentii* türünün, 37 °C' de içeriği değiştirilmiş CYA – 3, CYA – 4, CYA – 5 ve RB – 2 besiyerlerinde gelişimi gözlenmiştir. *A. wentii*' nin mikroskobik görünümünde özellikle RB – 2 besiyerinde anormal yapılı fiyalid ve CYA – 5 besiyerinde ise çatal şeklinde vesikül yapısı gözlenmiştir. Yine aynı şekilde *P. chrysogenum*' un standart RB' de gelişimi görülmez iken RB – 2 ve RB – 3 besiyerinde gelişimi görülmüştür. CYA – 4

besiyerinin çalıştığımız tüm türler incelendiğinde sporulasyon üzerinde negatif etkisi gözlenmiştir.

P. janthinellum' un Malt Ekstrakt Agar - 1(MEA – 1) besiyeri ortamında koku meydana getirdiği ve bu besiyerinin tüm türlerde gelişim üzerinde olumlu etkisi saptanmıştır. RB – 1 besiyerinin gelişim ve özellikle de sporulasyon üzerinde son derece olumlu etkisi olduğu görülmüştür. Ayrıca bu besiyeri ortamının 6 fungus türünde de gelişimi pozitif yönde etkilediği görülmüştür. PDA – 2 besiyerinin hem spor hem de pigmentasyonda negatif etkiye sahip olduğu görülmüştür.

Kullanılan tüm türler ele alındığında MEA – 1 ve RB – 1 besiyerlerinin gelişim ve sporulasyon açısından en uygun, CYA – 4 besiyerinin sporulasyon açısından en elverişsiz kültür ortamları olduğu ve RB1 – 2 besiyerinin ise türlerin gelişimi açısından yetersiz olduğu görülmüştür.

Çalışmanın sonunda modifiye edilmiş besiyerleri ile türlerin özellikle makroskobik yapılarında farklılık tespit edilmiştir. Tüm bu değişken özellikler daha detaylı çalışmalar ile türlerin teşhisinde yararlı, destekleyici bilgi olarak kullanılabilir.

Anahtar Kelimeler: Mikrofungus, besiyeri, pigmentasyon, sporulasyon

ABSTRACT

Microscopic and Macroscopic Investigations of Some Fungal Species in Standard and Modified Media

6 microfungi species (*Penicillium janthinellum, Penicillium chrysogenum, Penicillium aurantiogriseum, Aspergillus niger, Aspergillus wentii, Aspergillus terreus*) were used in this study. These species were inoculated in 4 standard and modified media in order to see whether content changes would have an effect on micro- and macroscopic structures of fungi. Positive and negative effects of contents of modified media on fungal growth were investigated and these effects were considered in terms of their utility as a diagnostic character in species identifications.

1 mL aliquots taken from 10^6 CFU/ mL spore solutions of 6 fungal species were inoculated in Petri dishes containing 20 mL of media, the plates were incubated at 25 °C and 37 °C for 7 days, and colonial diameters were measured with one day intervals starting by the 3rd day of incubation. A total of 15 media were used and at the end of the incubation period of 7 days, micro- and macroscopic appearances of colonies were photographed.

A. wentii was found to be a species which showed no growth at 37 °C in standard Czapek Yeast Autolysate Agar (CYA) and standard Rose Bengal Streptomycin Agar (RB), but colonies developed in CYA – 3, CYA – 4, CYA – 5 and RB – 2 media which are modified forms of the standard media. Abnormal phyalide in RB-2 media and forked vesicle formations in CYA – 5 media were observed in microscopic investigations of *A. wentii*. Similarly, *P. chrysogenum* showed no growth in standard RB media but in RB – 2 and RB – 3 media. CYA – 4 was found to have a negative effect on sporulation for all species investigated.

P. janthinellum was shown to yield an odour in Malt Extract Agar - 1(MEA – 1) media. We also determined a positive effect of this media on growth of all species. Similarly, RB – 1 media had an increased positive effect on growth and especially on

sporulation. PDA – 2 media was found to have a negative effect on both sporulation and pigmentation and of *P. janthinellum.*

When we consider all the fungal species, MEA – 1 and RB – 1 appeared to be the most suitable culture media for growth and sporulation, CYA – 4 to be the most unfavorable media for sporulation and RB1 – 2 to be poor for growth.

In conclusion, macroscopic structural modifications were observed in fungal species when inoculated in modified media. All these data, which can be expanded with further similar studies, can potentially be used as useful and contributory data in species identifications.

Key words: Microfungi, culture media, sporulation, pigmentation

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım boyunca beni yönlendiren, tüm kişisel bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, her türlü destek ve ilgiyi benden esirgemeyen Genel Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı, değerli tez hocam sayın Prof. Dr. Ahmet ASAN (Trakya Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü)' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım için Biyoloji Bölümü laboratuar ve araştırma araçlarından yararlanma imkanı sağlayan Biyoloji Bölüm Başkanı değerli hocam Prof. Dr. Ahmet BEYARSLAN' a tez çalışmalarıma katkıda bulunan, tezimi yazmam konusunda bana yardımcı olan değerli hocalarım, Araş. Gör. Dr. Burhan ŞEN ve Uzm. Dr. Suzan ÖKTEN (Trakya Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü)' e teşekkür ederim.

Tez çalışmamı finanse eden Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Başkanlığına ve çalışmalarımda çeşitli kimyasal maddeleri hazırlama konusunda bana yardımcı olan değerli hocam Araş. Gör. Dr. Elvan BAKAR' a teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım boyunca benden yardımını esirgemeyen değerli arkadaşlarım Öztürk DÜNDAR ve Öznur YILMAZ' a yardımlarından dolayı sonsuz teşekkür ederim.

Tezimi düzenlememem konusunda bana yardımcı olan sevgili arkadaşım Erhan ÇOBAN' a çok teşekkür ederim.

Bana büyük güç veren, maddi ve manevi her türlü desteğini benden esirgemeyen sevgili aileme en içten duygularımla teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER **Sayfa No**

ÖZET ..... **I**
ABSTRACT ..... **II**
TEŞEKKÜR ..... **III**
İÇİNDEKİLER ..... **IV**
KISALTMALAR ..... **VI**
1. GİRİŞ **1**
2. GENEL BİLGİLER **3**
2.1. Besiyeri Bileşimine Giren Maddeler. 4
2.1.1. Su 4
2.1.2. Peptonlar 5
2.1.3. Maya Extratı. 5
2.1.4. Malt Extratı 5
2.1.5.Agar Agar 6
2.1.6. Karbonhidratlar 6
2.1.7. Tuz 7
3. KÜF MANTARLARININ TEŞHİSİ **8**
3.1.Teşhiste ve İzolasyonda Kullanılan Bazı Besiyerleri 10
3.2. İnceleme Ortamı 12
3.2.1. Lakto Pamuk Mavisi Çözeltisi 13
4. *ASPERGILLUS'* LARIN EKONOMİK VE TIBBİ ÖNEMİ **14**
4.1. *Aspergillus'* ların Makromorfolojisi 15
4.2. *Aspergillus'* ların Mikromorfolojisi 17
5.*PENICILLIUM'* LARIN EKONOMİK VE TIBBİ ÖNEMİ **21**
5.1. *Penicillium*' ların Makromorfoloj 22
5.2. *Penicillium'* ların Mikromorfolojisi 24
6. MATERYAL VE METOD **27**
6.1. Materyal 27
6.1.1. Kullanılan Besiyeri Ortamları 27
6.2. Metod 34
6.2.1. Kültürasyon 34
6.2.2. Preparasyon 35
7. BULGULAR **36**
7.1. *Penicillium janthinellum* 36
7.1.1. Czapek Yeast Autolysate Agar (CYA) 36
7.1.2. Malt Ekstrakt Agar (MEA) 39
7.1.3. Rose Bengal Streptomycin Agar (RB) 40
7.1.4. Patates Dekstroz Agar (PDA) 43
7.2. *Penicillium chrysogenum* 48
7.2.1. Czapek Yeast Autolysate Agar (CYA) 48
7.2.2. Malt Ekstrakt Agar (MEA) 51
7.2.3. Rose Bengal Streptomycin Agar (RB) 53
7.2.4. Patates Dekstroz Agar (PDA) 56
7.3. *Penicillium aurantiogriseum* 61

7.3.1. Czapek Yeast Autolysate Agar (CYA) 61
7.3.2. Malt Ekstrakt Agar (MEA) 64
7.3.3. Rose Bengal Streptomycin Agar (RB) 66
7.3.4. Patates Dekstroz Agar (PDA) 68
7.4. *Aspergillus niger* 73
7.4.1. Czapek Yeast Autolysate Agar (CYA) 73
7.4.2. Malt Ekstrakt Agar (MEA) 75
7.4.3. Rose Bengal Streptomycin Agar (RB) 76
7.4.4. Patates Dekstroz Agar (PDA) 78
7.5. *Aspergillus terreus* 85
7.5.1. Czapek Yeast Autolysate Agar (CYA) 85
7.5.2. Malt Ekstrakt Agar (MEA) 87
7.5.3. Rose Bengal Streptomycin Agar (RB) 89
7.5.4. Patates Dekstroz Agar (PDA) 93
7.6. *Aspergillus wentii* 99
7.6.1. Czapek Yeast Autolysate Agar (CYA) 99
7.6.2. Malt Ekstrakt Agar (MEA) 102
7.6.3. Rose Bengal Streptomycin Agar (RB) 104
7.6.4. Patates Dekstroz Agar (PDA) 106
8. TARTIŞMA VE SONUÇ 112
KAYNAKLAR 116
ÖZGEÇMİŞ 118

KISALTMALAR

atm **:** atmosfer

dk **:** dakika

CFU/mL **:** Colony Forming Unit (Koloni Oluşturan Birim)

1. GİRİŞ

Mikroorganizmaları laboratuvar ortamında üretmek ve incelemek için kullanılan ve bir mikroorganizmanın üreyebilmesi için tüm koşulları sağlayan yapay besleyici ortamlara besiyeri denilmektedir. Besiyerleri; besi ortamı, ortam, kültür ortamı olarak da ifade edilebilir.

1861 yılında Louis Pasteur, mayaların oksijenli ve oksijensiz ortamda gelişimini inceleyip, bunların geliştirilmesi için sıvı besiyeri formülünü açıklayan ilk bilim adamı olarak tarihe geçmiştir. 1869 yılında Ferdinand Cohn, besiyeri bileşiminde mineral maddelerin önemini göstermiştir. Böylece farklı grup mikroorganizmalar ile çalışma olanağı doğmuştur. 1872 yılında Alman botanikçi Oscar Brefeld, sıvı besiyerine jelatin ekleyerek elde ettiği katı besiyerinde tek spordan küf kolonilerini ürettiğini bildirmiştir.1880 yılında İsviçreli bir botanikçi olan Karl Wilhelm von Nägeli, besiyeri hazırlamada pepton kullanımını öneren ilk bilim adamıdır. İlk ticari besiyeri üretimi ise 1910 yılında başlamıştır (http://www.orlab.net).

Besiyerleri hazırlanırken amaç, hedef organizmanın gelişmesini sağlayacak konsantrasyonlarda gerekli besin maddelerinin dengelenmiş karışımını sağlamaktır. Bütün besin öğelerini oldukça fazla miktarda sağlayarak, olabildiğince zengin bir besiyeri yapma yaklaşımı ile optimal besiyeri elde edilemez.

Besiyeri içeriğinin hem funguslar hem de diğer mikroorganizmalar üzerinde son derece önemli etkisi vardır. Besiyeri bileşimindeki eser elementlerin miktarındaki ufak değişikliklerin, funguslar üzerinde gözle görülür bir etkiye sahip olduğu bilinmektedir. Bunun dışında her mikroorganizmada olduğu gibi funguslar da gelişim ortamındaki farklı maddelere karşı tepki vermektedir.

Besiyerleri mikroorganizmaların teşhisinde büyük öneme sahiptir. Teşhislerin doğru, güvenilir yapılması besiyerinin içeriğine ve inkübasyon şartlarına bağlıdır. Fungusların besiyerlerindeki gelişim davranışları, koloni morfolojisi, pigment oluşumu, petri kutusunda alt ve üstten görünüşleri, spor ve hifsel yapılarının mikroskobik incelenmesi gibi parametrelere göre tanımlama kriterleri dikkate alınarak teşhisleri gerçekleştirilir.

Aspergillus ve *Penicillium* teşhisiyle ilişkili olarak her bilim adamı çeşitli faktörlerin koloni ve mikroskobik karakterler üzerine etkili olduğunu bilir. Raper ve Thom' dan beri sistematik çalışmalarda standart besiyeri ortamları araştırılmıştır.

Diğer sistematikçiler daha sonra kendi çalışmalarında çeşitli kullanışlı besiyeri ortamları keşfetmişlerdir. Birçok sistematikçi kültürlerdeki ayrılığın türlerdeki mikromorfolojik karakterlerde fark oluşturduğunu kabul etmektedir. Besiyerlerindeki farklılığın etkileri daha önce de çalışılmış ve günümüzde teşhiste kolaylık sağlamak adına hala en uygun besiyeri ortamları için çalışmalar devam etmektedir (Samson ve Pitt, 2000).

Frisvad 1992 yılında yaptığı çalışmada, *Aspergillus* ve *Penicillium* sınıflandırmasında kullanmak amaçlı, besin mikolojisinde önemli bir ortam olan Creatine Sucrose Dichloran Agar (Kreatin Sakkaroz Dikloran Agar- CREAD) besiyerinin içeriğinde bir takım değişiklikler yapıp, bu değişikliklerin türler üzerine etkilerini araştırmıştır.

Yine Okuda ve arkadaşları, *Penicillium* ve *Aspergillus* cinslerinde, besiyerindeki inkübasyon koşullarının morfolojik karakterler üzerine olan etkilerini araştırmışlardır. Çalışmalarında besiyeri kalınlığının, inkübasyon koşullarının ve besiyeri değişikliğinin türler üzerinde morfolojik olarak önemli etkiye sahip olduğu sonucuna varmışlardır (Samson ve Pitt, 2000).

Yapılmış bu çalışmalara ilave olarak, bu çalışma ile belirli mikroskobik fungusların standart ve içeriği değiştirilmiş besiyerlerindeki makroskobik görünümlerinin ve mikroskobik yapılarının fotoğrafları çekilmiştir. Özellikle hem *Aspergillus* hem de *Penicillium* teşhislerinde esas besiyeri ortamı olan Czapek Yeast Autolysate Agar (CYA) besiyerine bu çalışmada önem verilmiştir. Besiyeri ortamının içeriğindeki değişikliğin türlerin makroskobik ya da mikroskobik yapılarını etkileyip etkilemediği, eklenen maddelerin fungus üzerindeki olumlu ya da olumsuz etkisi, bu etkilerin teşhiste ayırt edici bir özellik olarak kullanılıp kullanılmayacağı araştırılmıştır.

Daha önce yapılan diğer çalışmaların devamı niteliğinde olan bu çalışma ile türlerin teşhislerinde kolaylık sağlayabileceğini düşündüğümüz besiyeri ortamları elde edilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

Mikroorganizmaları laboratuvar ortamında üretmek ve inceleyebilmek için kullanılan besiyerleri, mikroorganizmaların geliştirilmesi, izolasyon, teşhis, sayım, duyarlılık testleri, sterilite testleri, klinik örneklerin incelenmesi, gıda, su ve çevre kontrolleri, biyolojik ürünlerin elde edilmesi, antibiyotik ve vitamin analizleri, endüstriyel analizler vb. gibi çok farklı amaçlara yönelik olabilir.

Mikroorganizmalar besiyerinde gelişim için; su, enerji ve karbon kaynağı, azot kaynağı, mineraller, sülfür, fosfor kaynağı ve eser elementlere ihtiyaç duyarlar. Bunların dışında tampon maddeler, pH indikatörleri, inhibitör gibi maddeler de besiyerinin bileşiminde bulunur. Tüm bu maddelerin miktarı ve çeşidi mikroorganizmaların ihtiyaçlarına göre değişiklik göstermektedir.

Mantarlar kemoheterotrofdurlar. Organik bir azot veya karbon kaynağına gereksinimleri vardır. Besinlerini absorbsiyon yolu ile içinde bulunduğu ortamdan alırlar. Besin absorbsiyonunun kolayca sağlanabilmesi için ortamda suyun da olması gereklidir. Mantarların çoğu relatif nem oranı % 95-100 olan ortamda ürerler.

Mantarlar pek çok organik maddeyi karbon kaynağı olarak kullanabilmelerine karşın, çoğu mantar basit bir karbonhidrat olan glukozu kolaylıkla parçalayabilir. Bu nedenle mantarların üretilmesinde kullanılan primer besiyerlerinde hep glukoz vardır.

Özellikle küf mantarlarının laboratuvarlarda üretilmeleri sırasında misel formunu baskılayan, spor oluşumunu arttıran koşulların sağlanması ile tanı kolaylaşır. Optimal gelişim ve sporlanmanın sağlanması için mantarın fizyolojisini bilmek ve istenilen sonucun alınması için metabolizma ihtiyaçlarını sağlayacak ortamın oluşturulması gereklidir (Mutlu vd., 1999).

Mantarlar oksijene ihtiyaç duyan mikroorganizmalardır. Klinik örneklerin taşınması ve kültürü her zaman oksijen içeren koşullarda yapılmalıdır (Mutlu vd., 1999).

Mantarların optimal gelişim ısıları 25-35 °C' dir. Bazı mantarlar termotoleranttır ve bu nedenle gelişim ısıları farklılıklar gösterir. Bazı mantarlar 10 °C altında üreyebilir ve soğuk ortamlarda saklanan besinler için kontaminanttırlar (Mutlu vd., 1999).

Fungusları laboratuvar ortamında üretmek ve teşhis için; Malt Ekstrakt Agar (MEA), Patates Dekstroz Agar (PDA), Maya Ekstrakt Agar, Sabouraud Glukoz Agar, Czapek Dox Agar, Czapek Yeast Autolysate Agar (CYA), Rose Bengal-Streptomycin Agar (RB), Gliserol Nitrat Agar (G25N) kullanılan besiyerlerine örnek olarak verilebilir.

2. 1. Besiyeri Bileşimine Giren Maddeler

2. 1. 1. Su

Besiyeri hazırlamada kullanılan suyun damıtma veya deiyonizasyon ile taze hazırlanmış olması, başta bakır olmak üzere toksik metalleri içermemesi gerekir. Taze hazırlanmış saf suyun pH'sı 6,5–7,5 arasında olmalıdır (Halkman, 1995).

2. 1. 2. Peptonlar

Birçok kompleks besiyerinde spesifik olarak bilinmemekle beraber önemli bir nitrojen kaynağıdır. Çeşitli enzimatik yollarla proteinlere parçalanırlar (Atlas, 2004).

Pepton terimi, proteinlerin hidrolizi ile elde edilen ürünlere verilen genel isimdir. Bu terim ilk kez Robert Koch' un çalışma arkadaşlarından Nägeli tarafından 1880 yılında kullanılmıştır. Nägeli, kemoorganotrof mikroorganizmaların kısmen parçalanmış (hazmedilmiş, sindirilmiş) protein içeren besiyerinde iyi geliştiklerini açıklayan ilk bilim adamıdır.

Yaşayan tüm hücrelerde olduğu gibi mikroorganizmalar da azot, karbon, tuzlar ve diğer besin maddelerine gereksinim duyarlar. İstisnalar dışında, mikroorganizma gruplarının oldukça büyük bir bölümü, proteinleri azot kaynağı olarak kolaylıkla kullanamaz. Bu nedenle azotlu bileşikleri, çok daha kolay kullanabildikleri protein hidrolizatlarından sağlar.

Peptonlar sadece azot değil, karbon kaynağı olarak da mikroorganizmalar tarafından kullanılır.

Pepton, çeşitli kaynaklı proteinlerin pepsin, tripsin, papain gibi enzimlerle hidrolize edilmeleri sonucu suda kolayca eriyebilen, polipeptit, dipeptid ve aminoasit gibi maddelerin karışımını içeren ortamlardır. Bakteriler tarafından azot kaynağı olarak kullanılır. Et, kazein, soya küspesi gibi proteinli maddelerin enzimlerle sindirilmeleri yolu ile elde edilir.

Bunun yanında, peptonların bileşiminde bulunan bazı aminoasitler ve vitaminler de bazı mikroorganizmalar için gelişme faktörü olarak oldukça önemli işlev görür. Peptonlar, birçok ticari firma tarafından çeşitli hayvansal dokulardan, sütten ve soyadan farklı yöntemlerle elde edilir ve farklı ticari isimlerle pazarlanır ve/veya dehidre besiyerleri içine katılır (Halkman, 1995).

2. 1. 3. Maya Ekstraktı

Maya ekstraktı (maya özütü), proteolitik olarak (parçalanmış) bira mayasının (*Saccharomyces cerevisiae*) sulu ekstraksiyonu ile elde edilir. Özellikle, yüksek B kompleks vitamini konsantrasyonu sayesinde çoğu mikroorganizmanın iyi bir şekilde gelişmesini sağlar (Halkman, 1995). Çeşitli mikroorganizmalar tarafından kullanılır, içerisindeki karışık aminoasitler, peptitler ve suda çözünebilen vitaminlerin kültür ortamındaki mikroorganizmaların gelişimini teşvik edici etkisi vardır.

2. 1. 4. Malt Ekstraktı

Malt ekstraktı (malt özütü), biralık arpanın çimlendirilmesi ve kavrulması ile elde edilen malttan üretilir. Başta maltoz olmak üzere, çeşitli karbohidratların yüksek konsantrasyonuna bağlı olarak maya ve küflerin geliştirilmesi için kullanılır (Halkman, 1995).

2. 1. 5. Agar Agar

Besiyerlerinin katı hale getirilmesi için en çok kullanılan jelleştiricidir. Çoğu kez diğer agarlı besiyerleri ile karıştırılmaması için "agar agar" olarak anılır. Agar bir poligalaktozid olup, "Agarophytes" olarak adlandırılan bazı kırmızı deniz yosunlarından (*Gelidium*, *Eucheuma*, *Gracilaria*, *Acanthopeltis*, *Ahnfeltia*, *Pterocladia* türleri) elde edilir (http://en.wikipedia.org).

Bileşiminde ayrıca inorganik tuzlar, çok az miktarda protein benzeri maddeler ve eser miktarda yağ vardır. Mikrobiyolojide kullanılan agarlar özel olarak saflaştırılarak antimikrobiyal maddeler ve pigmentlerden arındırılır.

Bileşiminde bulunan agaroz ve agaropektin adlı iki polisakkarit, agarın etkisini belirler. Agaroz, agarın yüksek jelleştirme özelliğinden sorumlu iken, agaropektin viskoz özellik verir (Halkman, 1995).

Agarın jelleşme sıcaklığı literatürde 32–39 °C olarak verilmektedir. Döküm sırasında petri kutularının oda sıcaklığında (20 °C) olduğu ve dolayısıyla petri kutusu ile besiyeri arasında ısı değişimi olacağı dikkate alınarak döküm sıcaklığının 40–45 °C kadar olması gerekir.

2. 1. 6. Karbonhidratlar

Besiyeri bileşiminde karbon kaynağı olarak en çok kullanılan karbonhidratlar glukoz, laktoz ve sakkarozdur. Besiyerlerinde genel olarak glukoz karbon kaynağı olarak kullanılır. Fruktoz ve mannoz ise yine birçok fungus tarafından kullanılır ve bazı besiyerlerinde doğal kaynak olarak bulunur. Sakkaroz, yine bazı besiyerlerinde kullanılan önemli karbon kaynağıdır (http://www.plantpath.wsu.edu).

2. 1. 7. Tuz

Aksine bir belirtme yoksa "tuz" denilince sodyum klorür anlaşılır. Çoğu besiyerinin bileşimine izotonik bir ortam oluşturmak için katılır. Bunun dışında kullanılan çeşitli tuzlar da mevcuttur.

Tüm bunların dışında tampon maddeler, pH indikatörleri ve çeşitli inhibitörlerde besiyeri bileşimine katılır (Halkman, 1995).

Besiyerleri hazırlarken kullanılacak maddelerin hassas tartı cihazlarında tartılması son derece önemlidir. Tartım işleminden sonra besiyeri otoklav ile steril edilmeden önce mutlaka sıcak su banyosunda eritilmelidir. Bu işlem süresince besiyeri içeren kap partikül kalmaması için sürekli çalkalanmalıdır. Bu işlemlerin sonunda besiyerleri kullanıma hazır hale gelmesi için otoklavda (1 atm basınçta ve 15 dk) steril edilir.

3. KÜF MANTARLARININ TEŞHİSİ

Mikroskobik fungusların teşhislerinde, mikologlar arasında bile, makro ve mikro morfolojik karakterlerinin dikkate alınması çok zor olabilmektedir. Bu morfolojik karakterler özellikle mikrofungusların kültürasyonu boyunca oluşan çevresel koşullara bağlı olmaktadır.

Kültürasyon ve inkübasyon standart metotlarla yapılmış olsa bile, teşhis için kesin güvenilir değildir. Makro ve mikro morfolojik karakterler bir cinse ait türler arasında ufak farklılıklar şeklinde ortaya çıkabilir, yalnızca deneyimli mikologlar tarafından kesin şekilde tanımlanabilir ve değerlendirilebilir. Ayrıca bir türün farklı şuşları az da olsa morfolojik farklılık gösterebilir. Bu durum teşhiste morfolojik karakterlerin güvenilir olmadığını ispatlar ve kişiyi çelişkili sonuçlara yönlendirir. Eğer standart ekim, kültürasyon, inkübasyon ve uygun mikroskobik inceleme preparasyonları yapılırsa ve güncel, esas eserler kullanılırsa uygun teşhis sonuçları elde edilir ve izolatlar büyük ölçüde teşhis edilebilir (Fisher ve Dott, 2002).

Teşhis ve inceleme için örnekler uygun kültür ortamları içeren petri kaplarına teşhise uygun şekilde ekilmeli, gelişen kolonilerin miselyum ve diğer yapıları mikroskop altında uygun büyütmede incelenmelidir. Genel olarak 2 ya da 3 nokta ekim teşhis için uygun bir ekim yöntemidir. (Raper ve Fennell, 1965).

Genelde sporulasyon marjine yakın kısımlarda hızlanmıştır, koloniler arasındaki kısımda kısıtlanmıştır. Bu nedenle mikroskobik incelemede olgun konidyal başçıklar ve marjinal gelişim değerlendirilmelidir (Raper ve Fennell, 1965).

Geçmiş yıllarda türlerin teşhisini destekleyen fizyolojik özellikleri üzerine çok sayıda çalışma yapılmıştır. Mikotoksinler, ilgili türler arasında metabolit yollarının belirlenmesinde etkili olabilmektedir. Bu teknik rutinde havasal mikro fungusların teşhisinde kanıtlanmıştır.

Moleküler biyoloji yöntemleri yaygın olarak fungus sistematiğinde uygulanır. Günümüzde laboratuvarda teşhisi yapılamayan türlerin tanımlanmasında DNA sekuens (dizi) analizleri uygulanmaktadır (Fisher ve Dott, 2002).

Penicillium teşhisi kolay değildir. Çok geniş bir cinstir ve birçok tür özel yetişmiş kişiler dışında birbirine benzer olarak görülür. Modern *Penicillium* sistematiği morfoloji, fizyoloji (özellikle koloni çapı), metabolit üretimi ve moleküler

çalışmaları kapsamaktadır. Aynı zamanda geleneksel teknikler hala sınıflandırmayı çok belirleyicidir, bunlar petri kültür kaplarının ve mikroskobisinin incelenmesidir (Pitt, 2000).

Yine *Aspergillus* cinsine ait türlerin teşhislerinde de geleneksel yöntemler sınıflandırmayı belirleyicidir.

Kültürler 7 gün boyunca 3 kültür ortamında 25 °C' de gelişime bırakılır ve bundan başka 5 °C ve 37 °C' de gelişim izlenir. Bu 3 kültür ortamı Czapek Yeast Autolysate Agar (CYA; Pitt, 1979), Malt Ekstrakt Agar (MEA; Pitt, 2000) ve %25 Gliserol Nitrat Agar (G25N; Pitt 1979), hepsi 3 sıcaklıkta da kullanılır. CYA ve G25N hazırlanacağı zaman kültür ortamının içerisine %1 oranında Czapek Konsantresi (CC) katılır (Pitt, 1979). Czapek konsantresinin içerisine Smith tarafından 1949 yılında Zn ve Cu katılıp modifiye edilmesi önerisiyle CYA besiyerinde karşılaşılan renk ve sporulasyon sorunu ortadan kalkmıştır (Klich 2002).

Mikrofungus teşhislerinde standart petri kapları kullanılır (90-100 mm), bunun haricinde 50-60 mm çaplarındaki petri kapları 5 °C' lik gelişimde kazanç sağlar. Bu küçük boyutlar binoküler altında kolay incelenmeyi sağlar.

Tüm petriler standart zaman olan 7 gün boyunca gelişime bırakılır. Petri kapları 37 °C' de gelişime bırakılırken kültür ortamında buharlaşma ve kurumayı önlemek amacıyla polietilenle kaplanmış keselerde gelişime bırakılmalıdır.

Aşılama yapılırken kültürlerde 3 nokta ekim yöntemi kullanılır. 3 noktalar merkeze ve petri kabının kenarlarına eşit uzaklıkta olmalıdır. *Penicillium* izolatlarında başıboş sporlar kolonilerin gelişimini aza indirger bu nedenler ekim yapılırken petri kapları ters çevrilir (Pitt, 2000).

3. 1. Teşhiste ve İzolasyonda Kullanılan Bazı Besiyerleri

a) Czapek Yeast Autolysate Agar (CYA25, CYA37) (Pitt, 2000; Klich 2002**)**

K_2HPO_4	1.0 g
Czapek Konsantresi	10.0 mL
Toz Maya Ekstraktı	5.0 g
Sakkaroz	30.0 g
Agar	15.0 g
Distile su	1000 mL

CYA besiyeri saprofitik fungusların kültürasyonunda ve teşhisinde kullanılan sentetik bir besiyeridir. Yani kimyasal içeriğinin ne olduğu ve bu kimyasalların miktarı bilinir. Özellikle *Aspergillus* ve *Penicillium* cinslerine ait türleri teşhis etmek amacıyla kullanılır. 7 gün boyunca 25-37 °C' de mikroskobik ve makroskobik karakterler teşhis için değerlendirilir. Ayrıca genel sayım besiyeri olarak da kullanılır.

Czapek Konsantresi **(CC -** Klich, 2002);

$NaNO_3$	30.0 g
KCl	5.0 g
$MgSO_4.7H_2O$	5.0 g
$FeSO_4.7H_2O$	0.1 g
$ZnSO_4.7H_2O$	0.1 g
$CuSO_4.7H_2O$	0.05 g
Distile su	100 mL

$NaNO_3$; suda kolaylıkla çözünür ve önemli bir kimyasal inorganik nitrattır. Nitrojen, aminoasit ve nükleik asit kaynağıdır. KCl; bir tuz olan KCl suda çok iyi çözünür ve Cl kaynağı olarak kullanılır. Enzim aktivitesinde önemlidir (Griffin, 1994). $MgSO_4.7H_2O$; besiyerindeki önemli bir mineral kaynaktır. Bunların dışında besiyeri bileşimine katılan küçük miktarlardaki kimyasal maddeler vardır ve bunlara eser element denir. Bunlar mikroorganizmanın gelişimi, fizyolojisi için son derece gereklidir (http://en.wikipedia.org). Bunlar; $FeSO_4.7H_2O$; su ve toprakta bol miktarda

bulunur, çeşitli enzim üretimi için gereklidir. $ZnSO_4.7H_2O$; çeşitli enzimlerin yapısına katılır, RNA sentezinin regülasyonunda rol oynar. $CuSO_4.7H_2O$; eser miktarda besiyerinin bileşimine katılan önemli bir inorganik tuzdur, yüksek dozda ise fungusid olarak kullanılır. Yüksek oranlardaki konsantrasyonlar funguslar ve diğer canlılar için zararlı etkiye sahip olmasına rağmen diğer eser elementlerde olduğu gibi düşük oranlardaki kullanımının gelişim için pozitif etkisi vardır.

Czapek konsantresi CYA besiyerinin yapımında kullanılmasının dışında, %20 Sakkarozlu Czapek Yeast Autolysate Agar (CY20S), Czapek Dox Agar (CZ) ve %25 Gliserol Nitrat Agar besiyerlerinin yapımında kullanılır.

b) Malt Ekstrakt Agar (MEA) (Klich, 2002; Pitt, 2000)

Malt ekstraktı	20.0 g
Pepton	1.0 g
Glukoz	20.0 g
Agar	20.0 g
Distile su	1000 mL

Dematiaceous Hyphomycetes grubuna ait fungusların tanımlanmasında kullanılır. *Aspergillus* ve *Penicillium* türlerinin teşhisinde sık olarak kullanılır. Bunun dışında izolasyon ve sayım amaçlı da kullanılabilir.

c) Patates Dekstroz Agar (PDA)

Bu besiyeri özellikle *Dematiaceous Hyphomycetes'* lerin teşhisinde kullanılan besiyeridir. Birçok fungus için çok iyi bir gelişme ortamıdır. Aşırı derecede misel gelişimi ve sporulasyon gözlenir. Bunun dışında yatık besiyeri olarak stok kültür hazırlanmasında ve sayım için de kullanılır. Ticari olarak satılan Merck toz besiyerinden 1000 mL distile su için 39 g tartılarak hazırlanır.

d) Rose Bengal Streptomycin Agar (RB)

$MgSO_4.7H_2O$	0.5 g
KH_2PO_4	1.0 g
Pepton	5.0 g
Glukoz	10.0 g
Agar	10.0 g
Rose Bengal	10 mL
Distile su	1000 mL
Streptomycin	30.0 μg

Bu besiyeri otoklavdan çıkarıldıktan sonra Streptomycin ilave edilir (1 g toz haldeki Streptomycin 33.3 mL steril distile suda çözülerek elde edilen çözeltiden 1 mL' lik bir hacim 1 L hacmindeki besiyerine ilave edilirse agarın her mL'sinde 30 μg Streptomycin bulunur). 1/30 000 w/v' lük hazırlanan stok Rose-Bengal'den alınan 10 mL'lik hacim, 990 mL'lik besiyerine eklendiğinde 1/30 000 v/v' lük oran sağlanmış olur.

Bu besiyeri atmosferden mikrofungusları izole etmek amacıyla kullanılır, Rose-Bengal boyası hızlı gelişen (örneğin, *Rhizopus spp.* ve *Trichoderma spp.*) fungusların gelişimini sınırlamak için besiyerine ilave edilir. Ayrıca bu besiyeri maya ve küf sayımında da kullanılır (Martin, 1950).

3. 1. İnceleme Ortamı

3. 1. 1. Lakto Pamuk Mavisi Çözeltisi (Sime vd., 2002)

Gliserol	250 mL
% 85'lik Laktik asit	100 mL
Pamuk Mavisi Stok	3 mL
Distile Su	50 mL

Pamuk Mavisi çözeltisinin hazırlanışı iki aşamada gerçekleşir. Birinci aşamada; kuvvetli bir şekilde karıştırılan laktik asite (99 mL % 85'lik), Pamuk Mavisi (Anilin) kristalleri (1g) ilave edilir. Daha sonra bir Büchner hunisindeki 50 Whatmann 90 mm filtre kağıdından geçirilerek çözelti vakumla filtre edilir. Filtrasyondan sonra stok boya çözeltisinin berraklığı kontrol edilir. İkinci aşamada; distile su, laktik asit ve gliserin karıştırıcı üzerinde 1 saat karıştırılır. Bu karışıma 3 mL Pamuk Mavisi Stok çözeltisi homojen olarak ilave edilir ve 1 saat daha karıştırılır. Havadan herhangi bir bulaşmayı engellemek için erlenmayerin ağzı parafilmle kapatılır (Sime vd., 2002).

4. *ASPERGILLUS'* LARIN EKONOMİK VE TIBBİ ÖNEMİ

Aspergillus cinsi ilk kez 1729 yılında Floransalı mikolog papaz P.A. Micheli tarafından keşfedilmiştir ve *Aspergillus* ismi verilmiştir. Çünkü bu cinsin spor oluşturan yapısı karakteristik olarak, kiliselerde kutsal su serpmek için kullanılan asgergilluma benzemektedir.

Aspergillus türleri dünyadaki mikro organizmalar arasında çok bol ve genelde geniş alanlarda yaygın olarak bulunan türlerdir. Çeşitli nişlere adapte olup yaşayabilmektedirler ve zaman içerisinde çok sayıda metabolit geliştirmişlerdir. Bunların bazılarından insanoğlu faydalanmaktadır (Klich, 2002).

Aspergillus cinsi sıklıkla saprofit olmakla birlikte derecede insan ve bitki patojeni olanları da vardır. Türler endüstriyel süreçlerde ve genetik çalışmalarda oldukça kullanışlıdır.

Çok sayıda antibiyotik, antitümör ve antifungal ajanlar *Aspergillus* metabolitleri tarafından üretilir. Örneğin, deneysel anti-Candida ilaçları, Cilofungin, kimyasal modifikasyonla türetilen echinocandin B, *Emericella nidulans*/ *rugulosa* tarafından üretilir (Klich, 2002).

Bazı *Aspergillus* türleri tarafından üretilen asit ve enzimlerin kullanımının ekonomiye çok büyük pozitif etkisi vardır. Amilaz ve sitrik asit, *Aspergillus* tarafından üretilen çok önemli 2 endüstriyel enzimdir. Orijinal olarak turunçgil meyvelerinin sıkılmasıyla elde edilen sitrik asitin besinlere ve içkilere hoş lezzet verdiği bildirilmektedir. 1920'li yılların ortasında 3.çeyrekte dünya çapında fungal fermentasyonla üretilen sitrik asit kullanılmaya başlandı. *Aspergillus niger* Tieghem'in sitrik asit üretimi 1920' de keşfedildi. Yılda 500.000 tondan fazla üretim kullanılmaktadır.

*Aspergillus*ların negatif etkileri, pozitif ekonomik etkileri ile dengelenmiştir. *Aspergillus*'lar hasat öncesi ve sonrası tarımsal ürünlerde bozulmaya neden olurlar. *A. niger*' in fındık başlarında bozulmaya neden olduğu bildirilmiştir. Bazı türler insan ve hayvanlarda patojendir ve bazıları da allerjendir (Klich, 2002).

Aspergillus'lar immün sistemi zayıf kişilerde aspergillosis hastalığına neden olurlar. Aspergillar artrit, sıklıkla immün sistemi zayıf olanlarda bulunur. Kronik granulomatous (CGD) esas görülen hastalıktır (Bodur vd., 2003).

A.niger allerjik bronchopulmonary hastalığa neden olabilir, invasive aspergillosis ya da doğal olarak kolonize olabilir ya da insan vücudundaki boşluklarda önceden şekillenebilir. Allerjen *A. niger* geçici alveolitise ve allerjik bronchopulmonary aspergillosise neden olur. *A. niger* nadir olarak yayılan hastalık ajanı olarak belirtilir; keratitis, endophthalmitis, primer kütenoz aspergillosis bunlara örnek olarak verilebilir (Severo vd., 1997).

İç çevrede giderek önemli şekilde artan funguslardan dolayı insanlar hastalanmaktadır. İç ortam çalışmaları hemen hemen *Aspergillus'* u kapsamaktadır. Yapılan çalışmalarda çok fazla olarak *Aspergillus* rapor edilmiştir.

Aspergillus' lar diğer funguslara göre çok daha fazla kserofildirler ve sıcaklığa karşı toleranslıdırlar. Ayrıca çok sık olarak da besinlerde bozulmaya neden olurlar (Klich, 2002).

4. 1. *Aspergillus'* ların Makromorfolojisi

a) Konidyal renk

Konidyal başların renklerini kapsar. *Aspergillus* cinsinde hemen hemen her renk görülür. Bu subgeneric sınıflandırma için temel özelliktir (Klich, 2002).

b) Koloni çapı

Belli bir büyüme periyodundan sonra koloni çapı belirir (Klich, 2002). Koloni büyümesi belirli zamanda, belirli kültür ortamlarında, farklı türlerde ve gruplarda belirli çapa ulaşır. Koloniler kendileri için maksimum çapa ulaşabilirler. Gelişim kısa süre içinde aniden bitebilir ya da haftalar süren periyotlar boyunca devam edebilir (Raper ve Fennell, 1965). Genellikle *Aspergillus* teşhislerinde üç nokta ekim yapılmış petri plaklarında 7 günlük koloniler değerlendirilir. Her bir koloninin çapı mümkünse gün ışığına tutularak ölçülür ve değerlendirme yapılır (Klich, 2002).

c) Misel rengi

Konidyoforlardan doğan vejetatif hücreler miselyumu oluşturur, genelde beyazdır fakat bazı türlerde karakteristik olarak renklidir (Klich, 2002). *Aspergillus* için renk çeşitliliği karakteristiktir ve bazı türler için çeşitlilik daha azdır (Raper ve Fennell, 1965).

d) Eksuda

Miselyum üzerinde likit damlacık şeklindedir. Mekanizması bilinmemektedir (Klich 2002).

e) Pigmentasyon

Pigment, koloni marjinin ötesinden agar içine difüze olur (Klich, 2002). *Aspergillus'*larda renk oluşumu, kesinlikle çevresel ve besinsel şartlara bağlıdır ve türlerin karakterizasyonunda güvenilir bir kriter değildir. Renk reaksiyonları doğrulayıcıdır fakat kesin değildir, türleri ayıran karakterlerdir. Tanısal karakter olarak renk kullanımındaki temel engel, renklerin yorumlanmasındaki kişisel farklılıktır. Bu gibi durumlar için genellikle renk kataloğu kullanılır. Örnek olarak Rigway' s Color Standards ve Nomenclature verilebilir (Raper ve Fennell, 1965).

f) Zonasyon

Misel gelişimindeki halkalar, kleistotesya ya da sklerotiadan herhangi biri, ya da konsantrik halkalar konidyal başçıklar ve kleistotesya ya da sklerotia ya da konidyal başçıkların dönüşümlü olarak meydana getirilmesiyle açıklanabilir. Birçok türde, bununla beraber, devamlı bir şekilde sıkışık ve dağınık konidyal yapıların ard arda gelmesiyle konsantrik halkalar gözlemlenebilir. Bu olay periyodik üretimde, besinlerde azalma ya da aşamalı olarak metabolit birikimi ya da aydınlık koşullardaki bir tepki olarak meydana gelebilir. Konidyal başçıkların yalnızca lokalize alanlarda gelişmesi konsatrik zon olarak değerlendirilmemelidir (Raper ve Fennell, 1965).

g) Koloni arkası rengi

Petri plağının arka tarafında, agar kısmındaki renk gözlemlenir. Renk sıklıkla kültür ortamına bağlıdır (Klich, 2002).

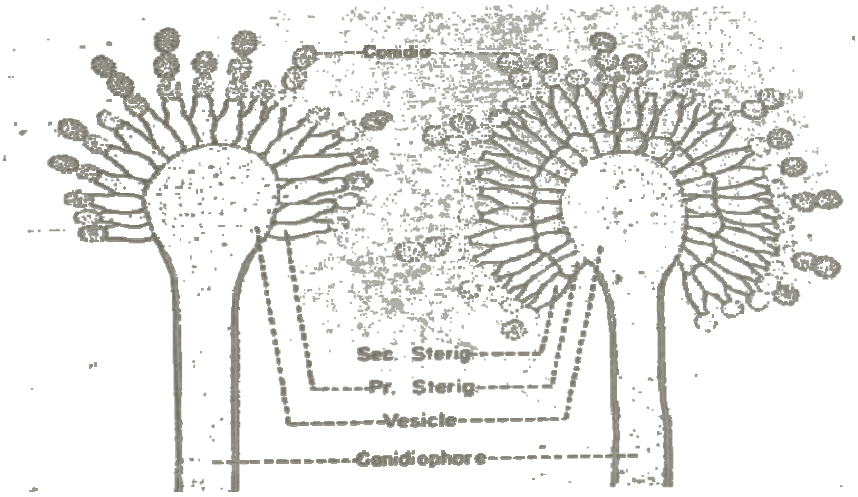
h) Sklerotia

Dayanıklı, biçim, renk ve ölçüsü karakteristik olarak farklı hif kütleleridir, kalın duvarlı, parankima benzeri hücrelerdir. Miselyum gelişimi için optimal sıcaklıklarda (24-26 °C) yüksek nitrat ve sakkaroz konsantrasyonu koşulları sklerotia oluşumunu destekler (Raper ve Fennell, 1965).

4. 2. *Aspergillus'* ların Mikromorfolojisi

a) Konidyofor

Ayak hücresinden dikey şekilde yükselen ve en sonunda konidyal baş üreten yapı konidyofor ya da sap olarak bilinir. Birçok *Aspergillus* türünde konidyoforlar dallanmazlar ve tek bir konidyal baş içerirler. Bununla beraber sınırlı sayıda dallanmış yapılar oluşturan belirli türler; *Aspergillus sparsus* Raper ve Thom, *Aspergillus wentii* Wehmer' dir (Raper ve Fennell, 1965).



A **B**

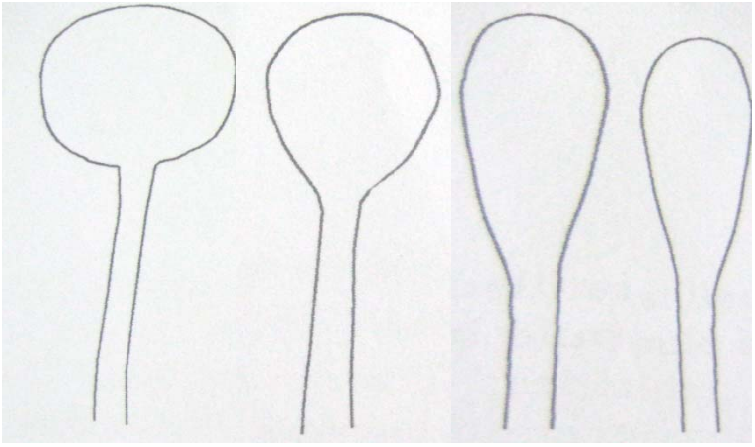
Şekil 4. 1. Konidyofor, vesikül; (A.tek seri fiyalid; B. iki seri fiyalid (Klich, 2002).

Konidyofor uzunluğu boyunca, duvar kalınlığı eşit ya da dip kısmı kalın, vesiküle yakın kısmı belirgin şekilde daha az kalın olabilir. Konidyoforlar septalı ya da septasız olabilir. Septa eğer mevcut ise nispeten ince ve kırılgandır. Bazı türlerde septalar belirgin derecede olabilirler.

Konidyoforun her yerinde hafif ya da bariz şekilde renklenme olabilir, bazı saplar yeşil, sarı, kahve renkli olabilir. Pigmentasyon duvarda veya bazı kısımlarda sınırlanmış olabilir. Pigmentasyonun derecesi, aşaması ya da lokalizasyonunun türlere değişiklik gösterdiği ya da organizmaya özgü karakteristik olduğu söylenebilir (Raper ve Fennell, 1965).

b) Vesikül

Konidyoforun en uç kısmında, küresel, yarıküresel, elipsoidal, spatul ya da uzun çomak şeklinde genişlemesiyle vesikül olarak bilinen yapı oluşur ve genişlemiş yüzey spor oluşturan hücrelerle donatılmıştır.



A. Küresel **B**. Armut **C**. Spatul **D.** Çomak

Şekil 4. 2. Vesikül çeşitleri (Klich, 2002).

Vesiküller birçok *Aspergillus'*da konidyofordan dik şekilde oluşturulur, birkaç türde karakteristik olarak eksene açı yapar (*Aspergillus cervinus* Massae) bu gibi benzer gruplarda vesikül bazen çatallı şekilde görülebilir.

Vesiküller şeffaf ya da pigmentli olabilir; pigmentasyon konidyofordan daha az ya da fazla şekilde göze çarpabilir fakat genellikle konidyoforla aynı renktedir. Vesikül şekli ve ölçüsü, türleri ayırmada önemli tanımlayıcı karakterdir. Bununla beraber vesikül ölçüsü kültür ortamının bileşimine bağlı olarak değişir (Raper ve Fennell, 1965).

c) Fiyalid

Fertil alanda vesikül spor oluşturan hücre tabakası verir. Fiyalid 1 ya da 2 seri şeklinde olabilir. Eğer bir seri ise vesikülden sonra primer fiyalid, iki seri ise primer fiyalidden sonra sekonder fiyalid gelir.

A. niger grubundaki bazı türlerde primer fiyalid belirgin derecede uzun olmasıyla farklılık gösterir, sonra sekonder fiyalid vesikülü etraflıca sarar ve sporlar meydana gelir. Her bir spor üreten hücre tek sıra zincir şeklinde bölmesiz spor taşır. Fiyalid ölçüsü genelde karakteristiktir (Klich, 2002).

d) Konidyospor

Biçim, boyut ve yüzey yapısı belirleyici özelliktir (Klich, 2002). Gerçek spor oluşturan hücre ya da fiyalid, genelde silindirik yapıdadır ve boyutu tür için karakteristiktir. Fiyalidlerdeki spor zinciri tipik olarak meydana gelir ve her bir spor 10 µm ya da daha fazla çapa ulaşabilir. Spor duvarındaki renk önemlidir çünkü konidyal başçığın rengini belirleyicidir. Sporlar düz ya da pürüzlü yüzeye sahip olabilirler ve sporlar fiyalidden dağınık ya da spin şeklinde çıkabilirler. Özellikle pürüzlü yüzeye sahip sporlar *A. niger* grubuna ait üyelerde açıkça görülür (Raper ve Fennell, 1965).

Olgun konidyalardaki pigmentasyon kırmızı-kahve; zeytin-kahveye kadar değişir, sıklıkla bazı *A. niger* gruplarında görülür (Kllich 2002).

5. *PENICILLIUM'* LARIN EKONOMİK VE TIBBİ ÖNEMİ

Doğada *Penicillium'*ların çok fazla önemi olduğu tahmin edilmektedir ve bir takım olaylara neden olurlar. *Penicillium*'lar doğada hemen hemen her yerde bulunurlar. Bazı türler toprak fungusudur; bazıları bitki örtüsünde bozulmaya neden olur, bazıları kuru ortamlarda en iyi gelişim gösterir ki buna örnek olarak tohum ya da odun verilebilir. Onların yaşama alanlarındaki rolleri bozulmadır; onlar biyolojik maddelerin doğal geri dönüşüm proseslerinde kullanılan önemli ajanlardır.

Penicillium chrysogenum Thom tarafından penisilin antibiyotiği üretilir ve bu antibiyotik 1928 yılında Alexander Fleming tarafından tesadüfi olarak keşfedilmiştir ve bugün dahi tedavi amaçlı kullanılan çok önemli bir antibiyotiktir (http://www.krctraining.com).

Bazı türler insanların yaptığı tüm ürünlerde bozulmaya neden olurlar; bazıları meyvelerde çürümeye ya da besinlerde bozulmaya neden olurlar, bazıları ise mikotoksin üretirler. Birkaç tanesi direk olarak yararlıdır, penisilin imalatında kullanılır, bu da infeksiyonların kontrolünde çarpıcı etkiye sahiptir.

Bazı türler biyolojik kimyasal madde üretme ya da modifiye etme yeteneğindedirler. Birkaç tür direk olarak besin üretimiyle ilgilidir, bu genişlemeye uygun bir alan değildir çünkü birçok tür mikotoksin üretir.

Son yıllarda *Penicillium*'lar iç ortamlardaki havada belirlenmiş ve bazı kişilerde alerjik reaksiyonlara neden olduğu görülmüştür. Çeşitli *Penicillium* türlerinin sıklıkla infeksiyonlara neden olduğu bulunmuştur. Bu cinsin önemi ve çeşitliliği, türlerin teşhisinin hassas yapılması ihtiyacını ortaya çıkarmaktadır. Onların ekolojik ilişkileri bilinmeli, verdiği hasarlar en aza indirilmeli, patojeniteleri ve potansiyel kullanım alanları bilinmelidir (Pitt, 2000).

Penicillium teşhisi kolay değildir. Modern *Penicillium* sınıflandırması, morfoloji, fizyoloji (özellikle koloni çapı), metabolit üretimi ve moleküler çalışmaları kapsamaktadır. Aynı zamanda geleneksel teknikler hala sınıflandırmayı çok belirleyicidir, bunlar petri kültür kaplarının ve mikroskobisinin incelenmesidir (Pitt, 2000).

5. 1. *Penicillium*' ların Makromorfolojisi

a) Koloni çapları

İnkübasyondan sonra makroskobik kolonilerin ters tarafından her 3 noktanın mm olarak çapları ölçülür ve not edilir (Kontaminasyonlu kolonilerin çapları ölçülmemeli, bunlar hatalı sonuçlar verir. Çap ölçülürken biçimli kolonilerin çapları ölçülmelidir, aksi halde sonuç hatalı olur).

5 °C' deki gelişim binoküler altında incelenir, buradaki koloniler mikroskobik düzeydedir. 37 °C' de sadece makroskobisi değerlendirilir, spor germinasyonu 37 °C' de güvenilen bir karakter değildir.

b) Koloni karakterleri

Koloni görünümü gözle ya da büyüteçle değerlendirilebilir, fakat stereomikroskop kullanarak yapılan inceleme daha güvenilirdir. Koloni yapısı gibi karakterler, sporulasyon derecesi ve sporların zincir dizilişi gibi karakterler en iyi stereomikroskop ile değerlendirilir.

Koloni rengine gündüz ışığında ya da gündüz ışığı veren floresan ışıkta karar verilir. Renk sözlükleri bu konuda yardımcı olmasına rağmen teşhis yapılırken şart değildir.

Methuen "Handbook of Colour" (Kornerup ve Wansscher 1978) kullanılmakta fakat baskısı tükenmiş durumdadır (Pitt, 2000).

c) Koloni görünümü ve yapısı

Çıplak gözle, mercek ve düşük güçte bileşik mikroskopla kolonilerin dört farklı yapısını incelemek mümkündür.

Velvety; kadifemsi

Floccose; yünümsü

Funiculose; lif

Fasciculate; salkım

Kadifemsi koloni yapısı**;** Konidyoforlar yüzeyden yukarı doğru yükselmiştir ve tipik kadifemsi görünümünde ya da küçük toz zerrecikleri halinde görünümleri vardır. Bu tip kolonilere karakteristik olarak *Penicillium chrysogenum, Penicillium oxalicum* Currie ve Thom, örnek verilebilir (Raper ve Thom, 1949).

Pamuksu yapı**;** koloni pamuk gibidir. Hifler besiyeri ortamında düzenli bir şekilde birbirine geçer ya da düzensizdir. Gelişimlerinin karakteristik dönemlerinde, konidyoforlar havasal hiflerinde dallanmış gibi görünür. Spor oluşumu genelde ilk olarak merkezde başlar ve kademeli olarak marjine doğru ilerler. Kadifemsi ya da pamuksu koloniler bazen uç noktalarda farklılık gösterebilirler. Bu duruma ekstrem koşullar neden olabilir. Gözlemcinin hangi koşullarda gözlem yaptığı ve örneğin alındığı yere bağlı olarak değişir (Raper ve Thom, 1949).

Lifsi yapı; bazı türler havasal hiflerle karakterize edilir. Birçok hif çeşitli kordonlar meydana getirir ya da sarıp sarmalanırlar.

Salkım yapı**;** tüm formlarda marjinal alanda hızlı bir gelişim gözlenir, koloniler pürtüklü yada granuler yada unsudur. Mikroskobik incelemede mikroskobik ya da unsu görülür ya da konidyoforlar demetimsidir. Bazı türlerde koloninin marjin kısmında fark edilir şekilde kısım kısım olabilmektedir.

d) Eksuda

Bazı türler miselyum tabakasında damlacık şeklinde terler. Özellikle CYA besiyerinde geliştiyse gözlenir. Eksuda üretimi bazı türlerde çarpıcı özelliktir. Renk ve eksuda üretiminin varlığı sistematik özellik olarak kullanılır.

e) Pigmentasyon

Miselyumdaki renkler, eksuda, pigment besiyeri içerisine yayılmıştır ve petrinin alt kısmındaki renk sistematik özellik olarak çok kullanışlıdır. Bu tip pigmentasyonlar genetik kontrol altındadır ve açığa vurulabilir ya da vurulmayabilir. Pigment bulunuşu sistematik karakterdir, pigmentasyon negatif karakter olarak kabul edilemez (Pitt, 2000).

e) Sulkat yapısı

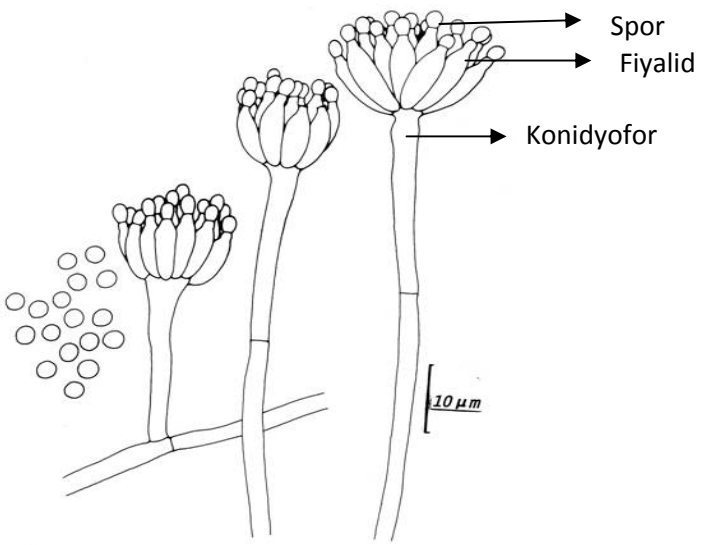
Koloni yüzeyindeki yarık oluşumunu ifade eder. Marjinal bölgeden uzakta koloni gelişimi, koloni ve ortamın bükülmesine neden olabilir. Genelde CYA besiyerinde meydana gelir ve sulkat olarak tanımlanır. Bazı türlerde düzensiz buruşuk oluşumlar türlerin karakteristiği olarak kabul edilir.

f) Koku

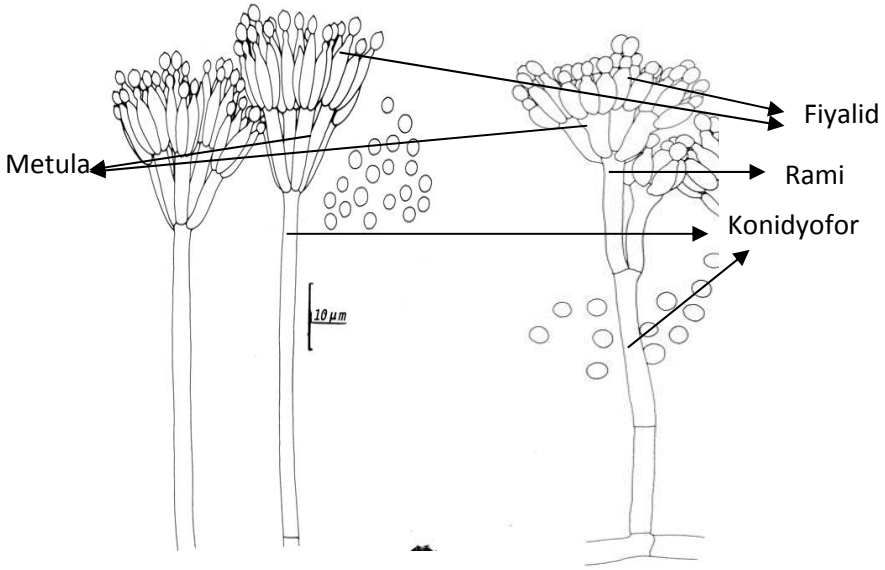
Bazen dikkat çekici olurken gerçekte asla tamamlayıcı bir karakter değildir. Teşhis için destekleyici olarak kullanılabilir (Raper ve Fennell, 1965).

5. 2. *Penicillium'* ların Mikromorfolojisi

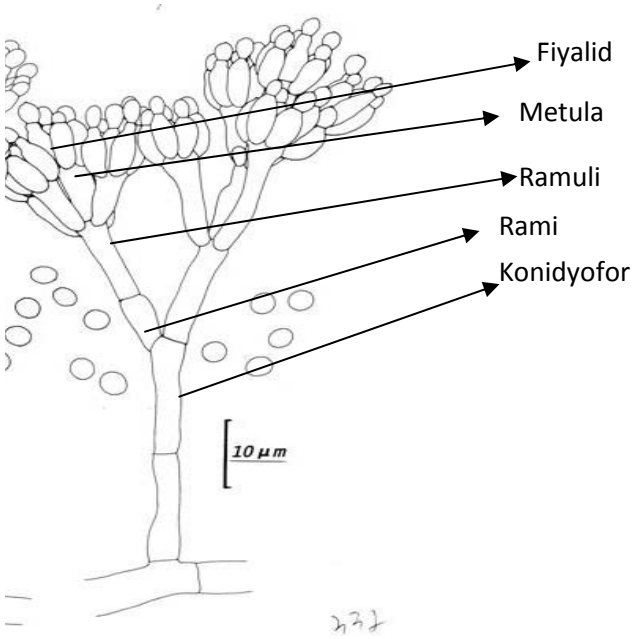
Sporlar fiyalidlerden zincir şeklinde meydana gelir. Konidyofordan sonra rami denilen bir yapı oluşur, ramiden sonra gelen yapıya ramuli denir. Bazı türlerde bir sonraki evrede rami ile fiyalid arasında ramuli denilen bir yapı oluşur. Metuladan sonra sporları meydana getiren fiyalidler uzanır. Yüksek kalitede binoküler bileşim mikroskop sporların ve diğer yapıların incelenip *Penicillium* teşhisinin yapılabilmesi için gereklidir. Bu yapıların meydana gelişine bağlı olarak *Penicillium'* lar bir takım gruplara ayrılırlar. Monovertisillat grubundakilerde konidyofordan sonra direk fiyalid meydana gelir. Bivertisillat yapıda, konidyofordan sonra metula gelir. Tervertisillat yapıda konidyofor, rami, metula şeklinde devam eder ve quartervertisillat yapıda, rami ile fiyalid arasında ramuli vardır. (Pitt, 2000).


Spor
Fiyalid
Konidyofor
10 µm

A


Metula
Fiyalid
Rami
Konidyofor
10 µm

B **C**



D

Şekil 5. 1. *Penicillium* sp. A. monovertisillat; B. bivertisillat; C. tervertisillat, D. quartervertisillat (http://www.bcrc.firdi.org.tw/fungi)

Penicillium mikroskobik incelemeleri için parlak alan, faz kontrast ve interference kontrast mikroskopları uygundur. Eğer parlak alan mikroskobu kullanılacaksa preparasyon mutlaka boyanmalıdır, sistem aksi halde tatmin edici olmaz.

Faz kontrast ile inceleme yapılırken boyanma yapılmamalıdır, aksi halde hiçbir yapı görülemez.

Mikolojik çalışmalarda çok çeşitli boyalar kullanılır, buna rağmen bu boyaların hazırlanması ve kullanılması çok uzun zaman alır, çünkü fungal duvarlar ve sporlar boyalara karşı dirençlidir.

6. MATERYAL VE METOD

6. 1. Materyal

Bu çalışmada araştırma materyali olarak kullanılan mikroskobik funguslar Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji Araştırma Laboratuvarından temin edildi. 6 farklı tür ile çalışıldı. Bunlar; *A. niger, A. wentii, A. terreus, P. chrysogenum, P. janthinellum, P. aurantiogriseum'* dur.

6. 1. 1. Kullanılan Besiyeri Ortamları

Czapek Yeast Autolysate Agar (CYA), Malt Ekstrakt Agar (MEA), Patates Dekstroz Agar (PDA), Rose Bengal Streptomycin Agar (RB) ve bu besiyerlerinin içeriği değiştirilmiş olanlarıyla çalışıldı.

a) CYA (Pitt, 2000 ve Klich, 2002)

K_2HPO_4	1.0 g
CC	10.0 mL
Toz Maya Ekstraktı	5.0 g
Sakkaroz	30.0 g
Agar	15.0 g
Distile su	1000 mL

CC (Klich 2002);

$NaNO_3$	30.0 g
KCl	5.0 g

$MgSO_4.7H_2O$	5.0 g
$FeSO_4.7H_2O$	0.1 g
$ZnSO_4.7H_2O$	0.1 g
$CuSO_4.7H_2O$	0.05 g
Distile su	100 mL

b) CYA - 1;

K_2HPO_4	1.0 g
CC - 1	10.0 mL
Toz Maya Ekstraktı	5.0 g
Sakkaroz	30.0 g
Agar	15.0 g
Distile su	1000 mL

CC - 1;

KNO_3	30.0 g
KCl	5.0 g
$MgSO_4.7H_2O$	5.0 g
$FeSO_4.7H_2O$	0.1 g
$ZnSO_4.7H_2O$	0.1 g
$CuSO_4.7H_2O$	0.05 g
Distile su	100 mL

c) CYA - 2;

K_2HPO_4	1.0 g
CC - 2	10.0 mL
Toz Maya Ekstraktı	5.0 g
Sakkaroz	30.0 g

Agar	15.0 g
Distile su	1000 mL

CC - 2;

KNO_3	15.0 g
$NaNO_3$	15.0 g
KCl	5.0 g
$MgSO_4.7H_2O$	5.0 g
$FeSO_4.7H_2O$	0.1 g
$ZnSO_4.7H_2O$	0.1 g
$CuSO_4.7H_2O$	0.05 g
Distile su	100 mL

d) CYA - 3;

K_2HPO_4	1.0 g
CC - 3	10.0 mL
Toz Maya Ekstraktı	5.0 g
Sakkaroz	30.0 g
Agar	15.0 g
Distile su	1000 mL

CC - 3;

$NaNO_3$	30.0 g
KCl	5.0 g
$MgSO_4.7H_2O$	5.0 g
$FeSO_4.7H_2O$	0.1 g
$CuSO_4.7H_2O$	0.05 g
Distile Su	100 mL

e) CYA - 4;

K_2HPO_4	1.0 g
CC - 4	10.0 mL
Toz Maya Ekstraktı	5.0 g
Sakkaroz	30.0 g
Agar	15.0 g
Distile su	1000 mL

CC - 4;

$NaNO_3$	30.0 g
KCl	5.0 g
$MgSO_4.7H_2O$	5.0 g
$FeSO_4.7H_2O$	0.1 g
$ZnSO_4.7H_2O$	0.1 g
Distile Su	100 mL

f) CYA - 5;

K_2HPO_4	1.0 g
CC - 5	10.0 mL
Toz Maya Ekstraktı	5.0 g
Glukoz	30.0 g
Agar	15.0 g
Distile su	1000 mL

CC - 5;

$NaNO_3$	30.0 g
KCl	5.0 g
$MgSO_4.7H_2O$	5.0 g
$FeSO_4.7H_2O$	0.1 g
$ZnSO_4.7H_2O$	0.1 g
$CuSO_4.7H_2O$	0.05 g
Distile Su	100 mL

g) MEA (Klich, 2002 ve Pitt, 2000)

Malt Ekstraktı	20.0 g
Pepton	1.0 g
Glukoz	20.0 g
Agar	20.0 g
Distile su	1000 mL

h) MEA - 1;

Gliserol	100 mL
Malt Ekstraktı	20.0 g
Pepton	1.0 g
Glukoz	20.0 g
Agar	20.0 g
Distile su	1000 mL

ı) RB (Martin, 1950)

$MgSO_4.7H_2O$	0.5 g
KH_2PO_4	1.0 g
Pepton	5.0 g
Glukoz	10.0 g
Agar	10.0 g
Rose Bengal	10 mL
Distile su	100 mL
Streptomycin	30 μg

i) RB- 1;

KH_2PO_4	1.0 g
Pepton	5.0 g
Glukoz	10.0 g
Agar	10.0 g
Rose Bengal	10 mL
Distile su	1000 mL
Streptomycin	30.0 μg
CC	10 mL

CC **(**Klich, 2002);

$NaNO_3$	30.0 g
KCl	5.0 g
$MgSO_4.7H_2O$	5.0 g
$FeSO_4.7H_2O$	0.1 g
$ZnSO_4.7H_2O$	0.1 g
$CuSO_4.7H_2O$	0.05 g
Distile su	100 mL

j) RB - 2;

$MgSO_4.7H_2O$	0.5 g
$ZnSO_4.7H_2O$	0.05 g
KH_2PO_4	1.0 g
Pepton	5.0 g
Glukoz	10.0 g
Agar	10.0 g
Rose Bengal	10 mL
Distile su	1000 mL
Streptomycin	30.0 µg

k) RB - 3;

$MgSO_4.7H_2O$	0.5 g
KH_2PO_4	1.0 g
Pepton	5.0 g
Sakkaroz	10.0 g
Agar	10.0 g
Rose Bengal	10 mL
Streptomycin	30. 0 µg
Distile su	1000 mL

l) PDA

Ticari olarak hazır halde satılan (Merck) toz besiyerinden 1000 mL distile su için 39 g kullanıldı.

m) PDA – 1

1000 mL distile su içinde çözündürülen 39 g ticari besiyerinin içerisine % 0.05 g $MgSO_4.7H_2O$ ilave edildi.

n) PDA – 2

1000 mL distile su içinde çözündürülen 39 g ticari besiyerinin içerisine % 0.1 g KH_2PO_4 ilave edildi.

6. 2. Metod

Hazırlanan besiyerleri önce cam erlenmayerlerde benmari usulü çözündürüldü ve 20 mL' lik hacimlerde yine cam erlenmayerlere dağıtıldı, daha sonra otoklavda 1 atm basınçta 15 dk. steril edildikten sonra petri kaplarına döküldü. Her bir kültür ortamı için standart 90 mm çapında plastik petri plakları kullanıldı.

Çalışılan türler yatık PDA besiyerinde 1 hafta 25 °C'lik etüvde inkübe edildikten sonra buzdolabına kaldırıldı ve her bir aylık periyotta, türler taze yatık besiyerine pasaj alındı.

6. 2. 1. Kültürasyon

Yatık besiyerindeki kültür örneği ile çalışırken öncelikli olarak spor süspansiyonu hazırlandı. İlk önce 9/1000' luk serum fizyolojik (1000 mL distile su, 9 g NaCl) hazırlandı ve otoklavda 1 atm basınçta 15 dk. steril edildi. Hazırlanan bu çözelti steril pipet yardımıyla 5 mL lik hacimlerde yatık agarlı besiyerinde bulunan kültüre bunzen bek alevi yanında ilave edildi ve öze yardımıyla kültür ile serum fizyolojiğin birbirine iyice karışması sağlandı. Ardından serum fizyolojik ve spor karışımı steril boş tüplere aktarıldı ve elde edilen karışımın homojen olması için vorteks ile 5 dk. muamele edildi.

Homojen spor karışımının bir damlası thoma lamında sayıldı ve mL'sinde ne kadar spor olduğu tespit edildi. Daha sonra bu spor süspansiyonu 10^6 CFU/mL olacak şekilde sulandırma yapıldı ve 10^6 CFU/mL spor içeren süspansiyondan 1 mL'lik pipetle her bir besiyerinin merkezine bir damla olacak şekilde ekim yapıldı (Palacios-Cabrera vd., 2005). Tüm türler için besiyerlerine 5 seri ekim yapıldı. Daha sonra kültürler 25 °C ve 35 °C' de 7 gün inkübasyona bırakıldı.

37 °C' deki inkübasyon sırasında besiyerinde su kaybını önlemek amacıyla petri plağının etrafı parafilm ile sarıldı.

İnkübasyonun yapıldığı günü takip eden 3.gün ve sonrasında her 24 saatte bir, 7. güne kadar petri plaklarının arka kısımlarından koloni çapları ölçüldü ve ölçüm değerleri not edildi. 7. günün sonunda oluşan kolonilerin makroskobik ve mikroskobik görünümlerinin fotoğrafları çekildi ve değerlendirme yapıldı.

6. 2. 2. Preparasyon

7. günün sonunda gelişen fungal kültürlerin mikroskopta incelenip fotoğraflarının çekilebilmesi için preparasyonları yapıldı. Preparasyon için, Lakto Pamuk Mavisi Çözeltisi, fungusların mikroskobik incelemeleri için selobant preparatlarda inceleme ortamı olarak kullanılmıştır.

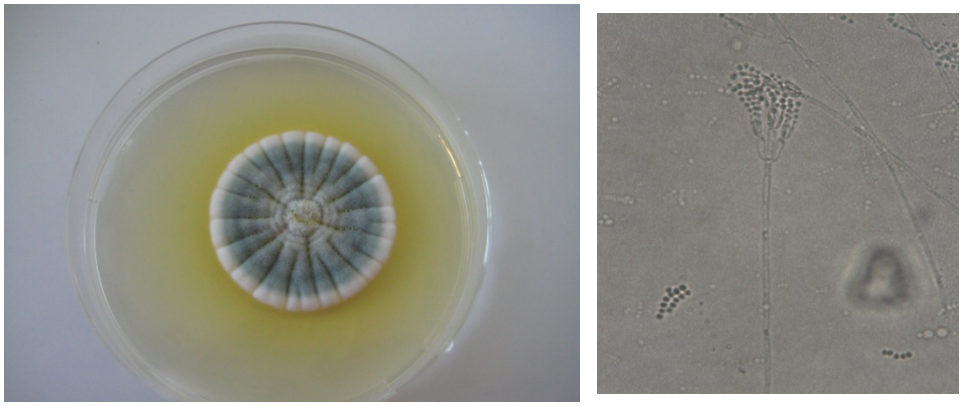
7. BULGULAR

7. 1. *Penicillium janthinellum*

7. 1. 1. Czapek Yeast Autolysate Agar (CYA)

Bu besiyeri standart içerikli besiyeridir. Klich 2002 formülasyonuna göre hazırlanmıştır. Bundan sonraki beş CYA besiyeri bu besiyeri göz önüne alınarak değerlendirilmiştir.

Koloniler 7 günde 25 °C' de 47-48 mm çapında**,** koloninin genel yapısında ışınsal sulkat(yarık) mevcut ve koloninin genel yapısı pamuksu, miselyum beyaz, sporulasyon az, grimsi yeşil renkte, parlak sarı renkte çözünür pigment mevcuttur. Mikroskobik olarak ise konidyoforlar düzgün duvarlı ve ince, sporlar küresel ve düzgün duvarlıdır. 37 °C' de gelişim gözlemlenmedi.



A **B**

Şekil. 7. 1. 1. *P. janthinellum'* un CYA besiyerindeki görünümü (A. 7 günlük koloni; B**.** Işık mikroskobu x 400)

b) CYA – 1 ve CYA – 2;

Tüm özellikler CYA besiyeri ile aynı, makroskobik ya da mikroskobik bir fark gözlemlenmedi. 37 °C' de gelişim gözlemlenmedi.

c) CYA – 3;

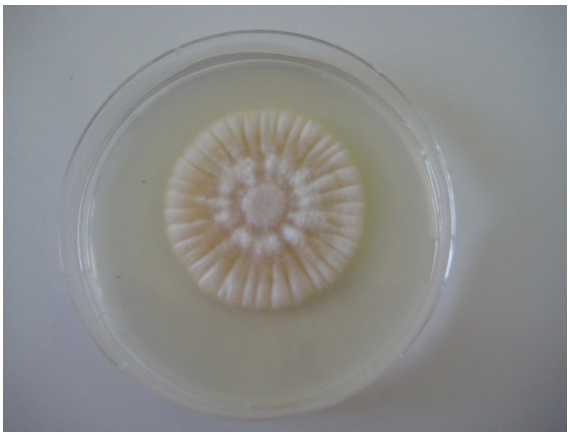
25 °C' de 7 günde koloni çapı 47-48 mm, sporulasyon son derece zayıf, grimsi, koloninin merkezinde yükselti şeklinde bir yapı mevcut ve pamuksu, parlak sarı pigmentasyon mevcut fakat CYA besiyerinden daha az, marjinde miselyum beyaz renklidir ve mikroskobik yapısında CYA besiyeri ile arasında bir fark gözlemlenmedi. 37 °C' de gelişim gözlemlenmedi.



Şekil 7. 1. 2. *P. janthinellum'* un CYA – 3 besiyerinde 7 günlük koloni görünümü

d) CYA – 4;

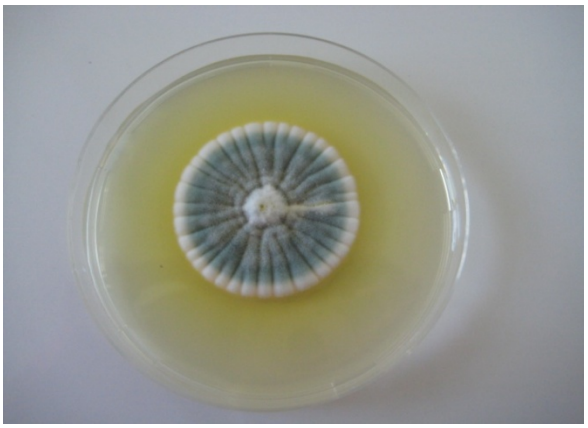
25 °C' de 7 günde koloni çapı 45-48 mm' dir. Pigmentasyon ve sporulasyon oluşumu gözlenmedi. Misel rengi bej, sulkat yapısı mevcut ve yarık sayısının oldukça fazla olduğu görüldü. Bunun dışındaki tüm makroskobik ve mikroskobik özellikler CYA besiyeri ile aynıdır. 37 °C' de gelişim gözlemlenmedi.



Şekil 7. 1. 3. *P. janthinellum'* un CYA – 4 besiyerinde 7 günlük koloni görünümü

e) CYA – 5;

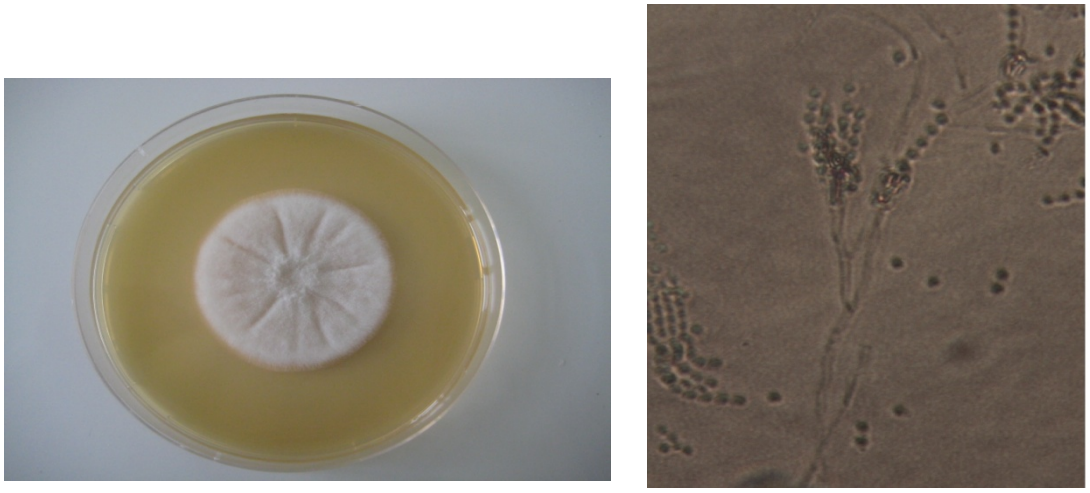
25 °C' de 7 günde koloni çapı 45-50 mm' dir. Sporulasyon oldukça fazla derecede ve mavimsi gri olarak gözlemlendi. Bunun dışındaki tüm makroskobik ve mikroskobik özellikler CYA besiyeri ile aynıdır. 37 °C' de gelişim gözlemlenmedi.



Şekil 7. 1. 4. *P. janthinellum'* un CYA – 5 besiyerinde 7 günlük koloni görünümü

7. 1. 2. Malt Ekstrakt Agar (MEA)

Standart içerikli besiyeri ortamıdır, Klich 2002 formülasyonuna göre hazırlanmıştır. Koloniler 7 günde 25 °C' de 45-46 mm çapında, koloni yapısı pamuksu, çözünür pigment, sporulasyon ve eksuda yok, sulkat mevcut fakat çok seyrek olarak görüldü. Mikroskobik karakterler CYA besiyeri ile aynı, konidyofor düz ve ince, sporlar küreseldir. 37 °C' de gelişim gözlemlenmedi.

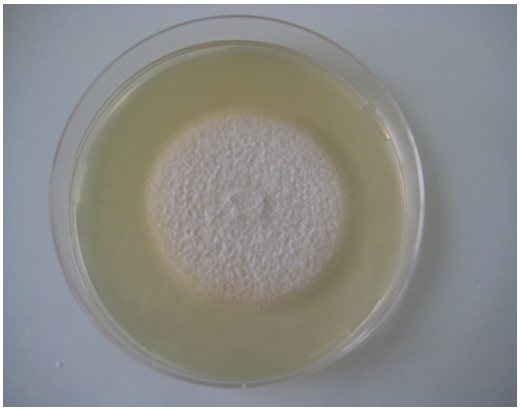


A **B**

Şekil 7. 1. 5. *P. janthinellum'* un MEA besiyerindeki görünümü (A. 7 günlük koloni; B. Işık mikroskobu x 400)

a) MEA – 1;

7 günde 25 °C' de oluşan koloni çapı 54-55 mm, yani oldukça fazla ve hızlı bir gelişim gözlemlendi, sulkat oluşumu yok ve kolonide belirgin ölçüde çürük kokusu mevcuttur. Bunun dışındaki tüm makroskobik ve mikroskobik karakterler CYA besiyeri ile aynıdır. 37 °C' de gelişim gözlemlenmedi.

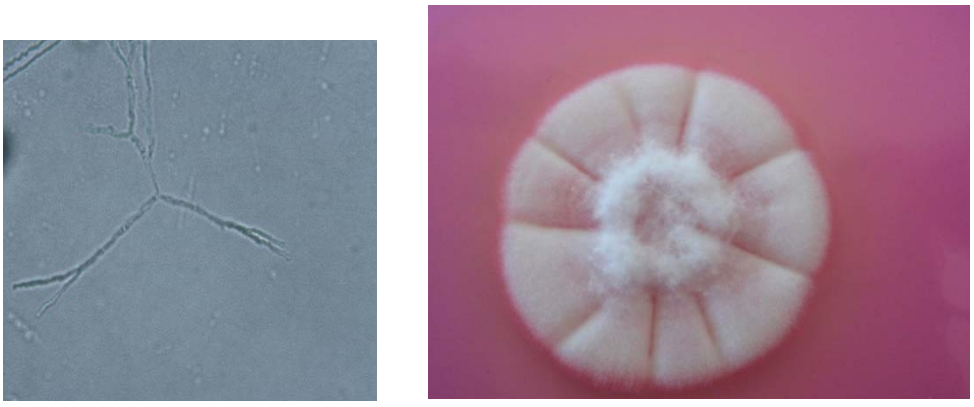


Şekil 7.1.6. *P. janthinellum'* un MEA – 1 besiyerinde 7 günlük koloni görünüm

7. 1. 3. Rose Bengal Streptomycin Agar (RB)

Standart içerikli besiyeridir. Bundan sonraki üç farklı RB bu besiyeri göz önüne alınarak değerlendirilmiştir.

7 gün 25 °C' de koloni çapı 31-33 mm, sporulasyon hiç yok, koloni yapısı pamuksu ve miselyum beyaz, merkez umbonat ve bu kısımda pamuksuluk fazla, parlak sarı pigmentasyon mevcut, eksuda yok, sulkat oluşumunun seyrek olduğu görüldü. Mikroskobik incelemede konidyoforlarda fiyalid yapısına rastlanmadı. 37 °C' de gelişim gözlemlenmedi.

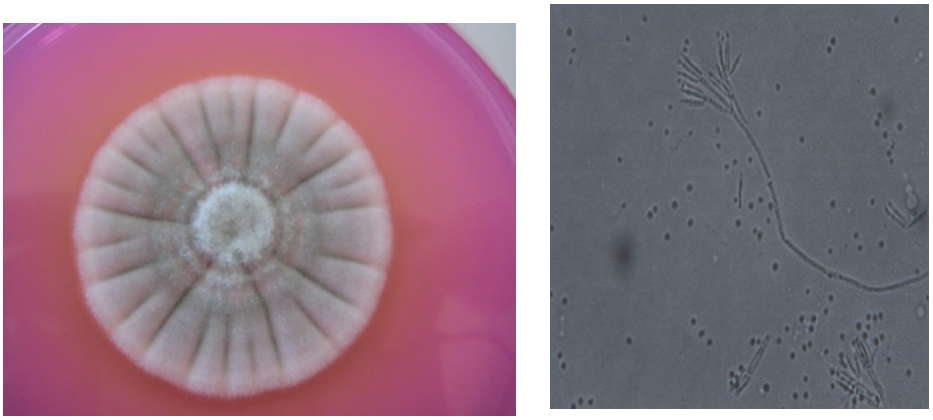


A **B**

Şekil 7. 1. 7. *P. janthinellum'* un RB besiyerindeki görünümü (A. Işık mikroskobu x 400; B. 7 günlük koloni)

a) RB - 1;

Koloniler 7 günde 25 °C' de 42-43 mm çapında, donuk grimsi yeşil sporulasyon mevcut, sulkat belirgin derecede fazla ve yarık sayısı fazla, eksuda yok, mikroskobik olarak ise konidyofor düzgün duvarlı ve ince, sporlar küreseldir. 37 °C' de gelişim gözlemlenmedi.



A **B**

Şekil 7. 1. 8. *P. janthinellum'* un RB – 1 besiyerindeki görünümü (A. 7 günlük koloni; B. Işık mikroskobu x 400)

b) RB– 2;

Koloniler 7 günde 25 °C' de 23-27 mm çapında, sporulasyon hiç yok, merkez hafif umbonat, sulkat yapısı düzensiz, misel oluşumu kolonide belirgin derecede baskın ve beyaz, eksuda yok, çözünür pigment sarı renkte mevcut, koloni yapısı pamuksu, mikroskobik karakterlerin ve görünümün RB besiyeri ile aynı olduğu görüldü. 37 °C' de gelişim gözlemlenmedi.



Şekil 7. 1. 9. *P. janthinellum'* un RB – 2 besiyerinde 7 günlük koloni görünümü

c) RB – 3;

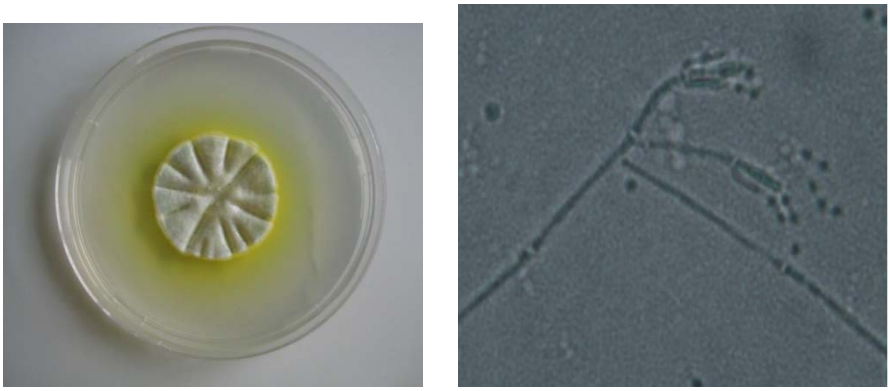
Koloniler 25 °C' de 7 günde 28- 30 mm çapında, Sporulasyon ve eksuda yok, parlak sarı çözünür pigment mevcut, sulkat yapısı seyrek, merkez umbonat ve yoğun derecede pamuksu, koloninin genel yapısı pamuksu, mikroskobik karakterlerde bir değişiklik görülmedi. 37 °C' de gelişim gözlemlenmedi.



Şekil 7. 1. 10. *P. janthinellum'* un RB – 3 besiyerindeki 7 günlük koloni görünüm

7. 1. 4. Patates Dekstroz Agar (PDA)

Standart içerikli besiyeridir. 7 günde 25 °C' de koloni çapı 33-35 mm, sporulasyon yok, koloni yapısı pamuksu, parlak sarı renkte çözünür pigment ve şeffaf eksuda mevcuttur. Mikroskobik olarak, konidyofor düzgün duvarlı ve ince, sporlar küreseldir. 37 °C' de gelişim gözlemlenmedi.



A **B**

Şekil 7. 1. 11. *P. janthinellum'* un PDA besiyerindeki görünümü (A. 7 günlük koloni; B. Işık mikroskobu x 400)

a) PDA – 1;

25 °C' de 7 günde koloni çapı 39-41 mm' dir. PDA' dan farklı olarak sulkat yapısı fazla ve sporulasyon oluşmaya başlamış, diğer tüm özellikler aynıdır. 37 °C' de gelişim gözlemlenmedi.



Şekil 7. 1. 12. *P. janthinellum'* un PDA – 1 besiyerindeki 7 günlük koloni görünümü

b) PDA – 2;

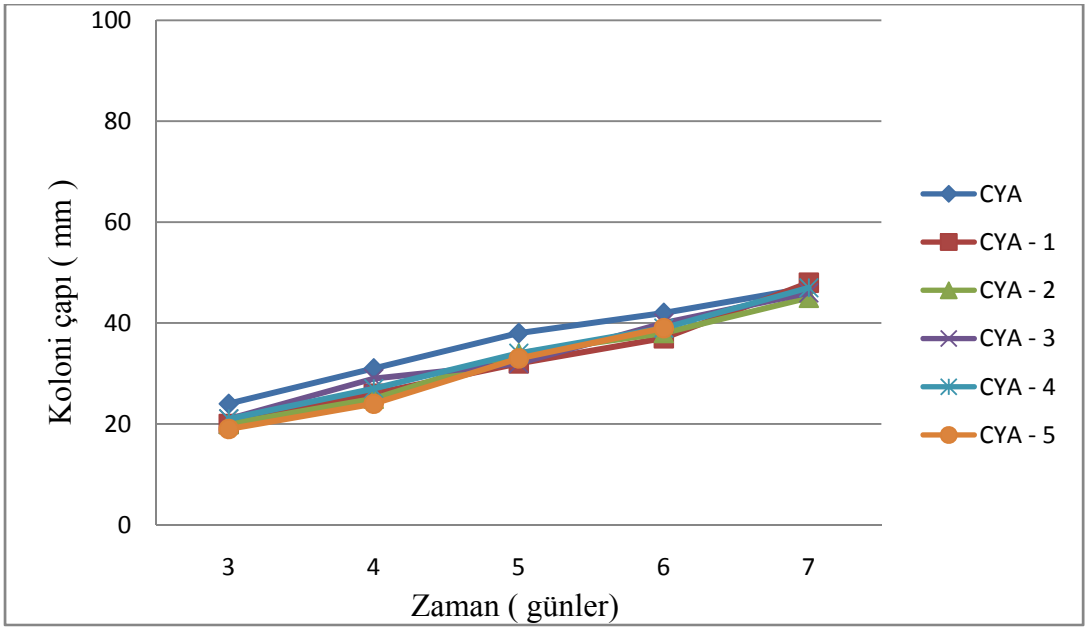
7 günde 25 °C' de koloni çapı 38-42 mm, PDA' dan farklı olarak çözünür pigment ve eksuda oluşumu yok, kolonide sınırlanmış alanlarda mavi sporulasyon oluşumu görüldü, koloni yapısı pamuksu, sulkat mevcut, miselyum krem renklidir. Mikroskobik karakterlerde bir değişiklik yoktur ve 37 °C' de gelişim gözlemlenmedi.



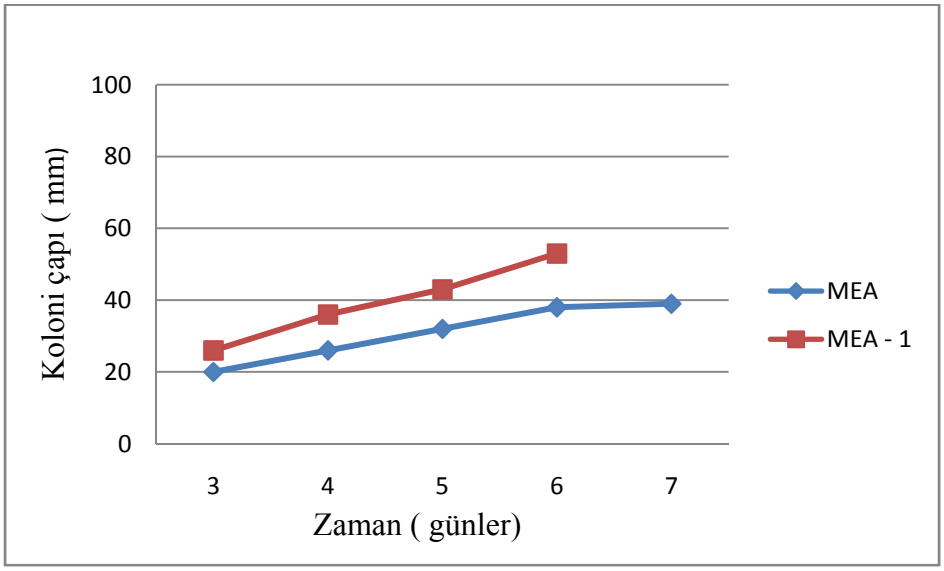
Şekil 7. 1. 13. *P. janthinellum'* un PDA – 2 besiyerinde 7 günlük koloni görünüm

Tablo 7. 1. 1. *P. janthinellum*' un standart ve içeriği değiştirilmiş besiyerlerindeki koloni çap ölçüm değerleri (mm)

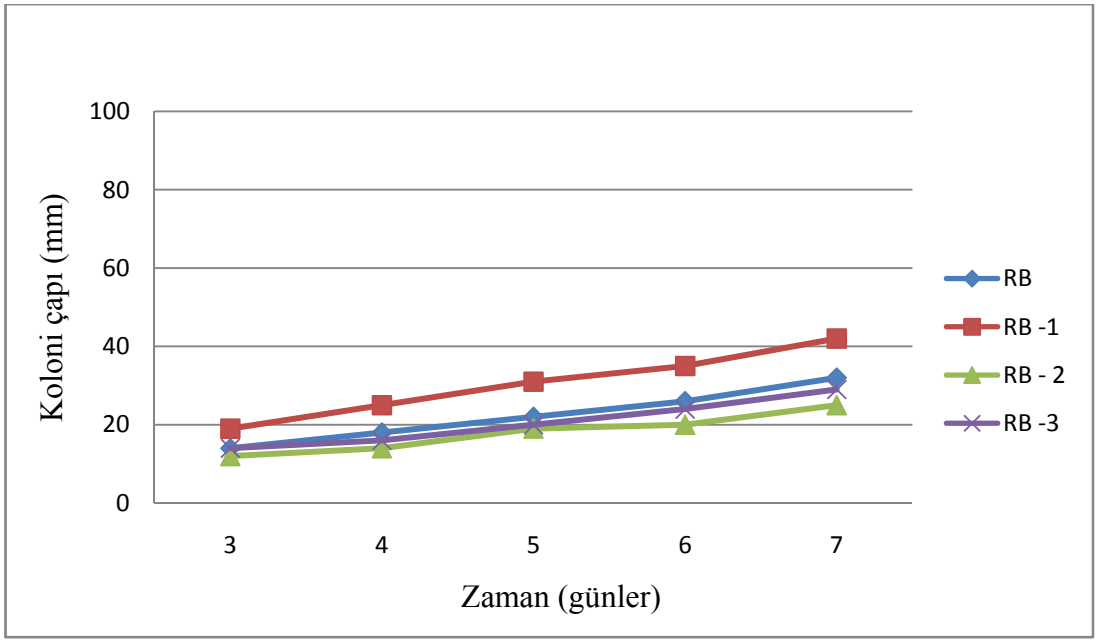
	3.GÜN		4.GÜN		5.GÜN		6.GÜN		7.GÜN	
	25 ˚C	**37 ˚C**	**25 ˚C**	**37 ˚C**	**25 ˚C**	**37 ˚C**	**25 ˚C**	**37 ˚C**	**25 ˚C**	**37 ˚C**
CYA	23-25	-	28-32	-	37-38	-	40-43	-	47-48	-
CYA-1	19-22	-	25-27	-	31-33	-	35-41	-	48-49	-
CYA-2	19-23	-	24-29	-	32-34	-	37-39	-	43-47	-
CYA-3	21-22	-	28-30	-	32-33	-	39-42	-	45-48	-
CYA-4	19-21	-	26-29	-	32-36	-	38-41	-	46-50	-
CYA-5	18-20	-	25-26	-	33-34	-	37-39	-	44-45	-
MEA	20-21	-	25-27	-	32-33	-	37-38	-	35-46	-
MEA-1	23-28	-	31-37	-	42-45	-	42-54	-	54-55	-
RB	14-15	-	18-19	-	22-23	-	26-27	-	31-33	-
RB-1	19-20	-	25-25	-	31-32	-	34-36	-	42-43	-
RB-2	11-13	-	13-15	-	18-21	-	18-22	-	24-27	-
RB-3	13-14	-	16-17	-	20-21	-	24-25	-	28-30	-
PDA	17-19	-	21-22	-	28-30	-	32-33	-	33-35	-
PDA-1	20-21	-	24-26	-	30-32	-	33-38	-	39-41	-
PDA-2	17-18	-	24-25	-	29-31	-	34-36	-	38-42	-



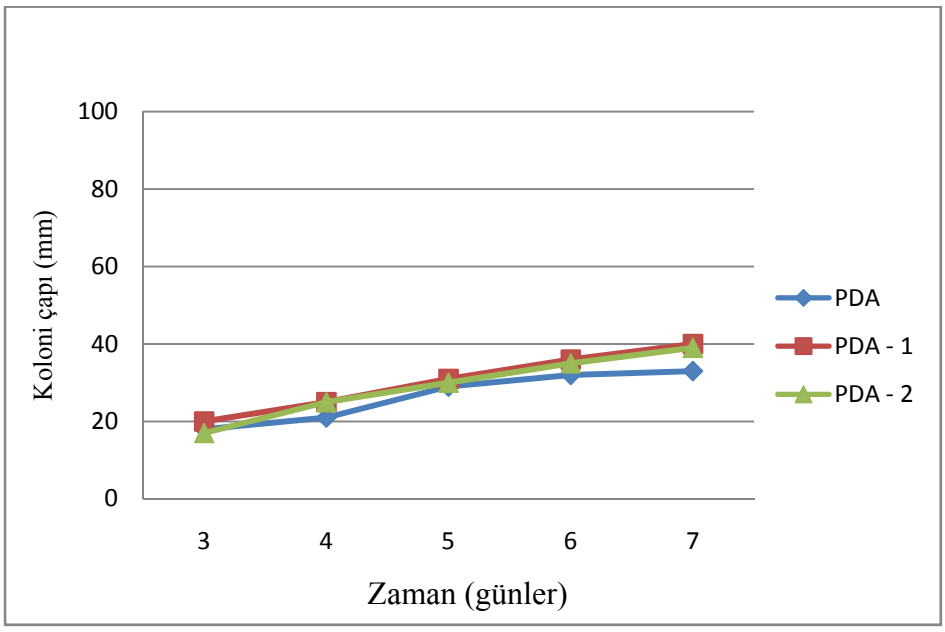
Şekil 7. 1. 14. *P. janthinellum*' un 25 °C' de CYA besiyerlerindeki gelişim dağılımı



Şekil 7. 1. 15. *P. janthinellum*' un 25 °C' de MEA besiyerlerindeki gelişim dağılımı



Şekil 7. 1. 16. *P. janthinellum*' un 25 °C' de RB besiyerlerindeki gelişim dağılımı

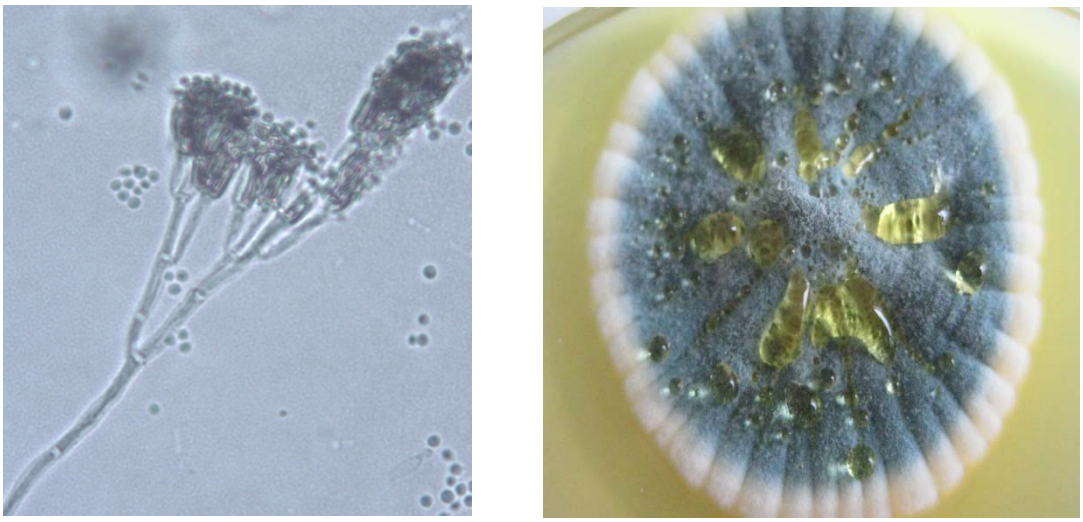


Şekil 7. 1. 17. *P. janthinellum*' un 25 °C' de PDA besiyerlerindeki gelişim dağılımı

7. 2. *Penicillium chrysogenum*

7. 2. 1. Czapek Yeast Autolysate Agar (CYA);

Bu besiyeri standart içerikli besiyeridir. Klich 2002 formülasyonuna göre hazırlanmıştır. Bundan sonraki altı CYA besiyeri bu besiyeri göz önüne alınarak değerlendirilmiştir.



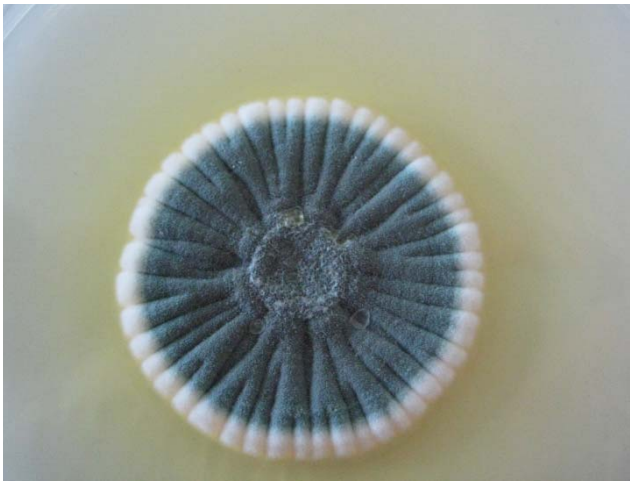
A **B**

Şekil 7. 2. 1. *P. chrysogenum*' un CYA besiyerindeki görünümü(A. Işık mikroskobu x 400; B. 7 günlük koloni)

Koloniler 7 günde 25 °C' de 35-37 mm çapında, ışınsal sulkat belirgin ölçüde mevcut, parlak sarı renkte eksuda var, koloninin genel yapısı kadifemsi, sporulasyon rengi donuk mavi, parlak sarı renkte çözünür pigment mevcuttur. Mikroskobik olarak ise konidyoforlar ince ve düzgün duvarlı, sporlar küreseldir ve 37 °C' de gelişim gözlemlenmedi.

a) CYA – 1;

25 °C' de 7 günde koloni çapı 38-39 mm, eksuda belirgin şekilde indirgenmiş durumda, sporulasyon koyu mavi renginde, merkezde koloni yapısı pamuksulaşmaya başlamış durumdadır. Diğer tüm makroskobik ve mikroskobik karakterlerde bir değişiklik görülmedi. 37 °C' de gelişim gözlemlenmedi.



Şekil 7. 2. 2. *P. chrysogenum*' un CYA - 1 besiyerindeki 7 günlük koloni görünümü

b) CYA – 2;

Tüm özellikler CYA – 1 besiyeri ile aynıdır. Makroskobik ya da mikroskobik bir fark görülmedi. 37 °C' de gelişim gözlemlenmedi.

c) CYA – 3;

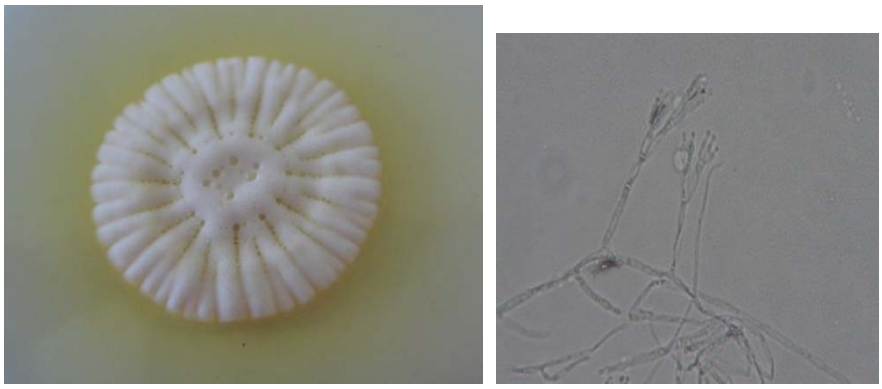
Sporulasyon rengi açık mavi, yani sporulasyon miktarında azalma görüldü. Merkezde belirgin derecede umbonat yapı mevcut ve pamuksu, eksuda şeffaf renkli ve pigmentasyon derecesinde azalma görüldü. Diğer tüm karakterler CYA besiyeri ile aynıdır. 37 °C' de gelişim gözlemlenmedi.



Şekil 7. 2. 3. *P. chrysogenum*' un CYA – 3 besiyerindeki 7 günlük koloni görünümü

d) CYA – 4;

7 gün 25 °C' de koloni çapı 37-38 mm, sporulasyon hiç yok, miselyum beyaz, parlak sarı renkli eksuda mevcut, merkez umbonat, çözünür parlak sarı pigment belirgin olarak gözlemlendi. Mikroskobik incelemede, herhangi bir fark ve 37 °C' de gelişim gözlemlenmedi.



A **B**

Şekil 7. 2. 4. *P. chrysogenum*' un CYA – 4 besiyerindeki görünümü (A. 7 günlük koloni; B. Işık mikroskobu x 400)

e) CYA- 5;

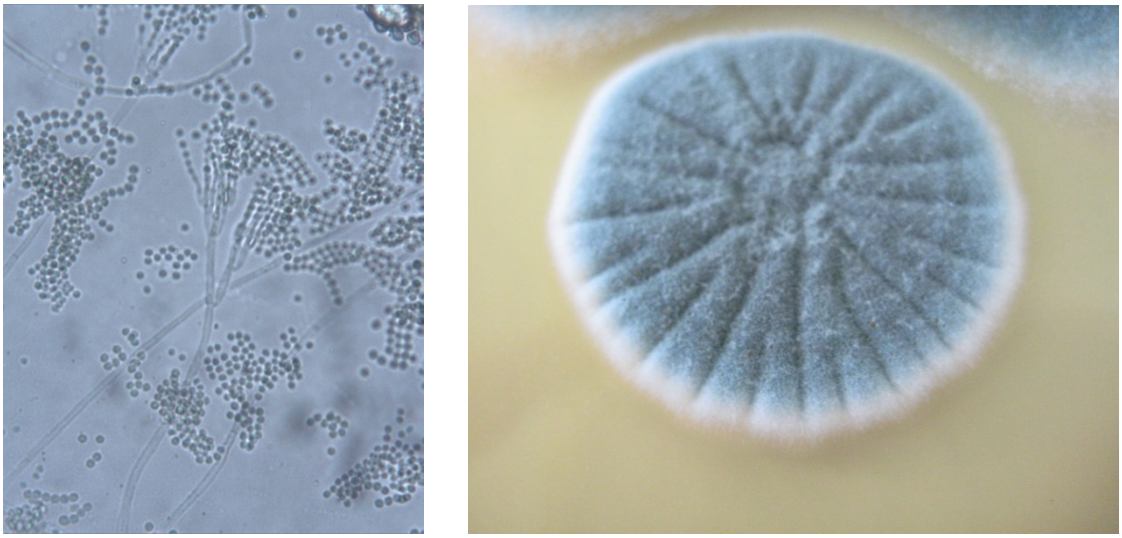
7 günde büyüme oranı 39-41 mm olarak ölçüldü. Yani CYA besiyeri ile arasında büyüme oranı açısından bir fark olduğu görüldü. Bunun yanında eksuda miktarı belirgin şekilde az olduğu saptanmıştır. Mikroskobik karakterler CYA besiyeri ile aynıdır. 37 °C' de gelişim gözlemlenmedi.



Şekil 7. 2. 5. *P. chrysogenum*' un CYA – 5 besiyerindeki 7 günlük koloni görünümü

7. 2. 2. Malt Ekstrakt Agar (MEA)

Standart içerikli besiyeri ortamıdır, Klich 2002 formülasyonuna göre hazırlanmıştır. Koloniler 7 günde 25 °C' de 31-32 mm çapında, sulkat oluşumu mevcut, pigment yok, koloni kadifemsi yapıda, merkez pamuksu, sporulasyon oldukça kuvvetli, donuk yeşil, miselyum marjinde beyaz renkli, şeffaf eksuda mevcut, konidyoforlar düzgün, ince duvarlı, sporlar küresel ve 37 °C' de gelişim gözlemlenmedi.

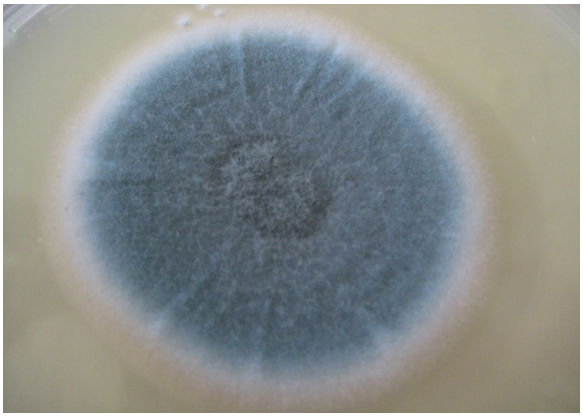


A **B**

Şekil 7. 2. 6. *P chrysogenum*' un MEA besiyerindeki görünümü (A. Işık mikroskobu x 400; B. 7 günlük koloni)

a) MEA – 1;

Koloniler 7 günde 25 °C' de 47- 49 mm çapında ve sulkat yok. Mikroskobik karakterlerde bir fark görülmedi. 37 °C' de gelişim gözlemlenmedi.

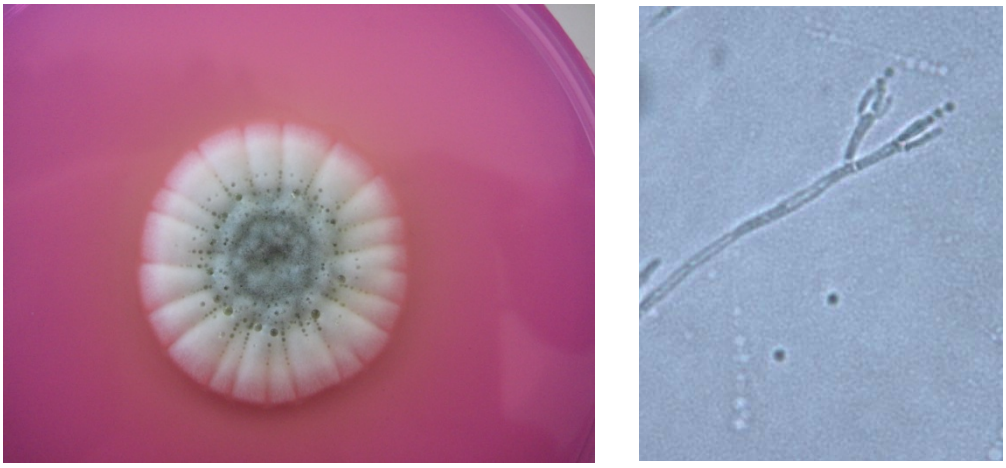


Şekil 7. 2. 7. *P. chrysogenum*' un MEA – 1 besiyerindeki 7 günlük koloni görünümü

7. 2. 3. Rose Bengal Streptomycin Agar (RB);

Standart içerikli besiyeridir. Bundan sonraki üç farklı RB bu besiyeri göz önüne alınarak değerlendirilmiştir.

7 günde 25 °C' de koloni çapı 32-33 mm, sporulasyon sadece merkezde ve mavimsi grimsi, parlak sarı eksuda mevcut, ışınsal sulkat oluşumu belirgin, parlak sarı çözünür pigment mevcut, koloni yapısı kadifemsi, miselyum beyaz renklidir. Konidyofor ince ve düzgün duvarlı, sporlar küreseldir ve 37 °C' de gelişim gözlemlenmedi.



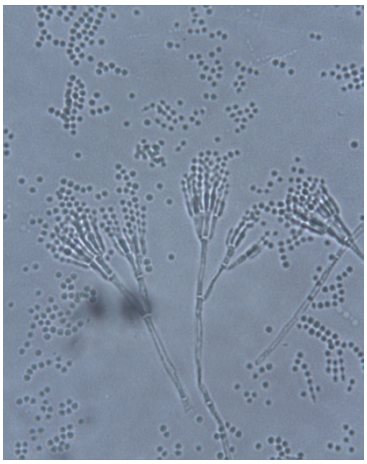
A **B**

Şekil 7. 2. 8. *P. chrysogenum*' un RB besiyerindeki görünümü (A. 7 günlük koloni; B. Işık mikroskobu x 400)

a) RB - 1;

7 günde 25 °C' de koloni çapı 37- 39 mm, sporulasyon oldukça kuvvetli ve donuk yeşil, eksuda ve pigment yok, merkez hafif pamuksu fakat kolonin genel yapısı kadifemsi, miselyum beyaz, mikroskobik incelemede konidyoforlar düzgün duvarlı ve ince, sporlar küreseldir ve 37 °C' de gelişim gözlemlenmedi.





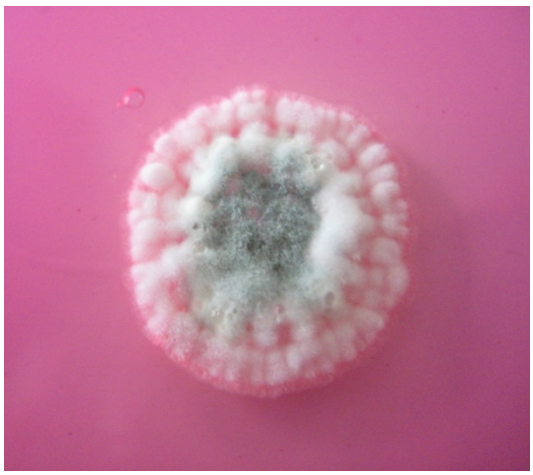
A **B**

Şekil 7. 2. 9. RB – 1 besiyeri görünüm (A. 7 günlük koloni; B. Işık mikroskobu x 400)

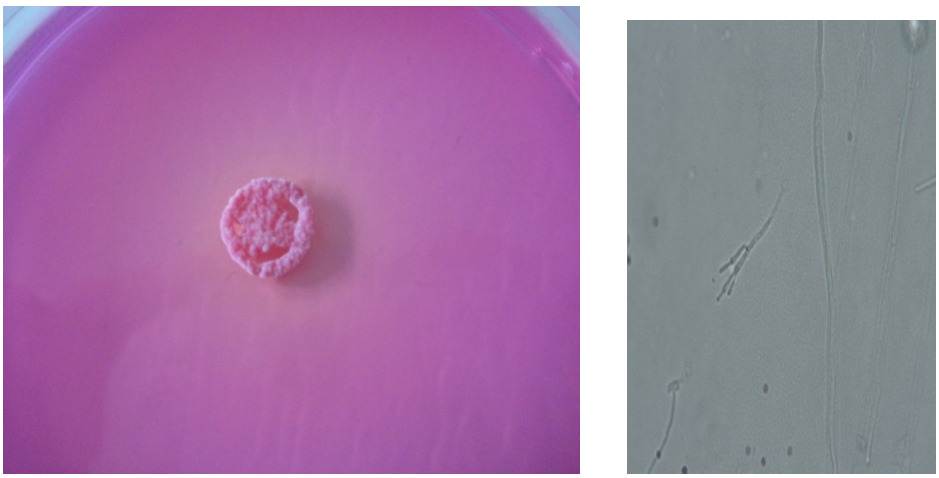
b) RB– 2;

7 günde 25 °C' de koloni çapı 25–27 mm, sporulasyon sadece merkezde ve grimsi mavi, miselyum beyaz, sulkat yapısı düzensiz, şeffaf eksuda mevcut, pigment oluşmu görülmedi. Mikroskobik karakterler ve görünüm RB besiyeri ile aynıdır.

37 °C' de gelişim var, fakat mikro koloni şeklinde, 7 günde koloni çapı 7-8 mm, sporulasyon yok, krater şeklinde koloni oluşumu gözlendi. Sporulasyon oluşumu hiç yok fakat parlak sarı pigment mevcuttur.



A



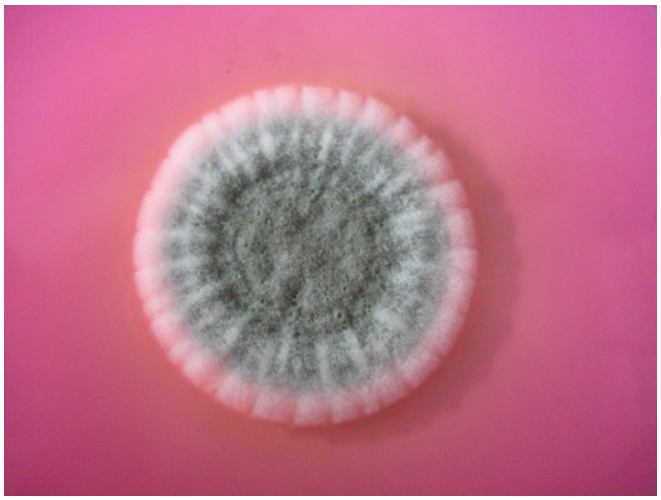
B **C**

Şekil 7. 2. 10. *P. chrysogenum*' un RB – 2 besiyerindeki görünümü (A. 25 °C' de 7 günlük koloni; B. 37 °C' de 7 günlük koloni; C. Işık mikroskobu x 400)

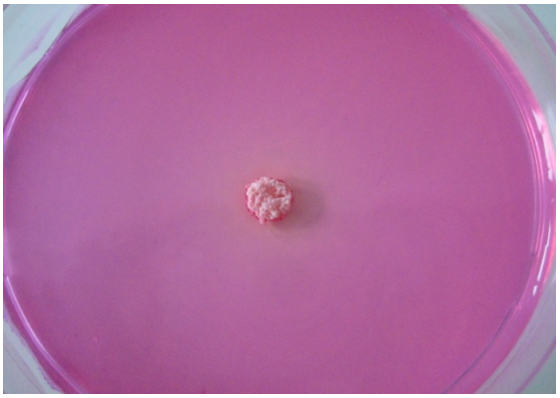
c) RB – 3;

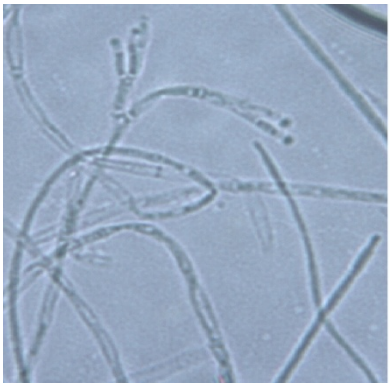
25 °C' de 7 günde koloni çapı 28-31 mm, sporulasyon merkezde daha yoğun, grimsi mavi, marjine doğru sporulasyon azalmış, açık mavi, ışınsal sulkat mevcut fakat belirgin değil, merkezde şeffaf fakat çok az miktarda eksuda mevcut, parlak sarı renkte çözünür pigment mevcut, miselyum beyaz renklidir. Mikroskobik karakterlerde bir fark gözlemlenmedi. RB besiyeri ile aynıdır.

37 °C' de gelişim var fakat mikro düzeyde, 7 günde koloni çapı 6-7 mm, sporulasyon yok, miselyumdan oluşan kitle şeklinde, mikroskobik olarak tipik penicillium yapısına rastlanmadı.



A



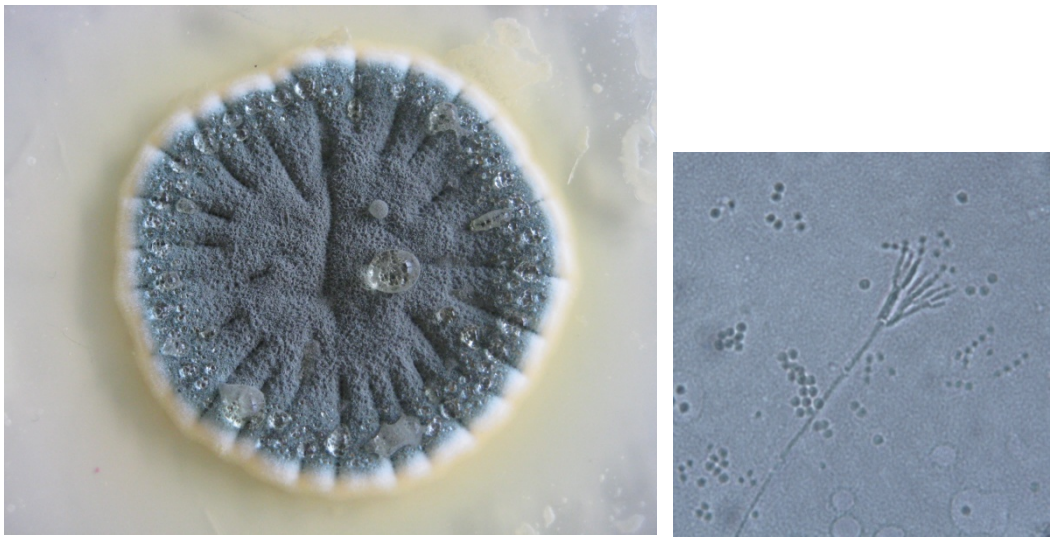


B **C**

Şekil 7. 2. 11. *P. chrysogenum*' un RB – 3 besiyerindeki görünümü (A. 25 °C' de 7 günlük koloni; B. 37 °C' de 7 günlük koloni; C. Işık mikroskobu x 400)

7. 2. 4. Patates Dekstroz Agar (PDA);

7 gün 25 °C' de koloni çapı 32-35 mm, sporulasyon oldukça kuvvetli, donuk yeşil, koloni yapısı kadifemsi, sulkat oluşumu belirgin ve sık, şeffaf eksuda mevcut, parlak sarı çözünür pigment var, marjinde miselyum beyaz renklidir. Mikroskobik olarak konidyofor düzgün ve ince, sporlar küresel. 37 °C' de gelişim gözlemlenmedi.



A **B**

Şekil 7. 2. 12. *P. chrysogenum*' un PDA besiyerindeki görünümü (A. 7 günlük koloni genel görünüm; B. Işık mikroskobu x 400)

a) PDA – 1

Makroskobik ve mikroskobik karakterler PDA besiyeri ile aynı, herhangi bir fark görülmedi. 37 °C' de gelişim gözlemlenmedi.

b) PDA – 2;

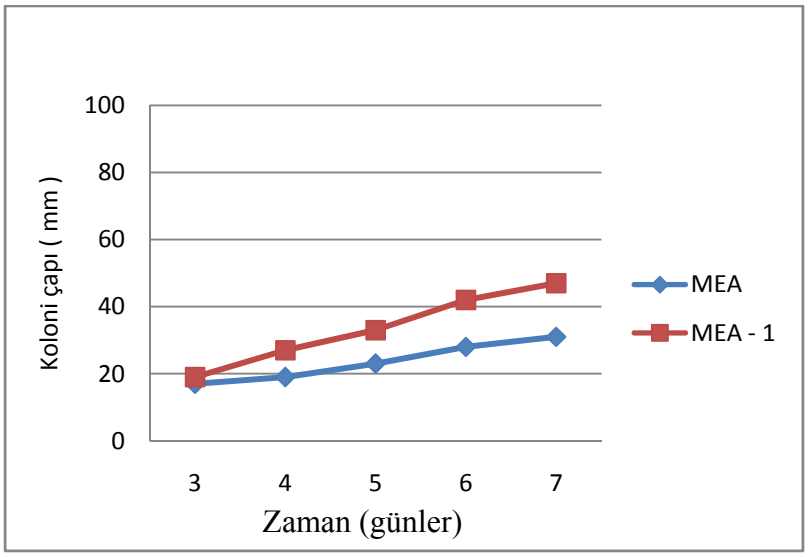
Makroskobik ve mikroskobik karakterler PDA besiyeri ile aynı, herhangi bir fark görülmedi. 37 °C' de gelişim gözlemlenmedi.

Tablo 7. 2. 1. *P. chrysogenum*' un standart ve içeriği değiştirilmiş besiyerlerindeki koloni çap ölçüm değerleri (mm)

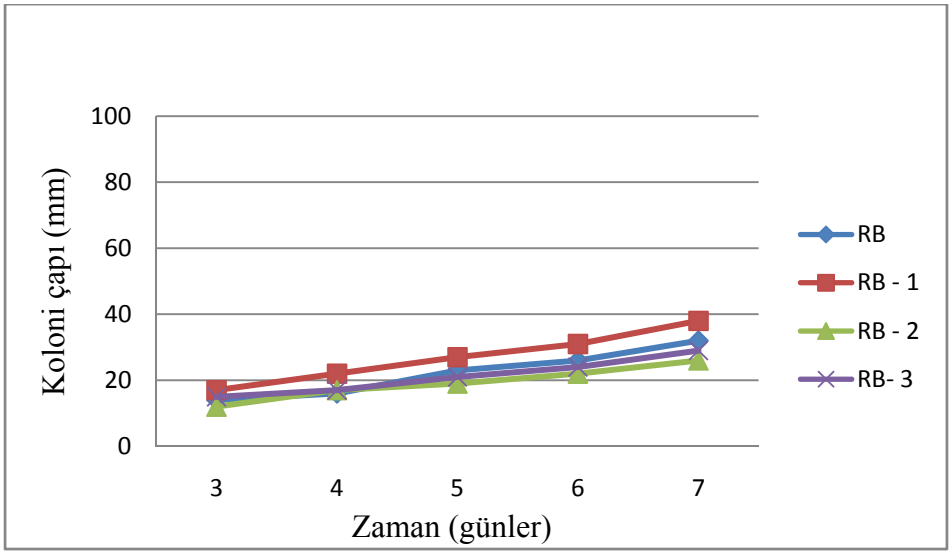
	3.GÜN		4.GÜN		5.GÜN		6.GÜN		7.GÜN	
	25 ˚C	**37 ˚C**	**25 ˚C**	**37 ˚C**	**25 ˚C**	**37 ˚C**	**25 ˚C**	**37 ˚C**	**25 ˚C**	**37 ˚C**
CYA	20-21	-	26-28	-	30-31	-	34-35	-	35-37	-
CYA-1	19-20	-	24-25	-	28-31	-	33-35	-	38-39	-
CYA-2	16-18	-	22-23	-	26-29	-	31-33	-	36-37	-
CYA-3	18-20	-	25-26	-	30-31	-	33-35	-	37-38	-
CYA-4	17-19	-	21-22	-	25-26	-	33-35	-	34-35	-
CYA-5	18-19	-	23-25	-	31-32	-	33-35	-	37-40	-
MEA	17-18	-	19-21	-	23-24	-	27-29	-	31-32	-
MEA-1	19-20	-	26-28	-	33-34	-	42-42	-	47-48	-
RB	14-15	-	16-17	-	23-25	-	25-28	-	32-33	-
RB-1	17-18	-	22-23	-	26-29	-	30-32	-	37-38	-
RB-2	12-13	-	15-17	3-4	19-20	5	22-23	6	25-26	8-10
RB-3	15-16	-	17-18	-	21-23	3-5	23-27	6-7	28-31	7-9
PDA	15-17	-	21-22	-	25-26	-	29-30	-	32-34	-
PDA-1	16-17	-	20-21	-	24-26	-	27-29	-	31-32	-
PDA-2	17-18	-	21-22	-	24-26	-	27-29	-	31-33	-



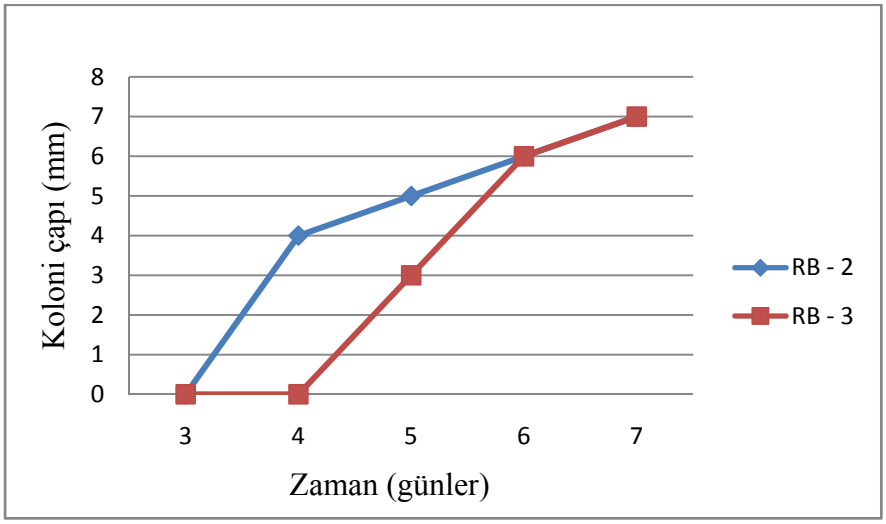
Şekil 7. 2. 13. *P. chrysogenum*' un CYA besiyerlerinde 25 °C' deki gelişim dağılımı



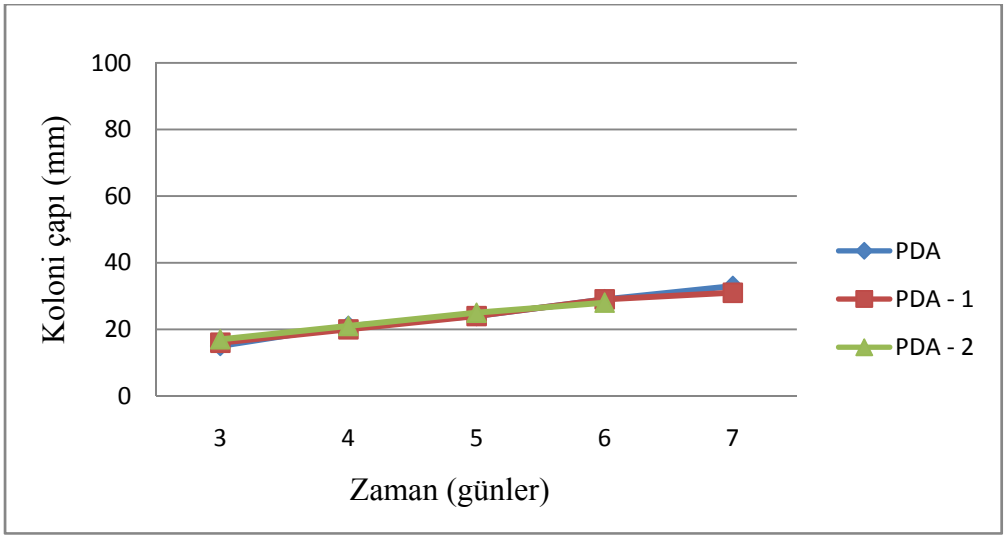
Şekil 7. 2. 14. *P. chrysogenum*' un MEA besiyerlerinde 25 °C' deki gelişim dağılımı



Şekil 7. 2. 15. *P. chrysogenum*' un RB besiyerlerinde 25 °C' deki gelişim dağılımı



Şekil 7. 2. 16. *P. chrysogenum*' un RB besiyerlerinde 37 °C' deki gelişim dağılımı



Şekil 7. 2. 17. *P. chrysogenum*' un PDA besiyerlerinde 25 °C' deki gelişim dağılımı

7. 3. *Penicillium aurantiogriseum*

7. 3. 1. Czapek Yeast Autolysate Agar (CYA);

Bu besiyeri standart içerikli besiyeridir. Klich 2002 formülasyonuna göre hazırlanmıştır. Bundan sonraki altı CYA besiyeri bu besiyeri göz önüne alınarak değerlendirilmiştir.

7 günde 25 °C' de koloni çapı 34-35 mm, ışınsal sulkat orta derecede ve yarık sayısı fazla, koloni yapısı tanecikli, sporulasyon kuvvetli, yeşilimsi mavi, eksuda ve çözünür pigment yoktur. Mikroskobik olarak ise konidyoforlar düzgün duvarlı ve ince, sporlar küreseldir. 37 °C' de gelişim gözlenmedi.



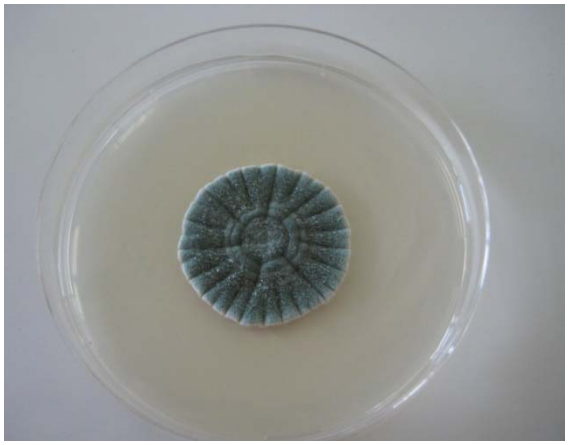


A **B**

Şekil 7. 3. 1. *P. aurantiogriseum*' un CYA besiyerindeki görünümü (A. 7 günlük koloni; B. Işık mikroskobu x 400)

a) CYA – 1;

25 °C' de 7 günde koloni çapı 38-41 mm, belirgin ölçüde şeffaf eksuda bulunmasının dışında CYA besiyeri ile arasında başka bir fark gözlemlenmedi. 37 °C' de gelişim gözlemlenmedi.



Şekil 7. 3. 2. *P. aurantiogriseum*' un CYA – 1 besiyerindeki 7 günlük koloni görünümü

b) CYA – 2;

Makroskobik ve mikroskobik tüm karakterler CYA besiyeri ile aynı, herhangi bir fark gözlemlenmedi. 37 °C' de gelişim gözlenmedi.

c) CYA -3;

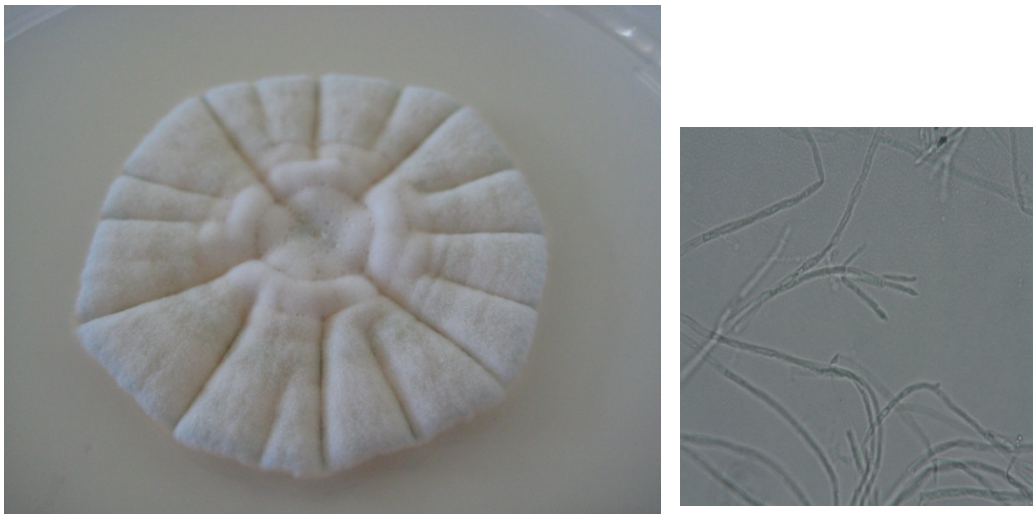
Sporulasyondaki azalma ve sulkat yapısının sık olmasının dışında bir fark gözlemlenmedi. CYA besiyerinde kuvvetli bir sporulasyon mevcut iken burada daha zayıf bir oluşum söz konusu, açık yeşil- mavi rengiyle belirtilebilir. 37 °C' de gelişim gözlemlenmedi.



Şekil 7. 3. 3. *P. aurantiogriseum*' un CYA – 3 besiyerindeki 7 günlük koloni görünümü

d) CYA -4;

Sporulasyon yok denecek kadar az, ışınsal sulkat mevcut fakat seyrek, koloni yapısı yünsü, merkez pamuksu, eksuda merkezde mevcut fakat çok az, mikroskobik incelemede ise konidyoforlar ince, düzgün duvarlı fakat fiyalid yapısına rastlanmadı. 37 °C' de gelişim gözlemlenmedi.



A **B**

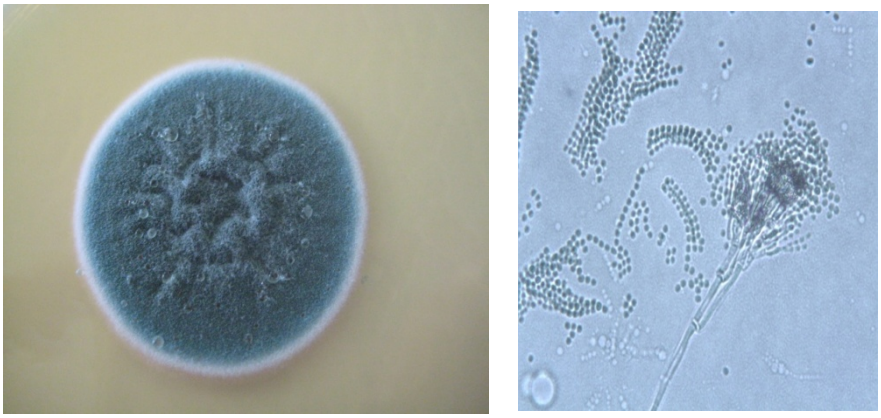
Şekil 7. 3. 4. *P. aurantiogriseum*' un CYA – 4 besiyerindeki görünümü (A. 7 günlük koloni; B. Işık mikroskobu x 400)

e) CYA – 5;

Tüm makroskobik ve mikroskobik karakterler CYA besiyeri ile aynıdır, herhangi bir fark gözlemlenmedi. 37 °C' de gelişim gözlenmedi.

7. 3. 2. Malt Ekstrakt Agar (MEA)

Standart içerikli besiyeri ortamıdır, Klich 2002 formülasyonuna göre hazırlanmıştır. Koloniler 25°C' de 7 günde 32-33 mm çapında, koloninin yüzeyi dümdüz, sulkat yok, yüzey yapısı tanecikli, merkez umbonat, miselyum belirsiz, sporulasyon güçlü, grimsi turkuaz, donuk yeşildir. Çözünür pigment yok. Mikroskobik olarak konidyoforlar ince ve düzgün duvarlı, sporlar küresel ve 37 °C' de gelişim gözlemlenmedi.

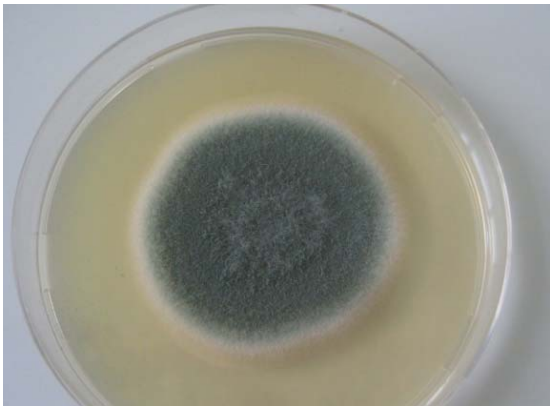


A **B**

Şekil 7. 3. 5. *P. aurantiogriseum*' un CYA – 5 besiyerindeki görünümü (A. 7 günlük koloni; B. Işık mikroskobu x 400)

a) MEA – 1;

Koloni 25 °C' de ve 7 günde 52-54 mm çapında, yani büyüme oranı fazla, koloni yüzeyi dümdüz, umbonat oluşum yok, koloni yapısı tanecikli fakat pamuksu olmaya başlamış durumda, mikroskobik karakterlerde bir fark görülmedi. 37 °C' de gelişim görülmedi.

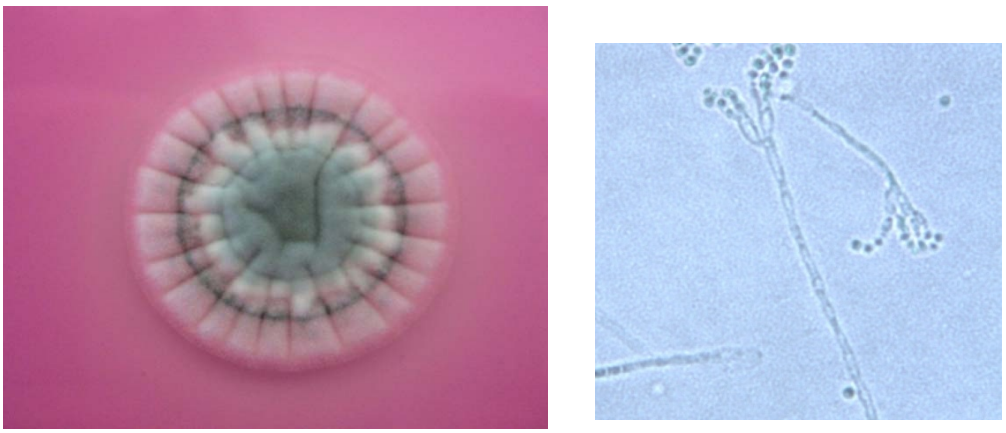


Şekil 7. 3. 6. *P. aurantiogriseum*' un MEA – 1 besiyerindeki 7 günlük koloni görünümü

7. 3. 3. Rose Bengal Streptomycin Agar (RB);

Standart içerikli besiyeridir. Bundan sonraki üç farklı RB bu besiyeri göz önüne alınarak değerlendirilmiştir.

Koloni 25 °C' de 7 günde 25- 27 mm çapında, merkez umbonat ve pamuksu, sporulasyon merkezde yoğun, girimsi yeşil, sporulasyonun koloninin farklı alanlarındaki meydana geliş derecesine bağlı olarak zonasyon mevcut, miselyum beyaz, eksuda yok, çözünür pigment yoktur. Mikroskobik olarak konidyofor ince ve düzgün duvarlı, sporlar küreseldir. 37 °C' de gelişim gözlemlenmedi.

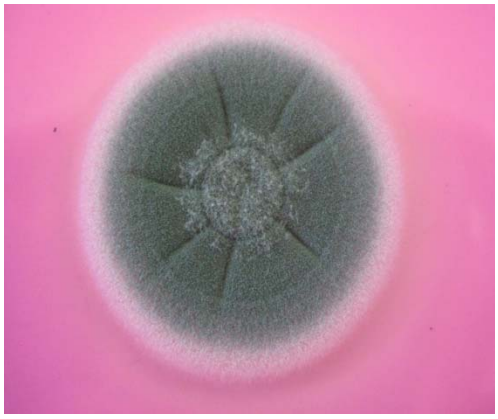


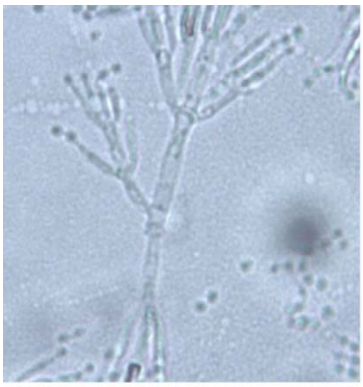
A **B**

Şekil 7. 3. 7. *P. aurantiogriseum'* un RB besiyerindeki görünümü (A. 7 günlük koloni; B. Işık mikroskobu x 400)

a) RB – 1;

Koloniler 25 °C' de 7 günde 38-40 mm çapında, sporulasyon oldukça kuvvetli, koloninin tamamını kaplamış durumda ve donuk yeşil, seyrek ışınsal sulkat mevcut, merkez umbonat ve pamuksu, koloni genel yapısı tanecikli, miselyum beyaz, eksuda ve çözünür pigment yok. Mikroskobik olarak yapılan incelemede konidyofor ve fiyalid yapısı gözlemlendi. 37 °C' de gelişim görülmedi.





A **B**

Şekil 7. 3. 8. *P. aurantiogriseum*' un RB – 1 Besiyerindeki görünümü (A. 7 günlük koloni; B. Işık mikroskobu x 400)

b) RB – 2;

Makroskobik ve mikroskobik karakterler RB besiyeri ile aynı, herhangi bir fark gözlemlenmedi.

c) RB – 3;

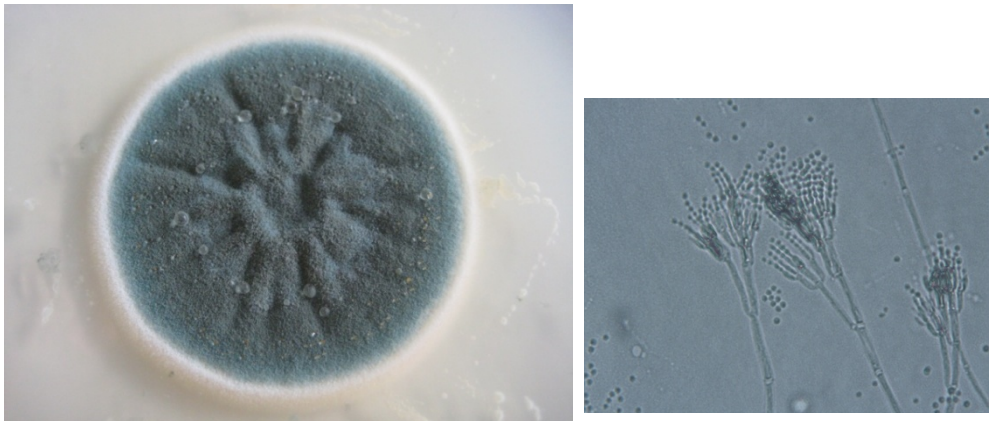
Koloniler 7 günde 25 °C' de 19-21 mm çapında, ışınsal sulkat oluşumu mevcut ve sık, sporulasyon merkezde yeşil, marjine yakın olan kısım ise daha koyu bir sporulasyon görüldü. Bundan dolayı da kolonide zonasyon oluşumu mevcut, koloni genel yapısı tanecikli, şeffaf eksuda mevcut, mikroskobik incelemede herhangi bir fark görülmedi. 37 °C' de gelişim gözlemlenmedi.



Şekil 7. 3. 9. *P. aurantiogriseum*' un RB – 3 besiyerindeki 7 günlük koloni görünümü

7. 3. 4. Patates Dekstroz Agar (PDA)

25 °C' de 7 günde koloni çapı 32-34 mm, sporulasyon kuvvetli, donuk yeşilimsi mavi, miselyum beyaz, ışınsal sulkat merkezde mevcut, koloni yapısı tanecikli, şeffaf eksuda oluşumu var, çözünür pigment yok. Mikroskobik olarak konidyofor düzgün duvarlı, sporlar küreseldir ve 37 °C' de gelişim gözlenmedi.



A **B**

Şekil 7. 3. 10. *P. aurantiogriseum*' un PDA besiyerindeki görünümü (A. 7 günlük koloni; B. Işık mikroskobu x 400)

a) PDA – 1;

PDA besiyeri ile arasında makroskobik ya da mikroskobik bir fark gözlenmedi. 37 °C' de gelişim gözlemlenmedi.

b) PDA – 2;

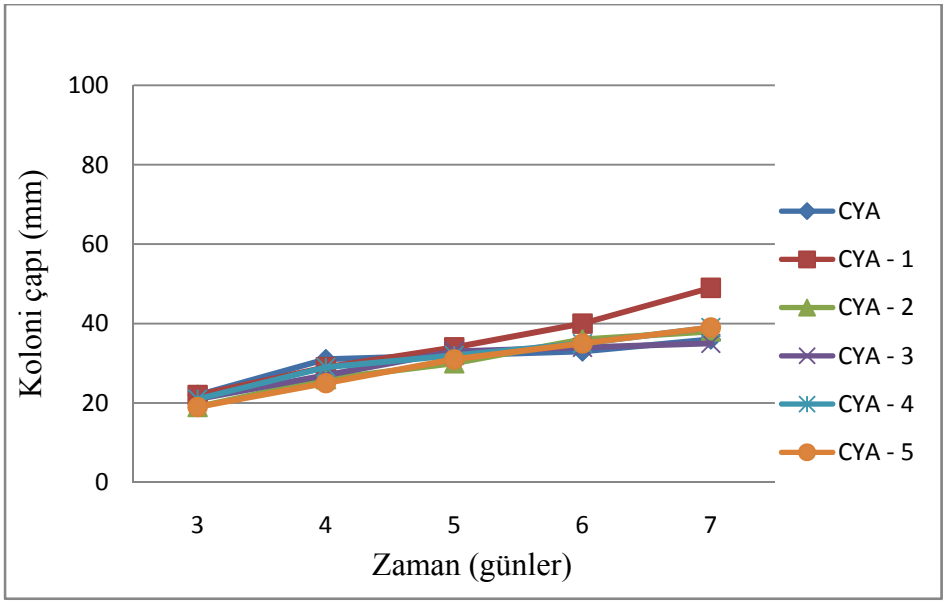
Işınsal sulkat oluşumu sık ve eksuda oldukça fazla meydana gelmiş durumda, bunun dışındaki tüm makroskobik ve mikroskobik karakterlerde bir fark gözlenmedi. 37 °C' de gelişim gözlemlenmedi



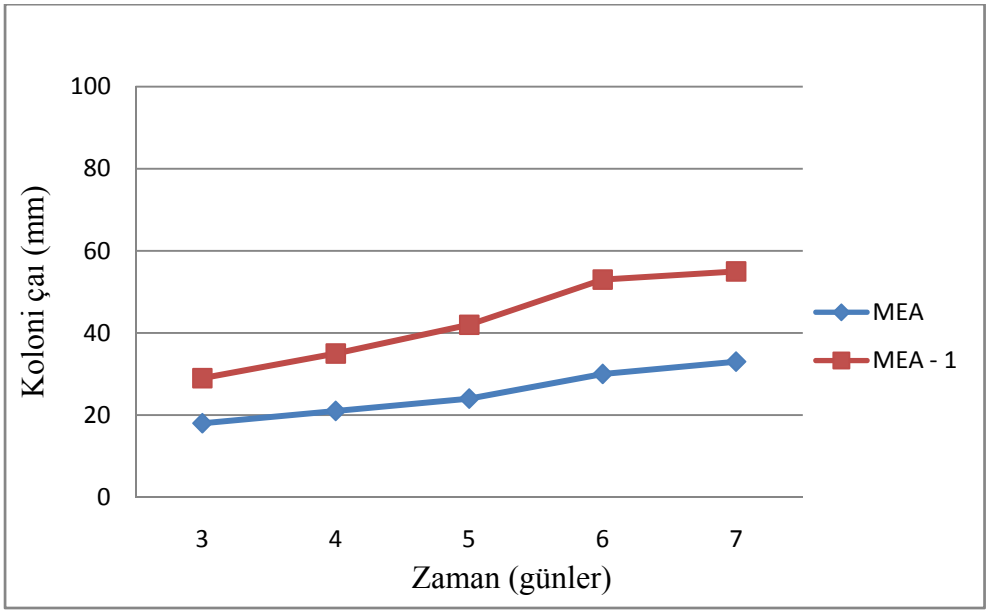
Şekil 7. 3. 11. *P. aurantiogriseum*' un PDA – 2 besiyerindeki 7 günlük koloni görünüm

Tablo 7. 3. 1. *P. aurantiogriseum*' un standart ve içeriği değiştirilmiş besiyerlerindeki koloni çap ölçüm değerleri (mm)

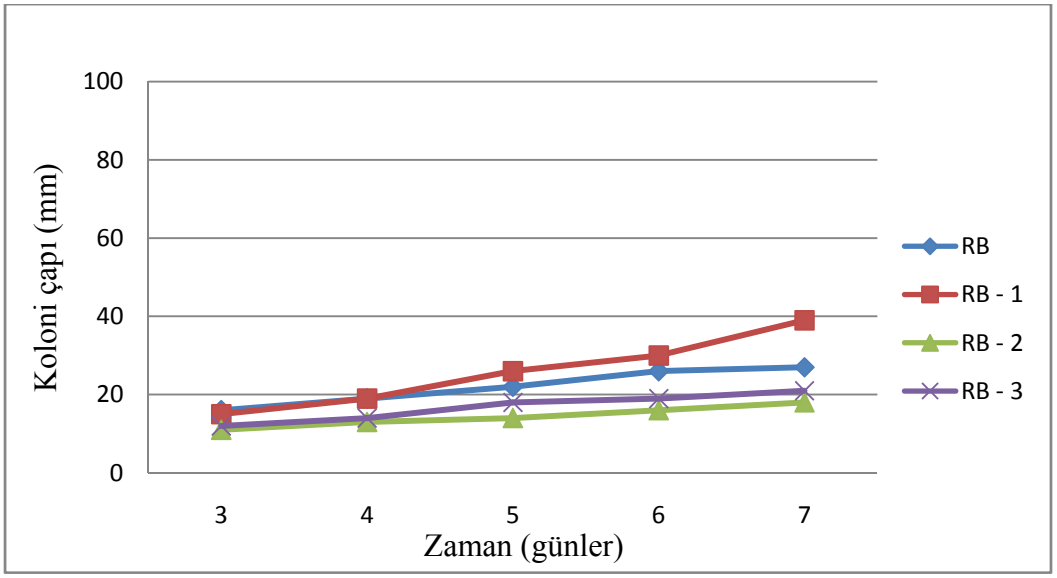
	3.GÜN		**4.GÜN**		**5.GÜN**		**6.GÜN**		**7.GÜN**	
	25 ˚C	**37 ˚C**	**25 ˚C**	**37 ˚C**	**25 ˚C**	**37 ˚C**	**25 ˚C**	**37 ˚C**	**25 ˚C**	**37 ˚C**
CYA	22-23	-	31-32	-	32-33	-	33-34	-	36-37	-
CYA-1	21-23	-	28-30	-	33-35	-	36-37	-	38-41	-
CYA-2	18-21	-	26-27	-	29-31	-	37-37	-	44-47	-
CYA-3	19-23	-	28-30	-	32-33	-	33-34	-	35-36	-
CYA-4	19-21	-	24-26	-	30-32	-	34-36	-	38-40	-
CYA-5	20-21	-	23-25	-	32-33	-	35-37	-	38-39	-
MEA	17-18	-	21-22	-	23-26	-	29-31	-	32-33	-
MEA-1	28-29	-	31-37	-	39-44	-	52-54	-	54-55	-
RB	16-17	-	18-20	-	22-23	-	24-27	-	25-27	-
RB-1	13-17	-	17-19	-	25-27	-	30-31	-	38-39	-
RB-2	11-12	-	13-14	-	14-15	-	15-16	-	17-19	-
RB-3	12-13	-	14-15	-	17-18	-	19-20	-	21-22	-
PDA	15-16	-	17-19	-	23-14	-	28-29	-	32-34	-
PDA-1	15-16	-	17-20	-	23-25	-	27-28	-	34-35	-
PDA-2	17-18	-	21-23	-	24-27	-	29-33	-	33-36	-



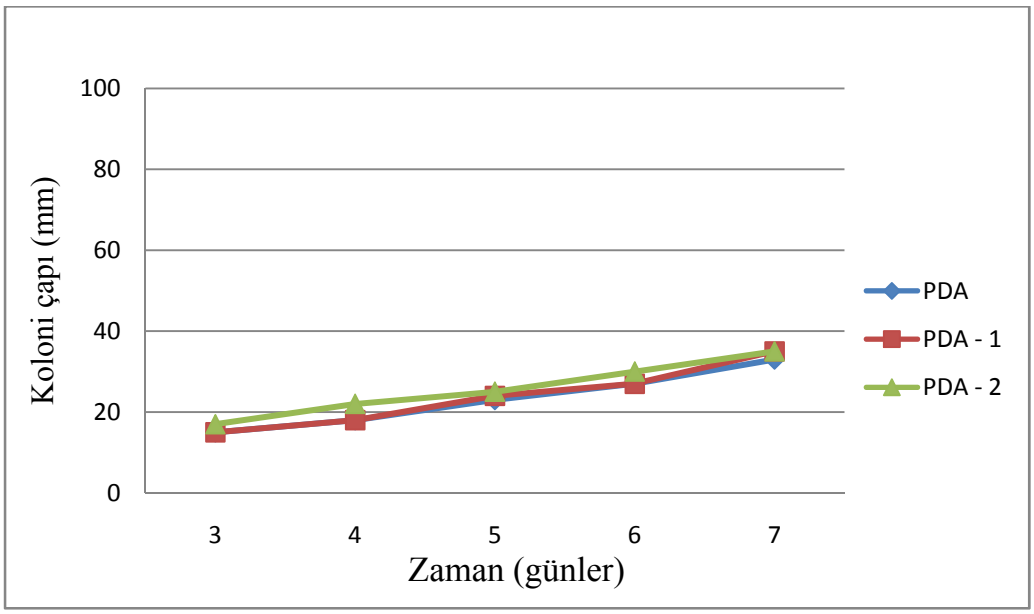
Şekil 7. 3. 13. *P aurantiogriseum*' un CYA besiyerlerinde 25 °C' deki gelişim dağılımı



Şekil 7. 3. 14. *P aurantiogriseum*' un MEA besiyerlerinde 25 °C' deki gelişim dağılımı



Şekil 7. 3. 15. *P. aurantiogriseum*' un RB besiyerlerinde 25 °C' deki gelişim dağılımı



Şekil 7. 3. 16. *P. aurantiogriseum*' un CYA besiyerlerinde 25 °C' deki gelişim dağılımı

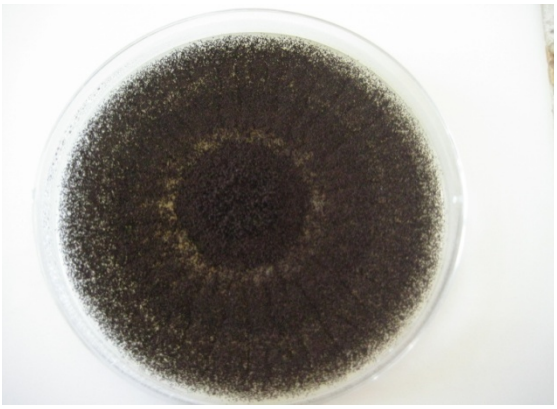
7. 4. *Aspergillus niger*

7. 4. 1. Czapek Yeast Autolysate Agar (CYA)

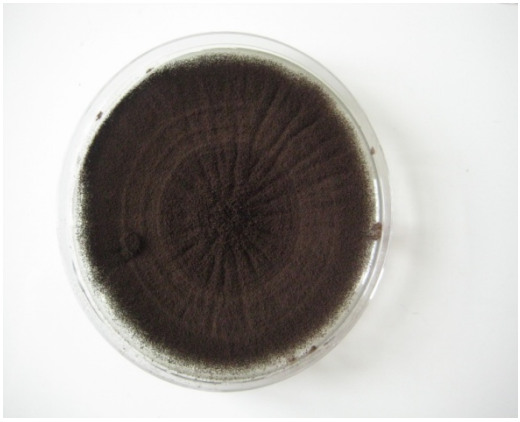
Bu besiyeri standart içerikli besiyeridir. Klich 2002 formülasyonuna göre hazırlanmıştır. Bundan sonraki altı CYA besiyeri bu besiyeri göz önüne alınarak değerlendirilmiştir.

Koloni çapı 25 °C' de ve 7 günde 82-83 mm, konidyal başçıklar siyah- koyu kahve şeklinde yoğun olarak paketlenmiş, miselyum fark edilmiyor, koloni tanecikli-yünsü, ışınsal sulkat mevcut, eksuda ve çözünür pigment yoktur. Mikroskobik olarak, konidyal başçıklar tipik olarak geniş, siyah ve ışınsal, vesikül çift seri fiyalitten meydana gelmiş, olgun sporlar küresel ve duvarı pürüzlüdür.

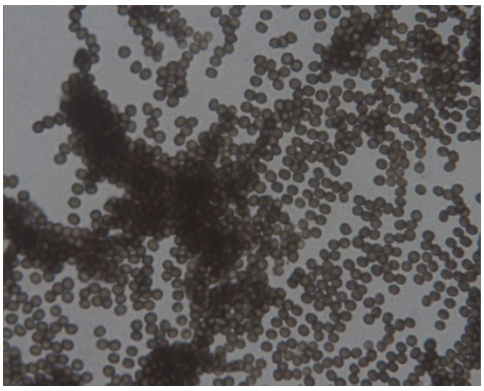
37 °C' de 7 günde koloni çapı 82-83 mm, konidyal başçıklar 25 °C' ye kıyasla daha sıkı paketlenmiş ve koyu kahve renkli, mikroskobik karakterlerin 25 °C ile aynı olduğu görüldü.

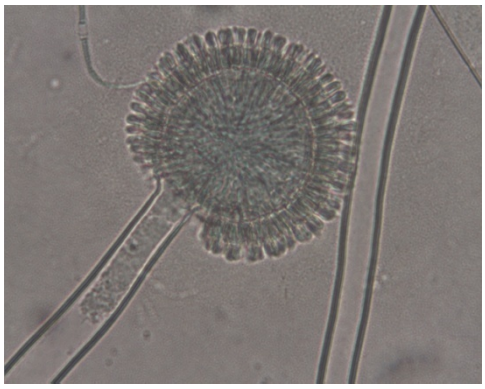


A



B





C **D**

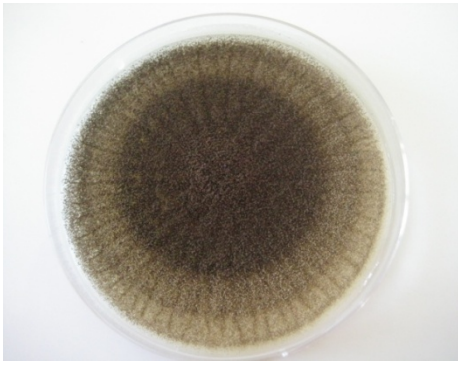
Şekil 7. 4. 1. *A. niger*' in CYA besiyerindeki görünümü (A. 25 °C' de 7 günlük koloni; B. 37 °C' de 7 günlük koloni; C. Işık mikroskobunda spor x 400; D. Işık mikroskobu x 400)

a) CYA – 1, CYA – 2, CYA – 3 ve CYA – 5;

Hem 25 °C' de hem de 37 °C' de makroskobik ve mikroskobik yapıda herhangi bir fark yok.

b) CYA – 4;

Sporulasyon dışında makroskobik bir fark görülmedi. Konidyal başçıklar açık, zeytinimsi kahve olarak gözlemlendi. Mikroskobik görünüm ve özellik CYA besiyeri ile aynıdır.

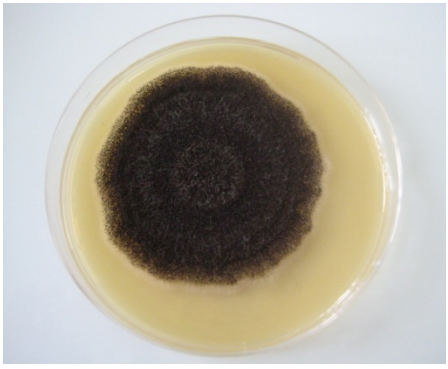


Şekil 7. 4. 2. *A. niger*' in CYA – 4 besiyerindeki 7 günlük koloni görünümü

7. 4. 2. Malt Ekstrakt Agar (MEA) ;

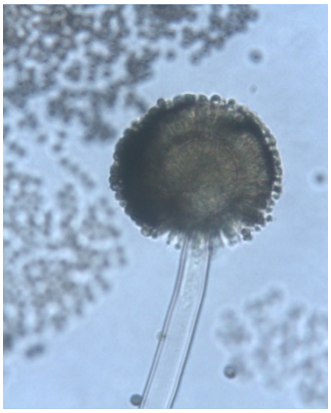
Standart içerikli besiyeri ortamıdır, Klich 2002 formülasyonuna göre hazırlanmıştır. Koloniler 7 günde 25 °C' de, 64-65 mm çapında, konidyal başçıklar siyah, miselyum beyaz ve gözle pek ayırt edilmiyor, koloni yapısı tanecikli-yünsü, sulkat, eksuda ve çözünür pigment yoktur. Mikroskobik olarak ise konidyal başçıklar geniş ve ışınsal, vesikülde çift seri fiyalid vardır. Sporlar küresel ve duvarı pürüzlüdür.

37 °C' de 7 günde koloni çapı 82-83 mm, konidyal başçıklar koyu kahvemsi ve oldukça sıkı paketlenmiştir. Sulkat oluşumu gözlenmedi. Mikroskobik karakterlerde değişiklik gözlemlenmedi.



A



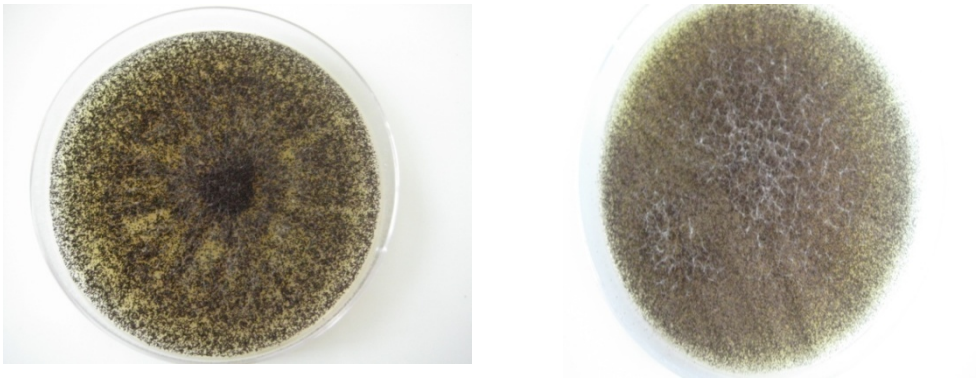


B **C**

Şekil 7. 4. 3. *A. niger'* in MEA besiyerindeki görünümü (A. 25 °C' de 7 günlük koloni; A. 37 °C' de 7 günlük koloni; C. Işık mikroskobu x 400)

a) MEA – 1;

Koloni 7 günde 25 °C' de, 82-83 mm çapında, ışınsal sulkat mevcut fakat yüzeysel, koloni yapısı tanecikli ama dağınık şekilde pamuksu yapı oluşumu gözlendi. Konidyal başçıklar seyrek olarak paketlenmiş ve daha çok kahverengi tonunda olduğu görüldü. 37 °C' de 7 günde koloni çapı 82-83 mm, sulkat oluşumu yoktur. Mikroskobik olarak ise, herhangi bir fark gözlemlenmedi.



A **B**

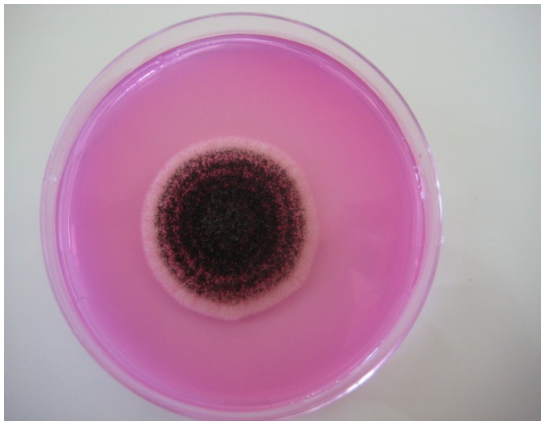
Şekil 7. 4. 4. *A. niger'* in MEA – 1 besiyerindeki görünümü (A. 25 °C' de 7 günlük koloni; B. 37 °C' de 7 günlük koloni)

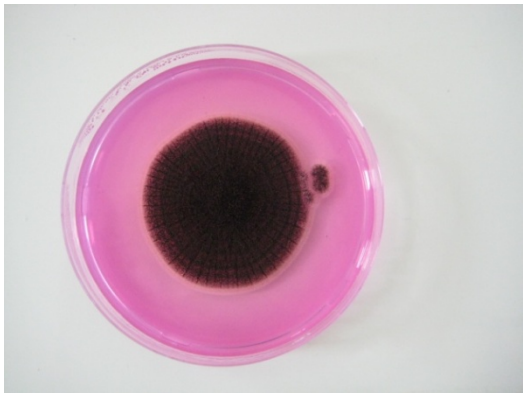
7. 4. 3. Rose Bengal Streptomycin Agar (RB);

Standart içerikli besiyeridir. Bundan sonraki üç farklı RBC bu besiyeri kriter alınarak değerlendirilmiştir.

7 günde 25 °C' de koloni çapı 39-43 mm, konidyal başçıklar siyah ve sıkı paketlenmiş, koloni tanecikli fakat merkez hafif pamuksu, marjinde beyaz renkli miselyum belirgin olarak göze çarpmakta, eksuda ve pigment yoktur. Mikroskobik olarak; vesikül çift seri fiyalidli, sporlar geniş, küresel ve duvarının pürüzlü olduğu görüldü.

37 °C' de gelişim mevcut, 7 günde koloni çapı 55-60 mm, miselyum oluşumu indirgenmiş ve konidyal başçıklar daha sıkı paketlenmiş durumdadır. Mikroskobik karakterler ise 25 °C ile aynı, herhangi bir fark görülmedi





A **B**



C

Şekil 7. 4. 5. *A. niger*' in RB besiyerindeki görünümü (A. 25 °C' de 7 günlük koloni; B. 37 °C' de 7 günlük koloni; C. Işık mikroskobu x 400)

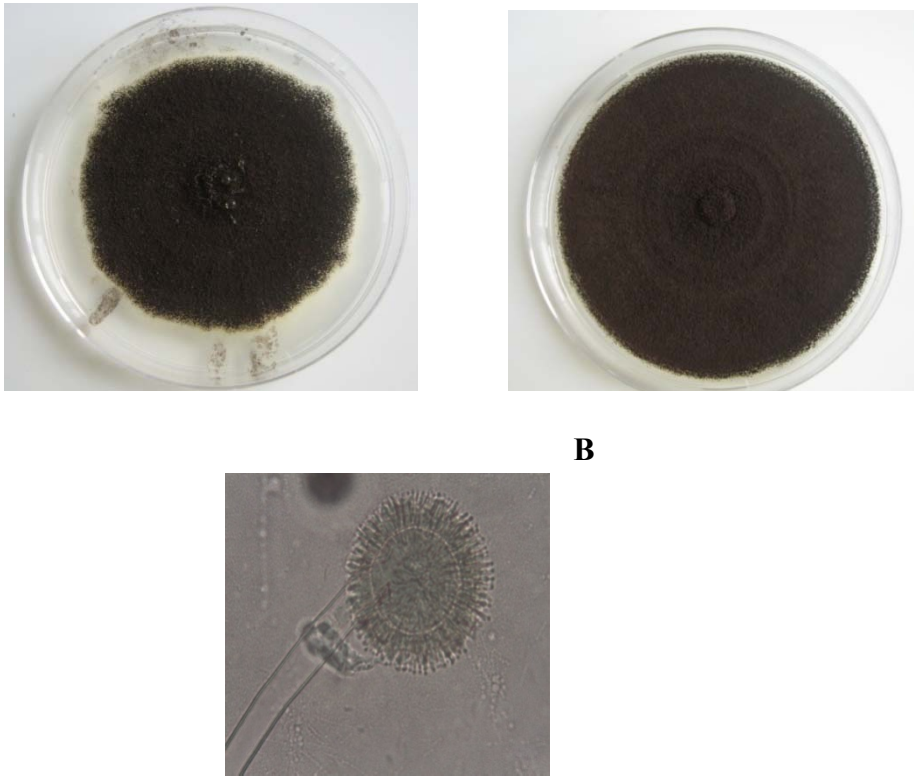
a) RB – 1, RB – 2 ve RB – 3;

Makroskobik ve mikroskobik olarak herhangi bir fark gözlemlenmedi. 25 °C ve 37 °C deki tüm karakterlerin RB besiyeri ile aynı olduğu görüldü.

7. 4. 4. Patates Dekstroz Agar (PDA);

Standart içerikli besiyeri ortamıdır. 25 °C' de, 7 günde koloni çapı 68-70 mm, konidyal başçıklar siyah ve sıkı paketlenmiş, sulkat yok marjinde çok az belirgin beyaz miselyum oluşumu mevcut, koloni yapısı tanecikli, çözünür pigment ve eksuda yok.

37 °C' de 7 günde koloni çapı 80-82 mm, konidyal başçıklar sıkı paketlenmiş ve koyu kahve, koloni yapısı tanecikli, sulkat yoktur. Mikroskobik olarak 25 °C ve 37 °C' de; konidyal başçıklar geniş, ışınsal, vesikül küresel ve çift seri fiyalid mevcuttur. Olgun sporlar küresel ve duvarı pürüzlüdür.



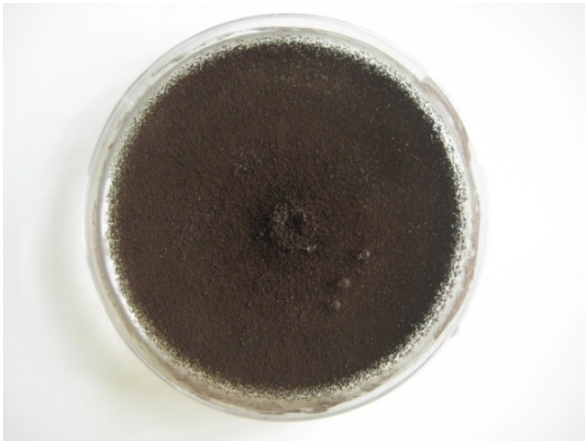
A **B**

C

Şekil 7. 4. 6. *A. niger' in* PDA besiyerindeki görünümü (A. 25 °C' de 7 günlük koloni; B. 37 °C' de 7 günlük koloni; C. Işık mikroskobu x 400)

b) PDA – 1;

Koloni 7 günde 25 °C' de 81-83 mm çapında, konidyal başçıklar sıkı paketlenmiş ve koyu kahve, diğer tüm makroskobik ve mikroskobik karakterler PDA besiyeri ile aynıdır. 37 °C' de PDA besiyeri ile makroskobik ya da mikroskobik bir fark görülmedir.



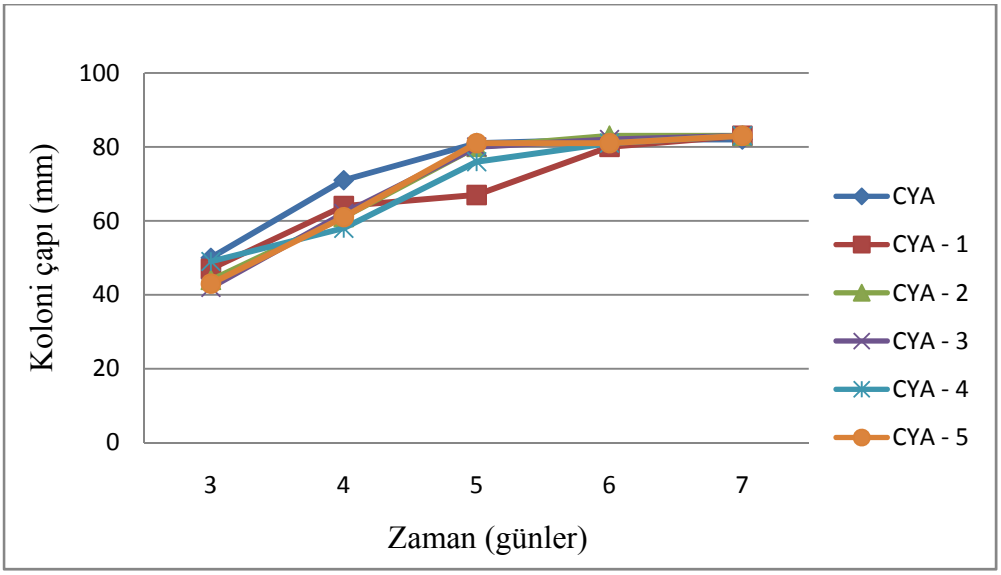
Şekil 7. 4. 7. *A. niger' in* PDA – 1 besiyerindeki 7 günlük koloni görünümü

c) PDA – 2;

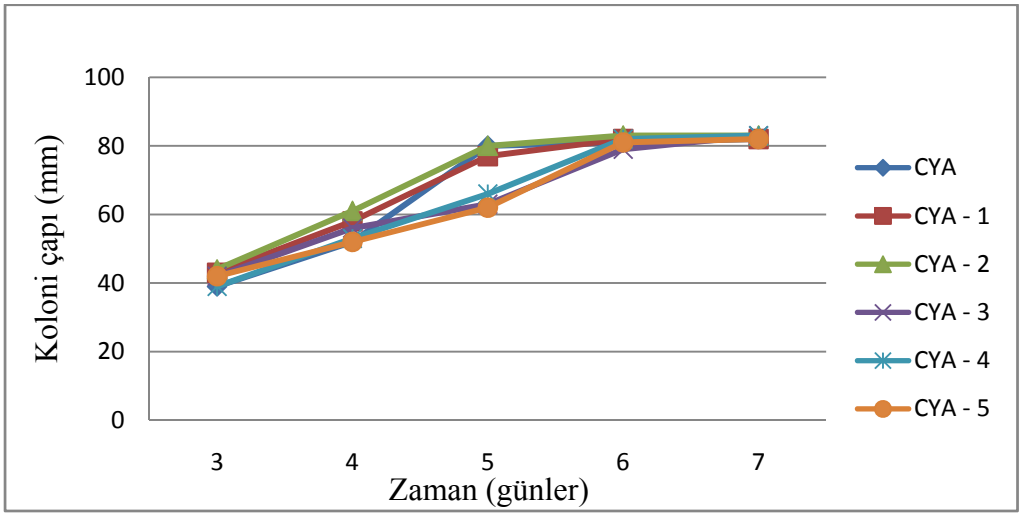
Hem 25 °C hem de 37 °C için makroskobik ve mikroskobik karakterlerde bir fark görülmedi.

Tablo 7. 4. 1. *A. niger'* in standart ve içeriği değiştirilmiş besiyerlerindeki koloni çap ölçüm değerleri (mm)

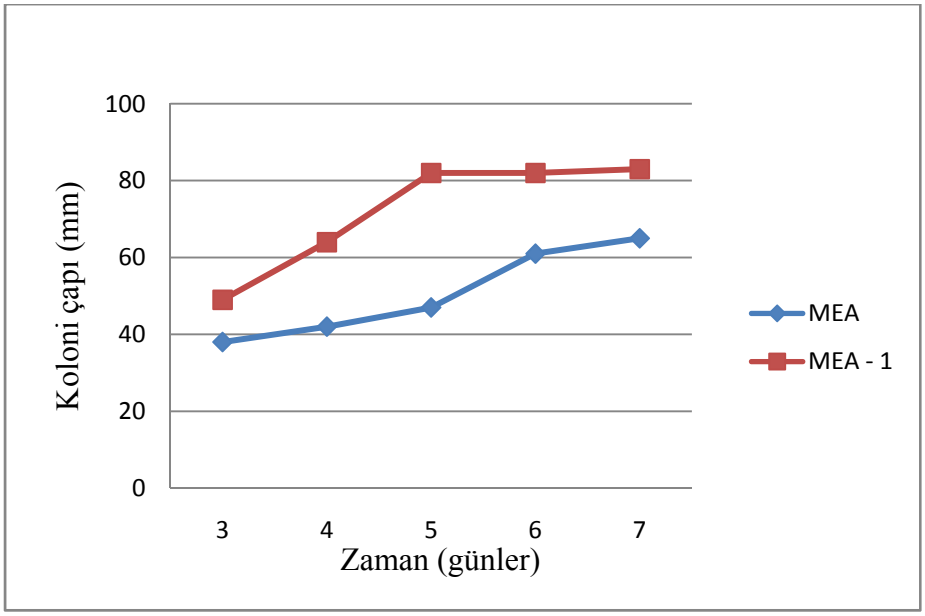
	3.GÜN		4.GÜN		5.GÜN		6.GÜN		7.GÜN	
	25 ˚C	**37 ˚C**	**25 ˚C**	**37 ˚C**	**25 ˚C**	**37 ˚C**	**25 ˚C**	**37 ˚C**	**25 ˚C**	**37 ˚C**
CYA	48-54	38-40	68-75	53-54	81-82	80-81	82-83	80-81	82-83	82-83
CYA-1	46-51	41-45	60-68	54-60	78-83	76-78	82-83	82-83	83	83
CYA-2	43-45	48-50	62-63	57-65	79-82	78-81	83	83	83	83
CYA-3	42-43	40-43	62-63	55-58	80-81	62-66	82-83	78-80	83	83
CYA-4	48-50	38-41	58-59	52-55	75-78	65-67	81	82	83	83
CYA-5	42-45	40-43	61-62	51-54	80-81	61-64	81	81	82	82
MEA	38-39	44-47	42-43	52-56	46-48	65-68	61-62	81-82	64-65	82-83
MEA-1	49-50	45-49	62-67	54-57	82-83	65-69	83	82-83	83	82-83
RB	23-26	37-39	24-27	39-41	25-28	41-43	32-37	50-56	39-43	55-60
RB-1	22-27	38-40	23-28	40-42	25-29	43-47	25-31	45-50	28-32	54-59
RB-2	23-27	37-39	25-29	41-43	30-31	42-45	34-35	43-46	34-35	50-56
RB-3	25-27	36-38	26-29	40-42	30-31	42-44	33-35	45-46	34-37	47-48
PDA	32-35	43-46	38-39	65-66	48-55	78-80	61-65	83	68-70	83
PDA-1	34-37	46-48	54-55	68-69	65-68	78-80	70-71	83	81-83	83
PDA-2	32-33	38-39	45-47	52-53	59-62	75-77	67-68	80-81	80-81	83



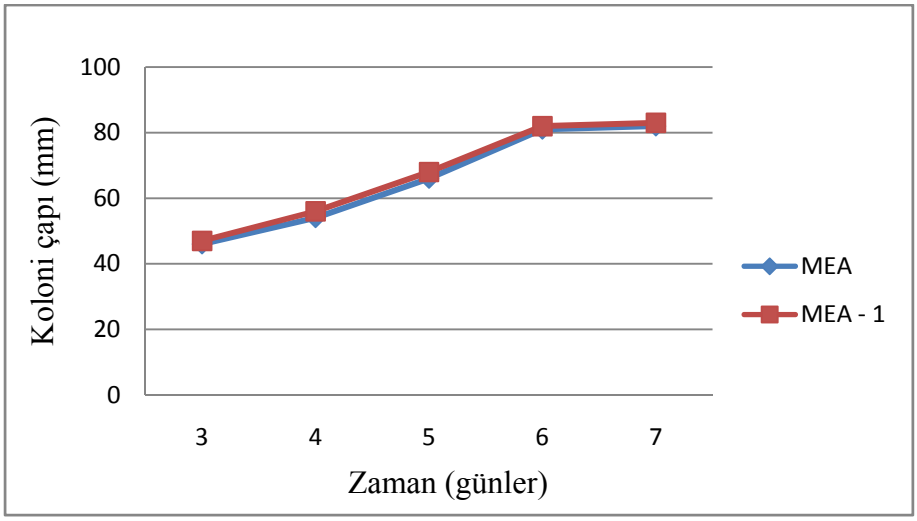
Şekil 7. 4. 7. *A. niger*' in CYA besiyerlerinde 25 °C' deki gelişim dağılımı



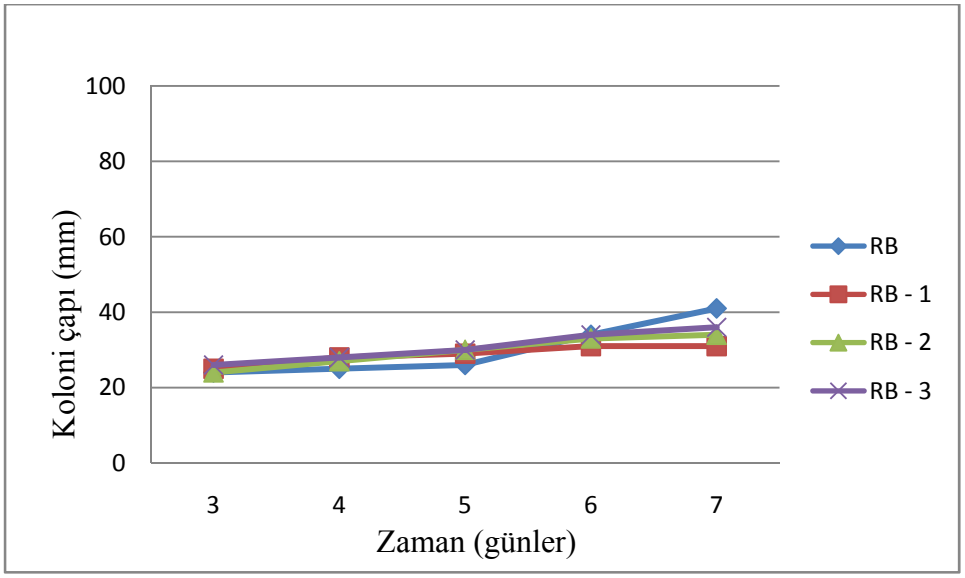
Şekil 7. 4. 8. *A. niger*' in CYA besiyerlerinde 37 °C' deki gelişim dağılımı



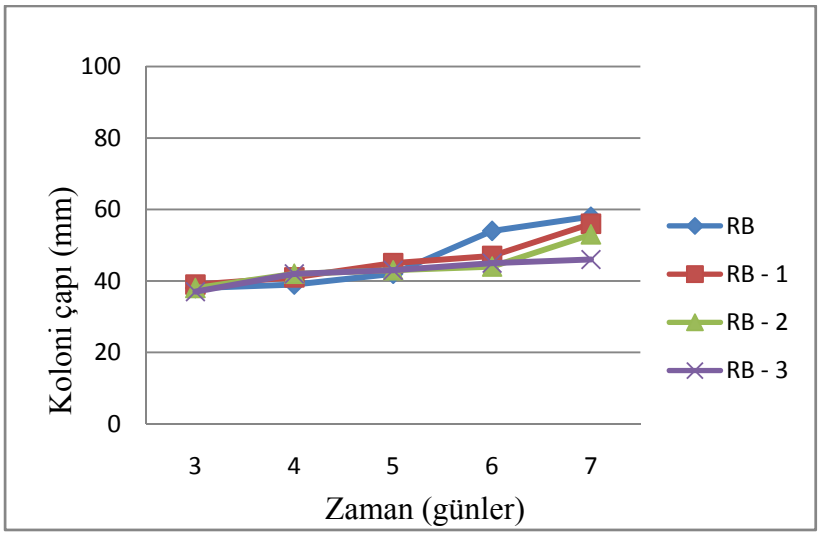
Şekil 7. 4. 9. *A. niger'* in MEA besiyerlerinde 25 °C' deki gelişim dağılımı



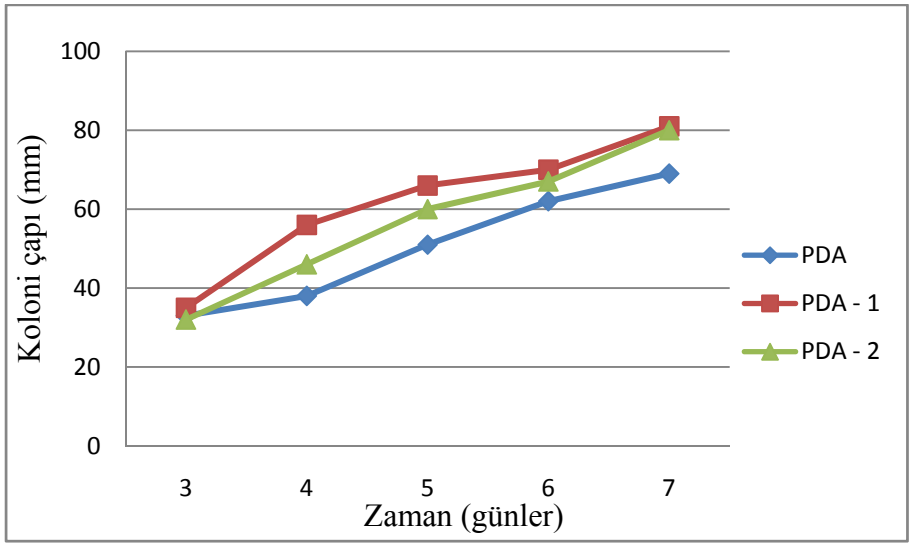
Şekil 7. 4. 10. *A. niger'* in MEA besiyerlerinde 37 °C' deki gelişim dağılımı



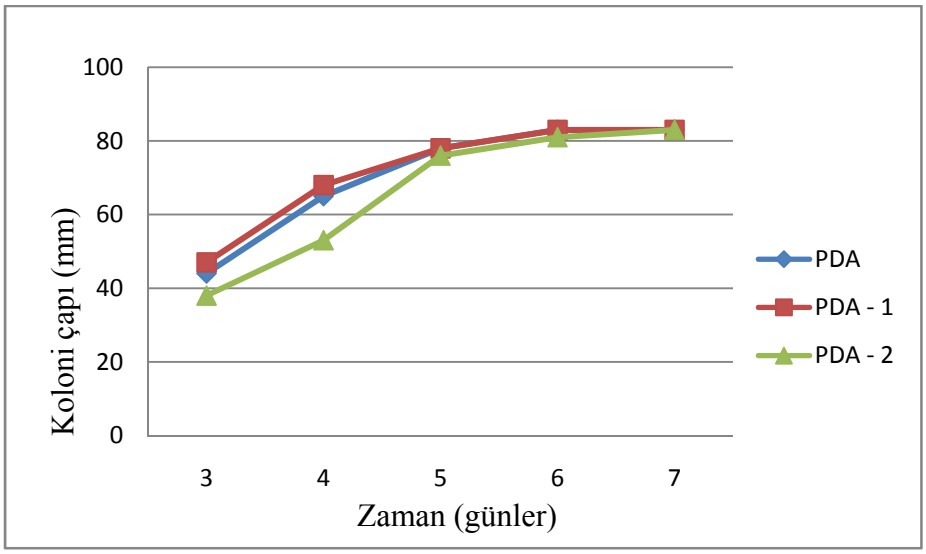
Şekil 7. 4. 11. *A. niger'* in RBC besiyerlerinde 25 °C' deki gelişim dağılımı



Şekil 7. 4. 12. *A. niger'* in RB besiyerlerinde 37 °C' deki gelişim dağılımı



Şekil 7. 4. 13. *A. niger'* in PDA besiyerlerinde 25 °C' deki gelişim dağılımı



Şekil 7. 4. 14. *A. niger'* in PDA besiyerlerinde 37 °C' deki gelişim dağılımı

7. 5. *Aspergillus terreus*

7. 5. 1. Czapek Yeast Autolysate Agar (CYA)

Bu besiyeri standart içerikli besiyeridir. Klich 2002 formülasyonuna göre hazırlanmıştır. Bundan sonraki altı CYA besiyeri bu besiyeri göz önüne alınarak değerlendirilmiştir.

Koloni çapı 25 °C' de, 7 günde 49-52 mm, sporlar açık kahve, miselyum beyaz, çözünür pigment belirsiz, koloni yapısı kadifemsi ve yüzey hafif pamuksu, merkez yünlü, ışınsal sulkat mevcuttur, eksuda görülmedi. Mikroskobik olarak, konidyal başçıklar sütunumsu, konidyofor düzgün duvarlı, vesikül çift seri fiyalidli, sporlar küresel ve duvar yüzeyi düzgündür.

37 °C' de 7 günde koloni çapı 82- 83 mm, sporulasyon kuvvetli, kahvemsi portakal, sulkat mevcut ve yarık sayısı oldukça fazla, eksuda yok, çözünür sarı pigment mevcuttur. Mikroskobik karakterler 25 °C ile aynıdır.



A



B



C

Şekil 7. 5. 1. *A. terreus*' un CYA besiyerindeki görünümü (A. 25 °C' de 7 günlük koloni; B. 37 °C' de 7 günlük koloni; C. Işık mikroskobu x 400)

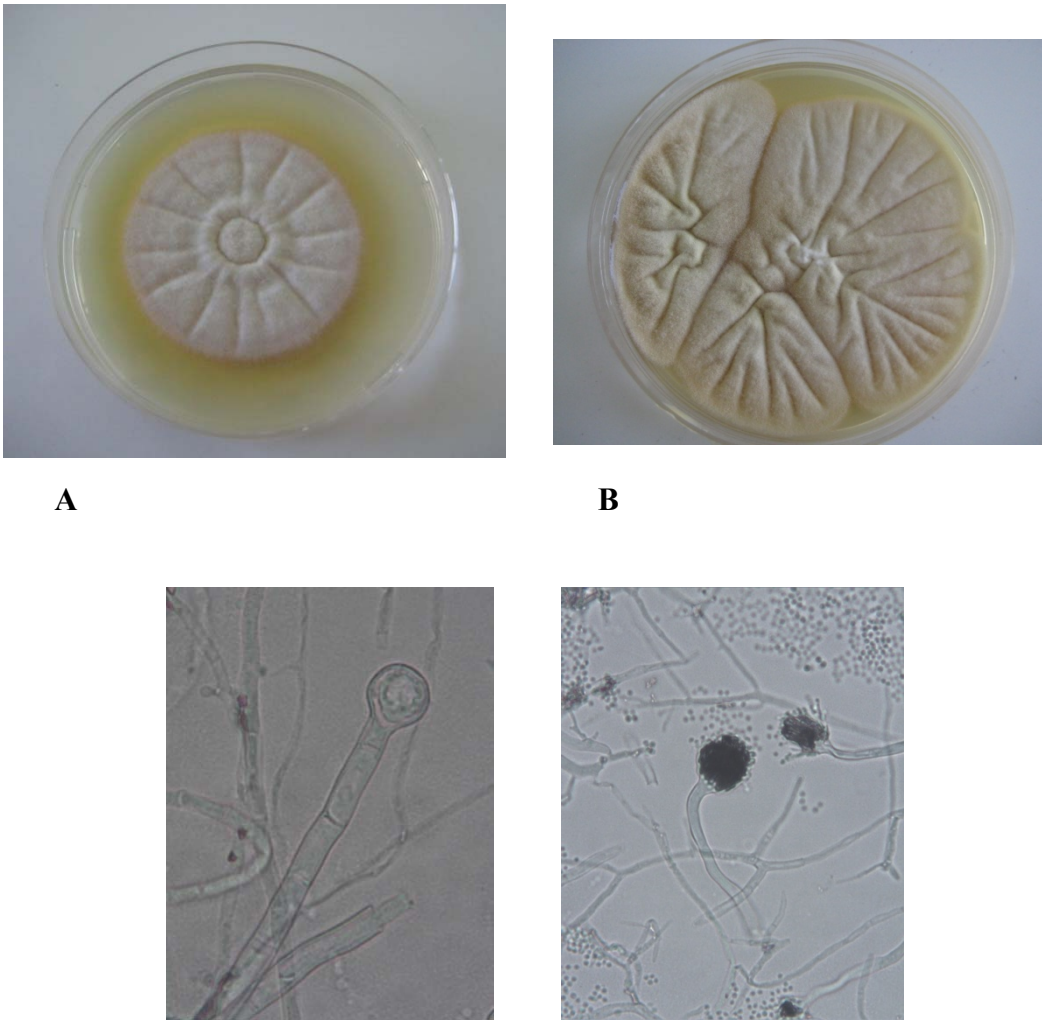
a) CYA – 1, CYA – 2, CYA – 3 ve CYA – 5;

Makroskobik ya da mikroskobik bir fark gözlemlenmedi.

b) CYA – 4;

25 °C' de 7 günde koloni çapı 59-60 mm, konidyal başçıklar beyaz renkli, sporulasyon yok, koloni yapısı yünsü, parlak çözünür sarı pigment belirgin, ışınsal sulkat mevcut, eksuda yok, mikroskobik olarak, vesikül küresele yakın, konidyofor kalınlamış ve vesikülde fiyalid yapısı gözlemlenmedi.

37 °C' de 7 günde koloni 78-81 mm çapında, konidyal başçıklar krem renkli, sulkat yapısı düzensiz, çözünür parlak sarı pigment yok, mikroskobik olarak, konidyal başçıklar sütun şeklinde, konidyofor duvarı düzgün ve renksiz, sporlar küreseldir.



A **B**

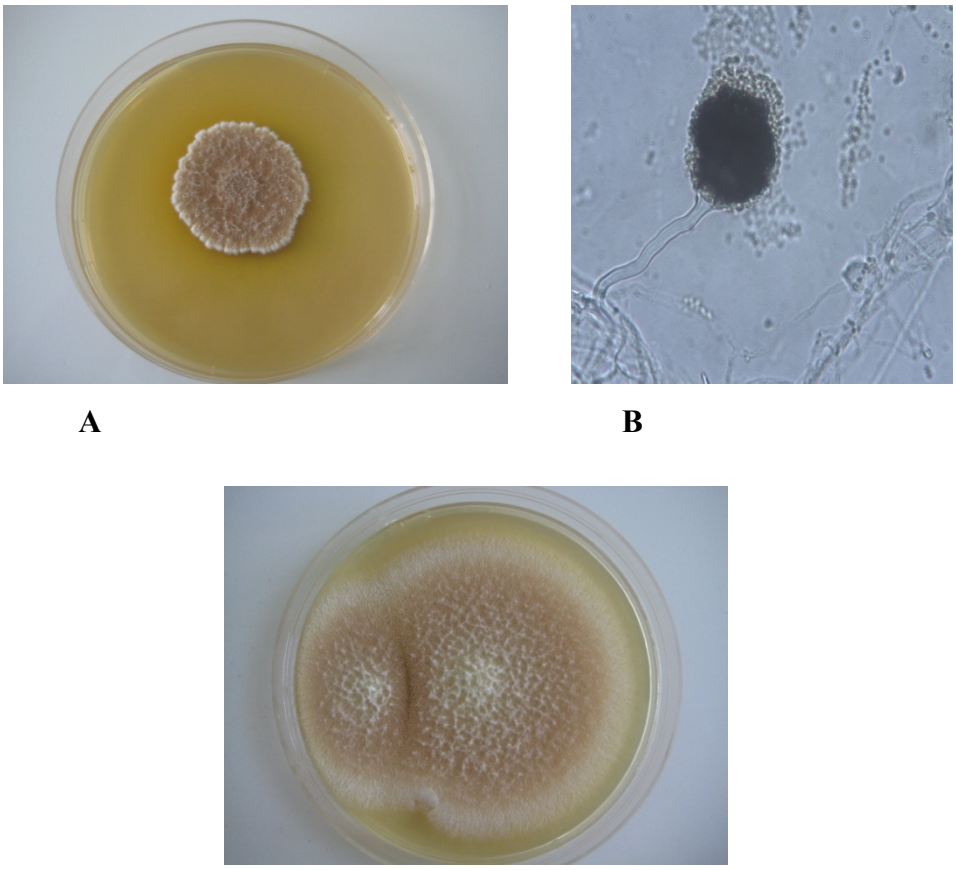
C **D**

Şekil 7. 5. 2. *A. terreus*' un CYA – 4 besiyerindeki görünümü (A. 25 °C' de 7 günlük koloni; B. 37 °C' de 7 günlük koloni; C. 25 °C ışık mikroskobu x 400; D. 37 °C ışık mikroskobu x 400)

7. 5. 2. Malt Ekstrakt Agar (MEA);

Standart içerikli besiyeri ortamıdır, Klich 2002 formülasyonuna göre hazırlanmıştır. 25 °C' de, 7 günde koloni çapı 34-36 mm, konidyal başçıklar kahvemsi, koloni yüzeyi düzgün, ışınsal sulkat oluşumu yok, koloni genel yapısı kadifemsi-pamuksu, sarı renkte çözünür pigment mevcut ve mikroskobik olarak karakterler CYA besiyeri ile aynıdır.

37 °C' de, 7 günde koloni çapı 75- 80 mm, konidyal başçıklar açık kahve, koloni genel yapısı pamuksu, çözünür pigment belirsiz, ışınsal sulkat oluşumu yok. Mikroskobik karakterler 25 °C ile aynıdır.



A **B**

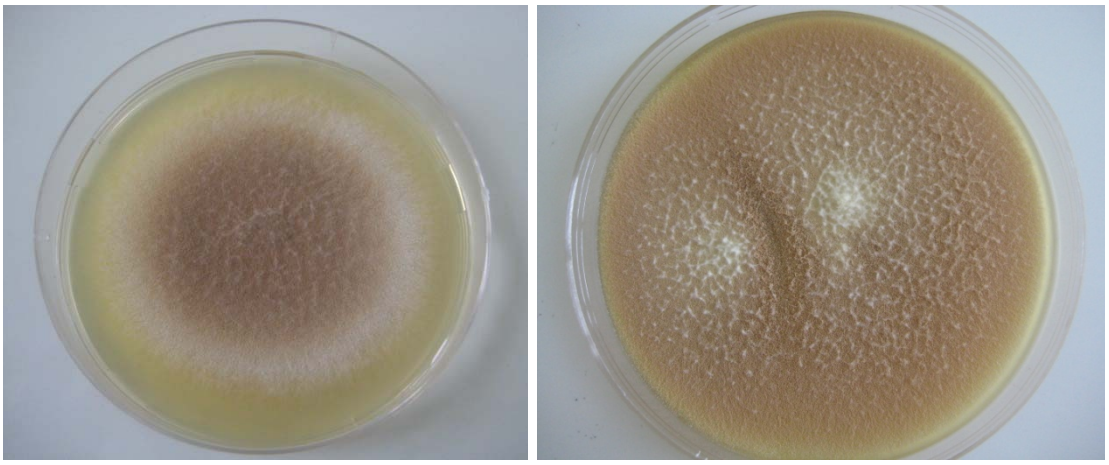
C

Şekil 7. 5. 3. *A. terreus*' un MEA besiyerindeki görünümü (A. 25 °C' de 7 günlük koloni; B. 25 °C ışık mikroskobu x 400; C. 37 °C' de 7 günlük koloni)

a) MEA – 1;

25 °C' de 7 günde koloni çapı 76- 78 mm, koloni genel yapısı pamuksu, ışınsal sulkat yok, çözünür pigment yok, marjinde miselyum beyaz renkli, konidyal başçıklar açık kahve, mikroskobik karakterlerin MEA ile aynı olduğu görüldü.

37 °C' de 7 günde koloni çapı 80-82 mm, konidyal başçıklar koyu kahve ve marjinde miselyum oluşumu yok. Mikroskobik karakterlerde bir fark gözlemlenmedi.



A **B**

Şekil 7. 5. 4. *A. terreus*' un MEA – 1 besiyerindeki görünümü (A. 25 °C' de 7 günlük koloni; B. 37 °C' de 7 günlük koloni)

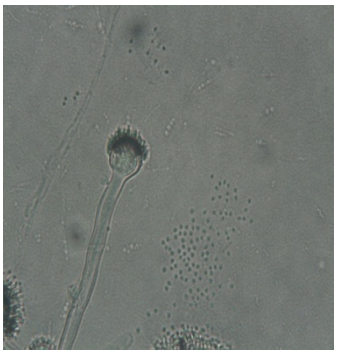
7. 5. 3. Rose Bengal Streptomycin Agar (RB);

Standart içerikli besiyeri ortamıdır. 25° C' de 7 günde koloni çapı 35-36 mm, konidyal başçıkların merkezde ve marjindeki renk farklılığından dolayı zonasyon oluşumu mevcut, merkez umbonat ve yoğun pamuksu, koloni genel yapı olarak kadifemsi, pamuksu, sarı çözünür pigment belirsiz, sulkat seyrek, marjinde krem renkli miselyum görüldü. Mikroskobik olarak, konidyal başçık sütunumsu, vesikül çift seri, konidyofor düzgün duvarlı ve ince, sporlar küreseldir.

Koloni 37 °C' de 7 günde 75- 78 mm çapında, konidyal başçıklar sarımsı kahve, merkezde ışınsal sulkat mevcut, koloni yapısı kadifemsi, marjinde beyaz vejatatif miselyum mevcut, mikroskobik karakterler 25 °C ile aynı özelliktedir.



A





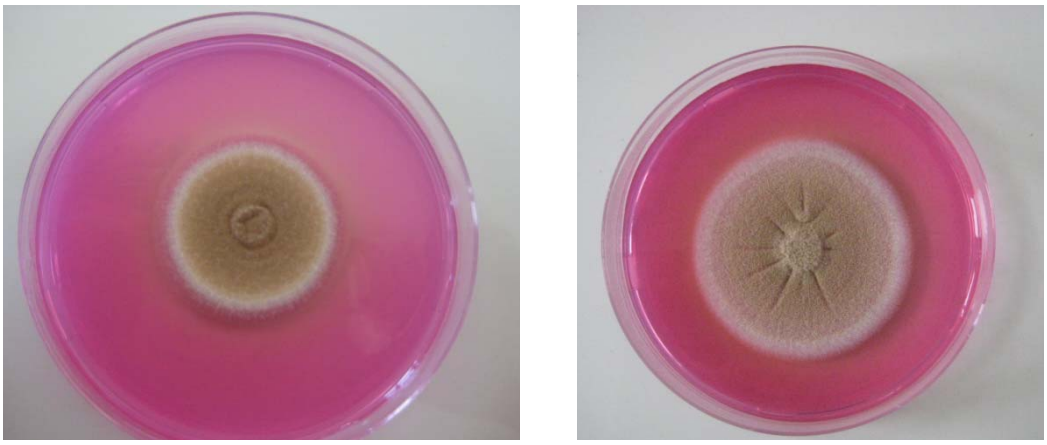
B **C**

Şekil 7. 5. 5. *A. terreus*' un RB besiyerindeki görünümü (A. 25 °C' de 7 günlük koloni; B. 25 °C ışık mikroskobu x 400; C. 37 °C' de 7 günlük koloni)

a) RB -1;

25 °C' de 7 günde koloni çapı 41-42 mm, konidyal başçıklar sarımsı kahve, ışınsal sulkat yok, koloni yapısı kadifemsidir. Çözünür pigment belirsiz, marjinde miselyum beyaz renkli, mikroskobik karakterler RB ile aynıdır.

37 °C' de 7 günde koloni çapı 65-70 mm, merkezde ışınsal sulkat mevcut, konidyal başçıklar açık sarımsı kahve, koloni yapısı kadifemsi pamuksudur. Mikroskobik karakterler RB ile aynıdır.



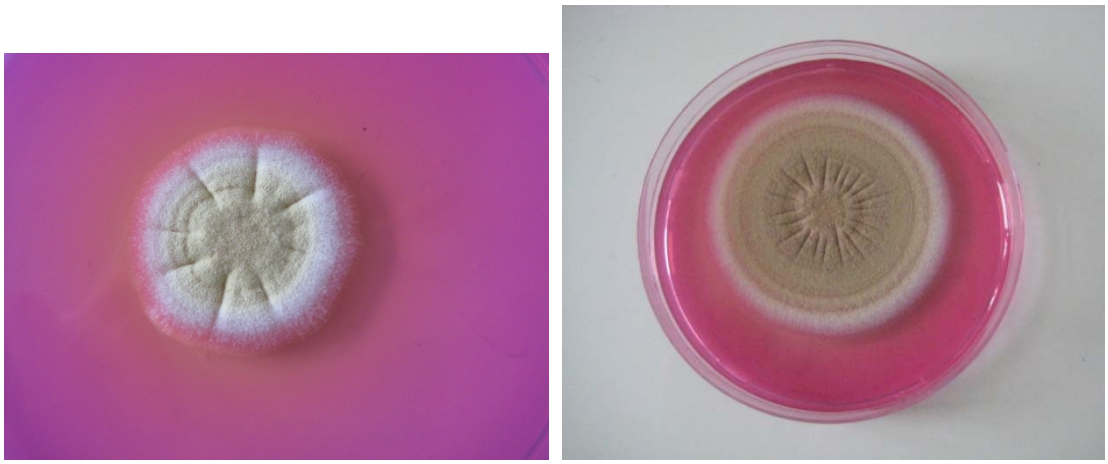
A **B**

Şekil 7. 5. 6. *A. terreus*' un RB – 1 besiyerindeki görünümü (A. 25 °C' de 7 günlük koloni; B. 37 °C' de 7 günlük koloni)

b) RB – 2;

25 °C' de 7 günde koloni çapı 30-31 mm, konidyal başçıklar krem-kahve tonunda, ışınsal sulkat seyrek, çözünür sarı pigment belirgin, miselyum beyaz renklidir. Mikroskobik özelliklerin RB besiyeri ile aynı olduğu gözlemlendi.

37 °C' de 7 günde koloni çapı 65-70 mm, merkezde ışınsal sulkat mevcut ve sık, konidyal başçıklar donuk krem kahve, konidyal başçıkların sıkı ve gevşek paketlenmesinden dolayı marjine doğru bir zonasyon oluşumu mevcut, çözünür pigment belirsiz, mikroskobik karakterler ve görünüm RB besiyeri ile aynı görünümdedir.



A **B**

Şekil 7. 5. 7. *A. terreus*' un RB – 2 besiyeri görünüm (A. 25 °C' de 7 günlük koloni; B. 37 °C' de 7 günlük koloni)

c) RB – 3;

25 °C' de 7 günde koloni çapı 30-31 mm, Koloni yapısı pamuksu, merkez umbonat, ışınsal sulkat seyrek olarak mevcut, miselyum beyaz renkli, sporulasyon kuvvetli, konidyal başçıklar krem kahve, çözünür sarı pigment mevcut.

Mikroskobik karakterlerde bir değişiklik yok RB ile aynıdır. 37 °C' deki koloni gelişimi, makroskobik ve mikroskobik özellikler RB- 2 ile aynı olarak gözlemlendi.

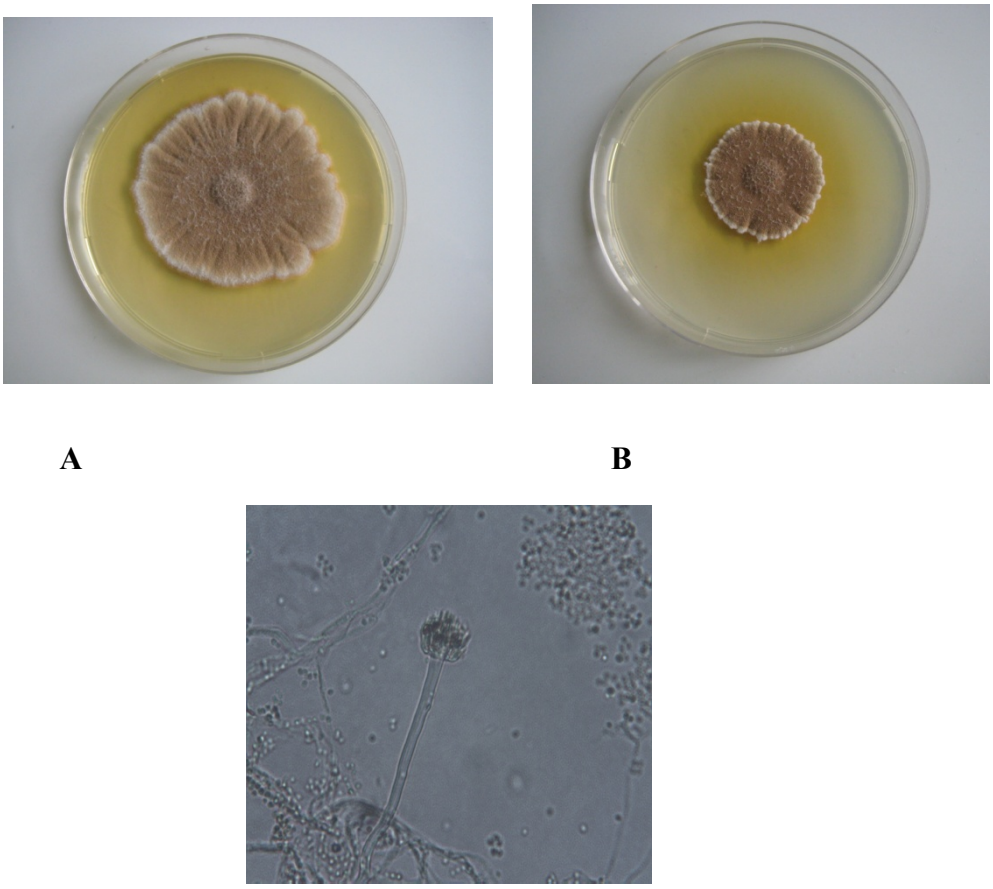


Şekil 7. 5. 8. *A. terreus*' un RB – 3 besiyerindeki 7 günlük koloni görünümü

7. 5. 4. Patates Dekstroz Agar (PDA);

Standart içerikli besiyeri ortamıdır. 25 °C de 7 günde koloni çapı 33-36 mm, konidyal başçıklar sarımsı kahve, çözünür pigment belirgin olarak mevcut, koloni yüzeyi düzgün, sadece marjinde ışınsal sulkat oluşumu var fakat belirgin değil, koloni yapısı kadifemsi, yüzeyi pamuksudur. Mikroskobik olarak konidyal başçıklar sütunumsu, konidyofor düzgün duvarlı, vesikül çift seri fiyalid iöeriyor ve olgun sporlar küreseldir.

37 °C' de 7 günde koloni çapı 78-80 mm, konidyal başçıklar daha açık kahve tonunda ve çözünür pigment belirgin değil. Diğer tüm karakterler 25 °C ile aynıdır.



A **B**

C

Şekil 7. 5. 9. *A.terreus*' un PDA besiyerindeki görünümü (A. 37 °C' de 7 günlük koloni; B. 25 °C' de 7 günlük koloni; C. 25 °C ışık mikroskobu x 400)

a) PDA – 1;

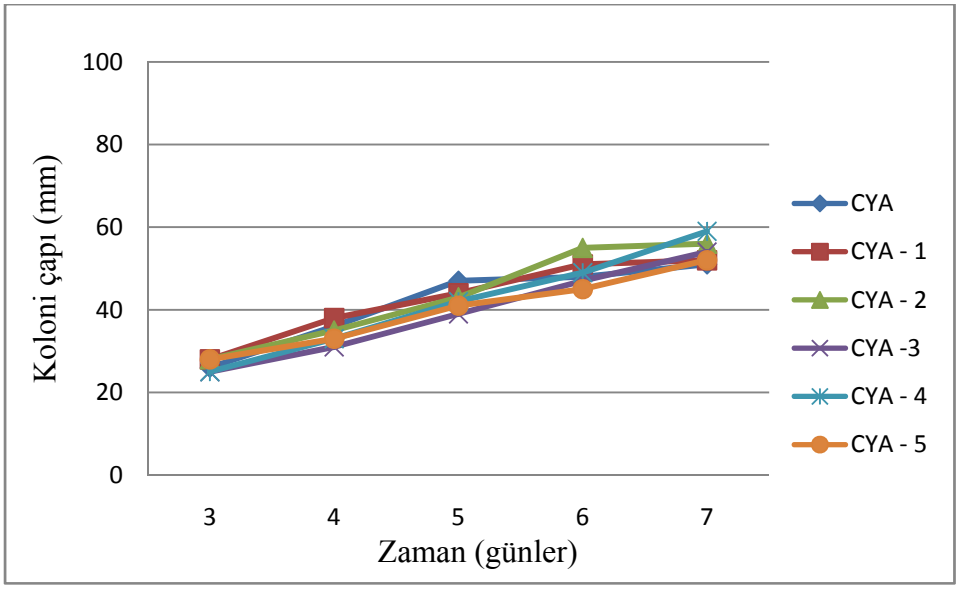
Makroskobik ve mikroskobik olarak hem 25 °C hem de 37 °C' de herhangi bir fark gözlemlenmedi.

b) PDA – 2;

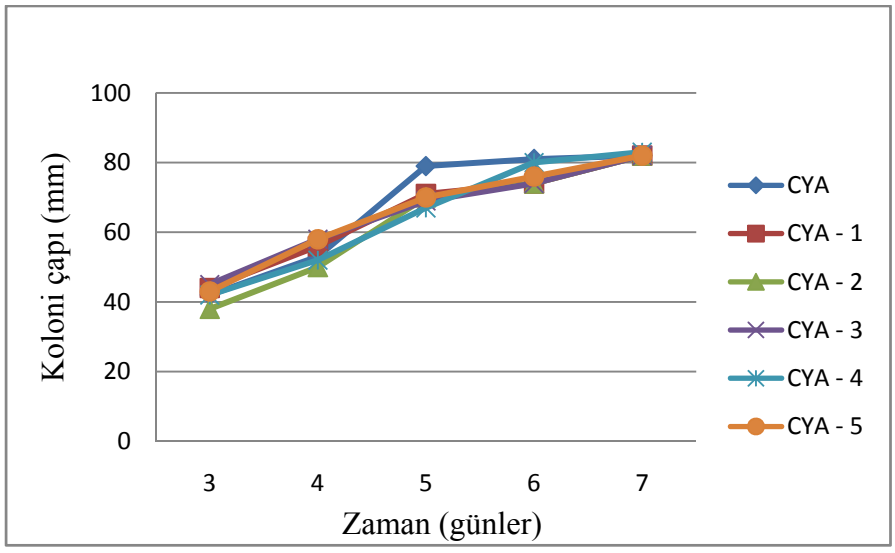
Makroskobik ve mikroskobik olarak hem 25 °C hem de 37 °C' de herhangi bir fark gözlemlenmedi

Tablo 7. 5. 1. *A. terreus'* un standart ve içeriği değiştirilmiş besiyerlerindeki koloni çap ölçüm değerleri (mm)

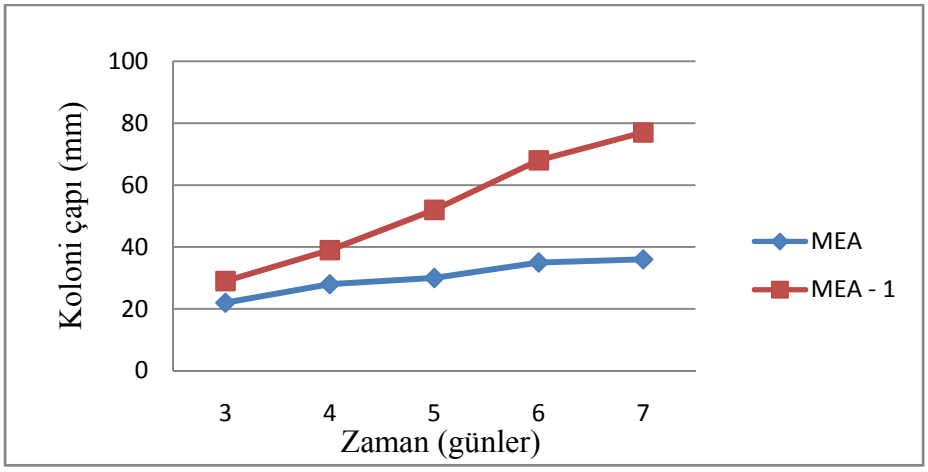
	3.GÜN		**4.GÜN**		**5.GÜN**		**6.GÜN**		**7.GÜN**	
	25 ˚C	**37 ˚C**	**25 ˚C**	**37 ˚C**	**25 ˚C**	**37 ˚C**	**25 ˚C**	**37 ˚C**	**25 ˚C**	**37˚C**
CYA	24-28	42-43	36-37	52-55	47-48	78-80	47-48	81-82	49-52	83
CYA-1	27-31	42-46	37-39	56-58	42-46	70-72	51-52	73-78	53-54	82
CYA-2	27-28	37-39	34-37	49-51	42-45	70-71	54-57	74-75	64	82
CYA-3	25-26	45-46	31-32	58-59	39-40	69-71	48-49	74-75	55-56	82
CYA-4	24-27	42-43	32-34	51-54	42-43	65-70	49-50	80-81	58-60	83
CYA-5	27-29	43-44	33-34	57-58	41-42	70-71	44-46	75-78	52-53	82
MEA	22-23	43-45	28-29	51-54	30-31	63-65	34-36	70-72	34-36	75-80
MEA-1	29-30	54-56	38-41	56-57	52-53	68-69	65-70	74-75	77-78	80-82
RB	11-12	42-44	13-14	56-57	25-26	65-66	29-30	70-72	35-36	75-78
RB-1	16-17	38-39	21-22	47-49	29-30	52-54	31-35	60-62	41-42	65-70
RB-2	17-19	40-41	23-24	47-48	25-27	53-54	28-30	60-61	30-31	65-70
RB-3	18-19	40-42	22-23	48-49	24-25	52-54	27-29	59-62	31-32	66-71
PDA	21-22	32-33	27-29	40-41	30-32	55-57	32-33	70-71	33-36	78-80
PDA-1	19-20	32-33	21-22	39-41	28-30	52-53	28-29	70-71	33-34	80-81
PDA-2	20-21	28-30	22-27	35-38	27-30	44-45	29-31	49-52	30-31	60-62



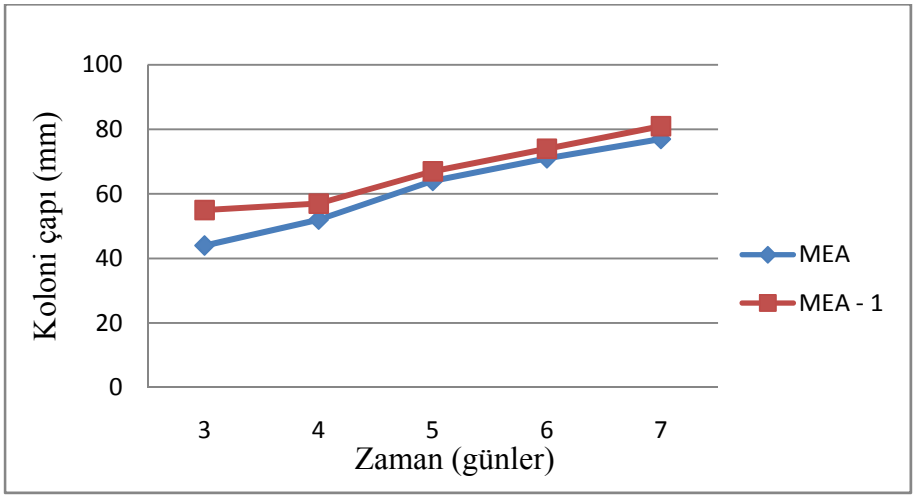
Şekil 7. 5. 10. *A. terreus'* un CYA besiyerlerinde 25 °C' deki gelişim dağılımı



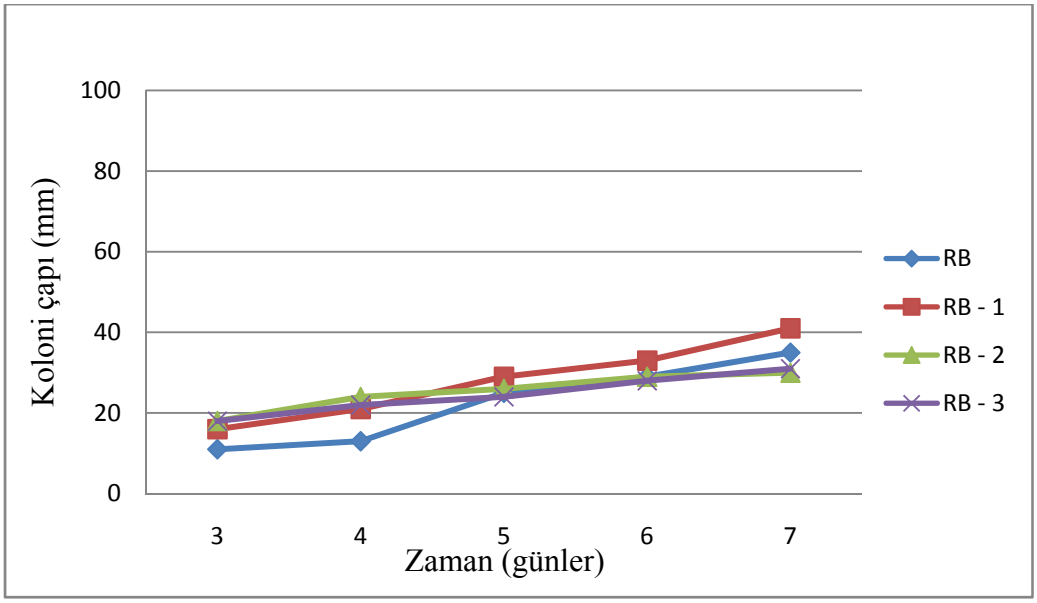
Şekil 7. 5. 11 *A. terreus'* un CYA besiyerlerinde 37 °C' deki gelişim dağılımı



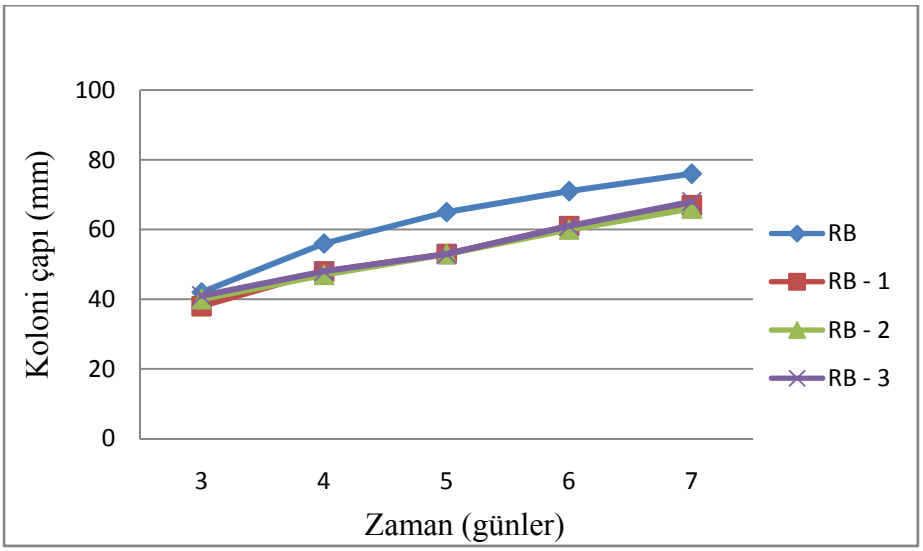
Şekil 7. 5. 12. *A. terreus'* un MEA besiyerlerinde 25 °C' deki gelişim dağılımı



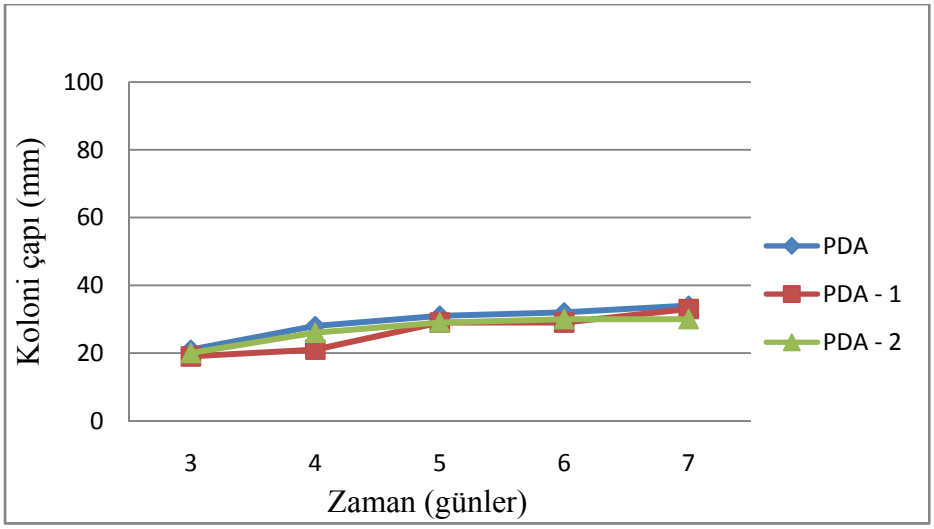
Şekil 7. 5. 13. *A. terreus'* un MEA besiyerlerinde 37 °C' deki gelişim dağılımı



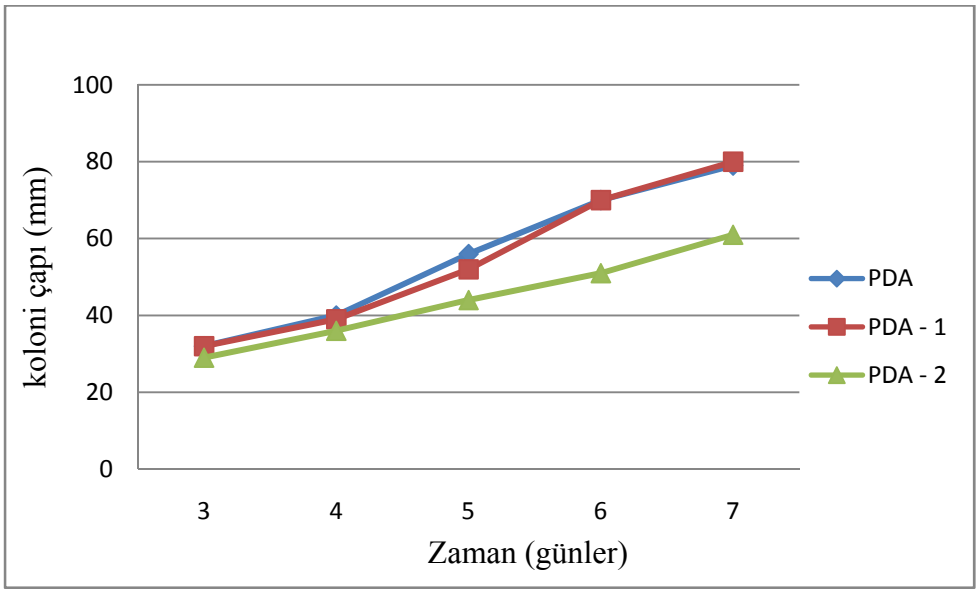
Şekil 7. 5. 14. *A. terreus'* un RB besiyerlerinde 25°C' deki gelişim dağılımı



Şekil 7. 5. 15. *A. terreus'* un RB besiyerlerinde 25°C' deki gelişim dağılımı



Şekil 7. 5. 16. *A. terreus'* un PDA besiyerlerinde 25°C' deki gelişim dağılımı



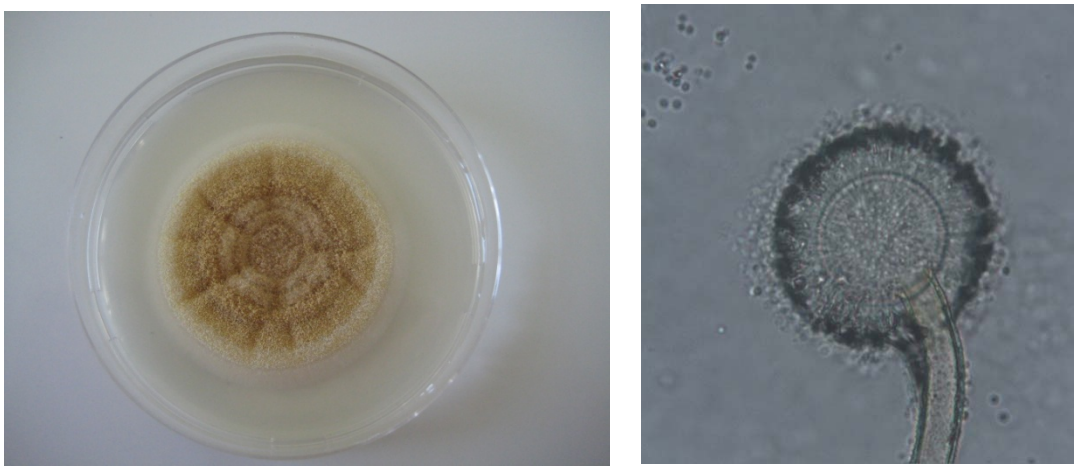
Şekil 7. 5. 17. *A. terreus'* un PDA besiyerlerinde 37°C' deki gelişim dağılımı

7. 6. *Aspergillus wentii*

7. 6. 1. Czapek Yeast Autolysate Agar (CYA);

Bu besiyeri standart içerikli besiyeridir. Klich 2002 formülasyonuna göre hazırlanmıştır. Bundan sonraki altı CYA besiyeri bu besiyeri göz önüne alınarak değerlendirilmiştir.

Koloniler 7 günde 25 °C' de 60-62 mm çapında, sporlar zeytinimsi kahve, ışınsal sulkat mevcut, marjinde beyaz miselyum mevcut, eksuda ve çözünür pigment yoktur. Mikroskobik olarak konidyal başçıklar ışınsal, konidyofor duvarı pürüzlü, vesikül çift seri fiyalid içermekte ve küreseldir. 37 °C' de gelişim gözlemlenmedi.



A **B**

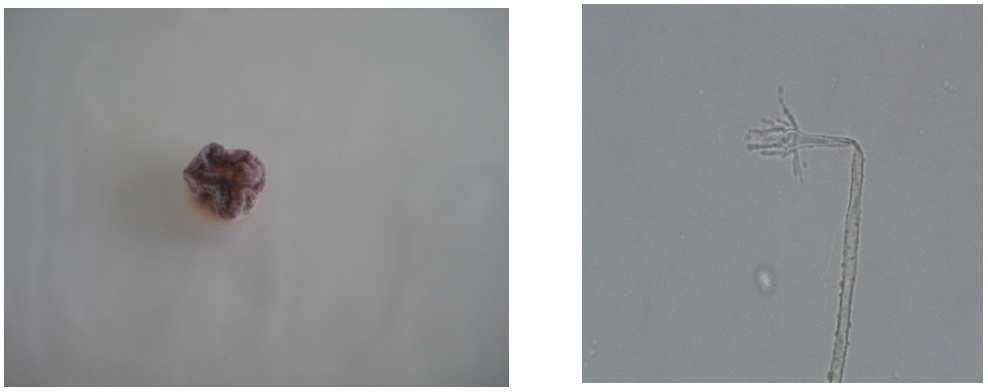
Şekil 7. 6. 1. *A. wentii'* nin CYA besiyerindeki görünümü (A. 25 °C' de 7 günlük koloni; B. 25 °C ışık mikroskobu x 400)

a) CYA – 1 ve CYA - ,2

Makroskobik ve mikroskobik olarak CYA ile aralarında herhangi bir fark gözlemlenmedi.

b) CYA – 3;

25 °C' deki tüm özellikler CYA ile aynı. CYA' dan farklı olarak 37 °C' de de gelişim gözlendi. 7 günde koloni çapı 6-8 mm, krater yapıda bir koloni oluşumu mevcut, spor rengi koyu kahve, vejetasyon belirsiz. Mikroskobik olarak, konidyofor pürüzlü, vesikül küresele yakın ve tek seri fiyalid gözlemlendi.



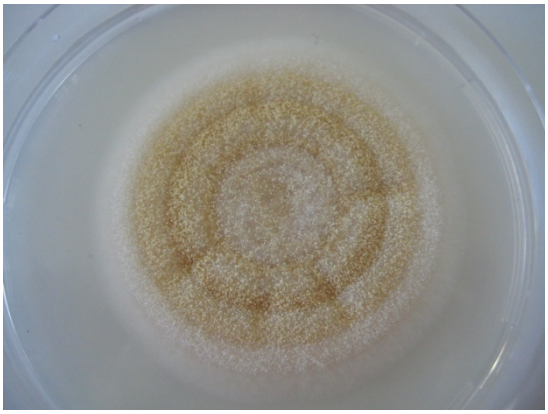
A **B**

Şekil 7. 6. 2. *A. wentii'* nin CYA – 3 besiyerindeki görünümü (A. 37 °C' de 7 günlük koloni; B. 37 °C' de ışık mikroskobu x 400)

c) CYA – 4;

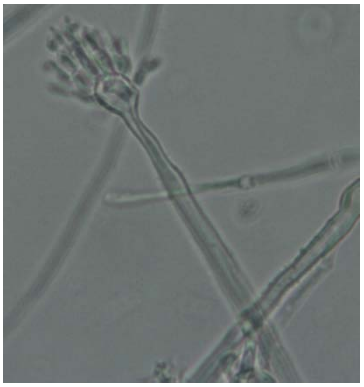
25 °C 'de konidyal başçıkların rengi sarımsı kahve ve bunun dışında bir fark görülmedi. Büyüme oranı ve diğer tüm özelliklerin CYA ile aynı olduğu gözlemlendi.

37 °C' de gelişim mevcut. 7 günde koloni çapı 6-7 mm, yani mikro düzeyde bir kolonizasyon mevcut ve sporulasyon oluşumu gözlenmedi. Mikroskobik olarak vesikül sütunumsu ve tek seri fiyalid gözlemlendi.



A





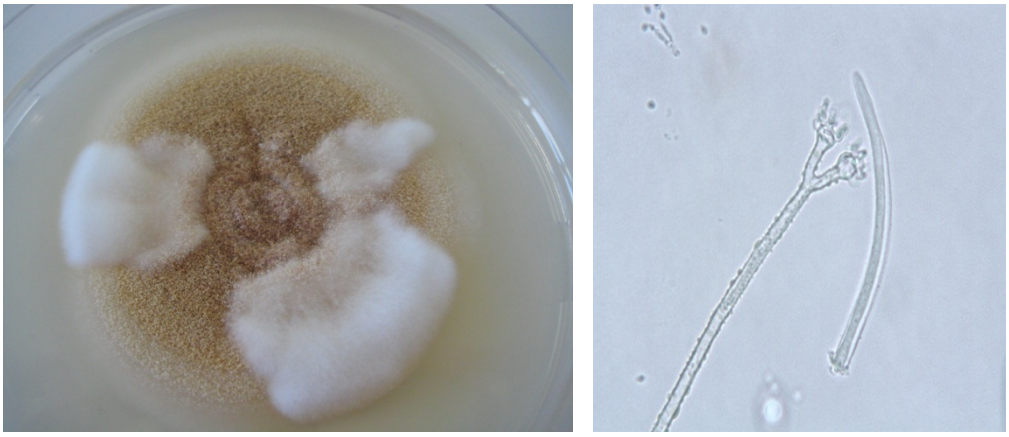
B **C**

Şekil 7. 6. 3. *A. wentii'* nin CYA – 4 besiyerindeki görünümü (A. 25 °C' de 7 günlük koloni; B. 37 °C' de 7 günlük koloni; C. 37 °C 'de ışık mikroskobu x 400)

d) CYA – 5;

25 °C' de 7 günde koloni çapı 59-63 mm çapında, spor rengi zeytinimsi kahve, koloni de bazı kısımlarda beyaz renkli miselyum kitleleri görüldü. Sulkat yok. Mikroskobik görünüm CYA ile aynı özellikleri taşımaktadır.

37 °C' de gelişim gözlendi. 7 günde koloni çapı 5-7 mm, sporulasyon kahvemsi, mikroskobik incelemede ışınsal ve ikiye çatallanmış konidyal başçıklara rastlandı. Konidyofor pürüzlü ve tek seri olarak görülmüştür.



A **B**

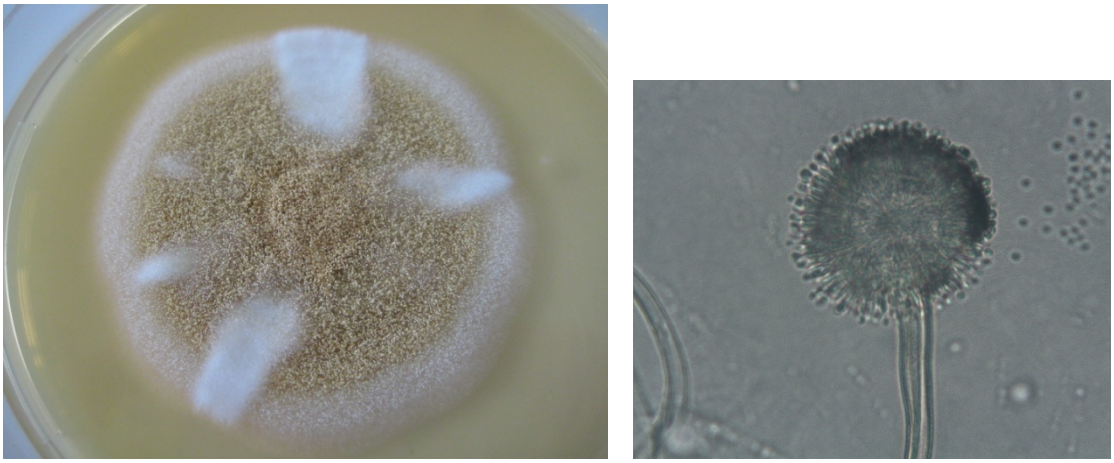


C

Şekil 7. 6. 4. *A. wentii'* nin CYA – 5 besiyerindeki görünümü (A. 25 °C' de 7 günlük koloni; B. 37 °C' de ışık mikroskobu x 400; C. 37 °C' de 7 günlük koloni)

7. 6. 2. Malt Ekstrakt Agar (MEA);

Standart içerikli besiyeri ortamıdır, Klich 2002 formülasyonuna göre hazırlanmıştır**.** 7 günde 25 °C' de koloni çapı 55-57 mm, spor bol, zeytinimsi kahve, miselyum beyaz, sulkat yok, beyaz miselyum kitleleri mevcut. Mikroskobik olarak konidyofor duvarı pürüzlü, vesikül küresel ve iki seri fiyalid içermektedir. Sporlar küresel olarak görüldü ve 37 °C' de gelişim gözlemlenmedi.

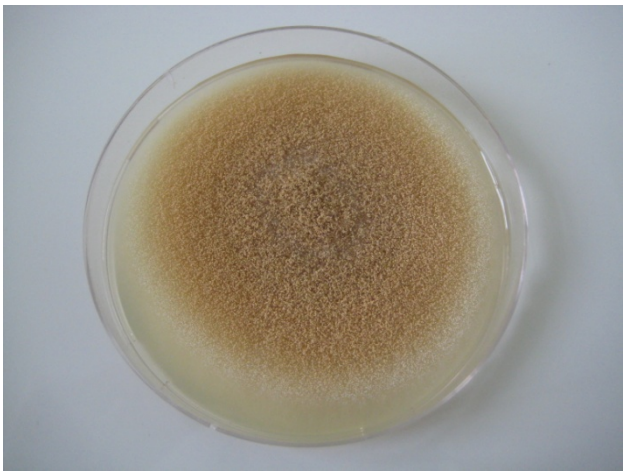


A **B**

Şekil 7. 6. 5. *A. wentii*' nin MEA besiyerindeki görünümü (A. 25 °C' de 7 günlük koloni; B. 25 °C ışık mikroskobu x 400)

c) MEA – 1;

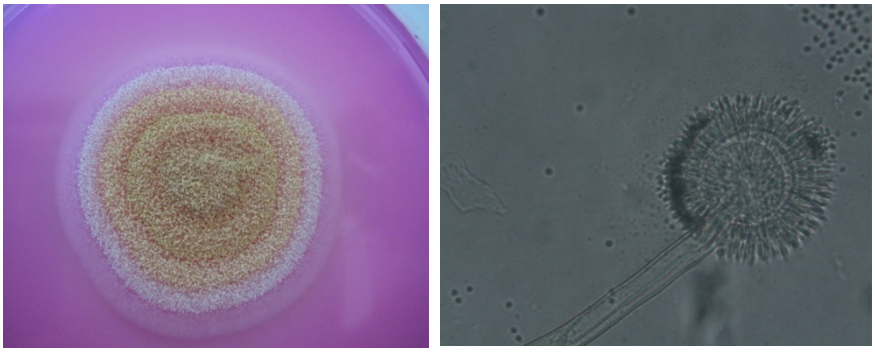
25 °C' de 7 günde koloni çapı 80- 83 mm, ışınsal sulkat yok, spor bol ve zeytinimsi kahve, miselyum beyaz ve MEA besiyerindeki gibi miselyum kitlelerine rastlanmamıştır. Mikroskobik karakterler MEA ile aynıdır.



Şekil 7. 6. 6. *A. wentii*' nin MEA – 1 besiyerindeki 7 günlük koloni görünümü

7. 6. 3. Rose Bengal Streptomycin Agar (RB);

Standart içerikli besiyeri ortamıdır. 25 °C' de 7 günde koloni çapı 41-42 mm, spor bol, zeytinimsi kahve, miselyum beyaz, sporların gevşek ve sıkı paketlenmesinden dolayı zonasyon oluşumu gözlendi. Mikroskobik olarak, konidyofor duvarı pürüzlü, vesikül iki seri fiyalid içermekte ve konidyal başçıklar ışınsal, sporlar küreseldir. 37 °C' de gelişim gözlemlenmedi.

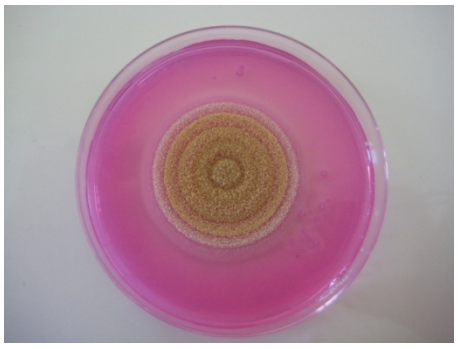


A **B**

Şekil 7. 6. 7. *A wentii*' nin RB besiyerindeki görünümü (A. 25 °C' de 7 günlük koloni; B. 25 °C ışık mikroskobu x 400)

a) RB – 1;

25 °C' de 7 günde koloni 52-53 mm çapında, yani büyüme oranı dışında RB ile arasında bir fark gözlemlenmedi.

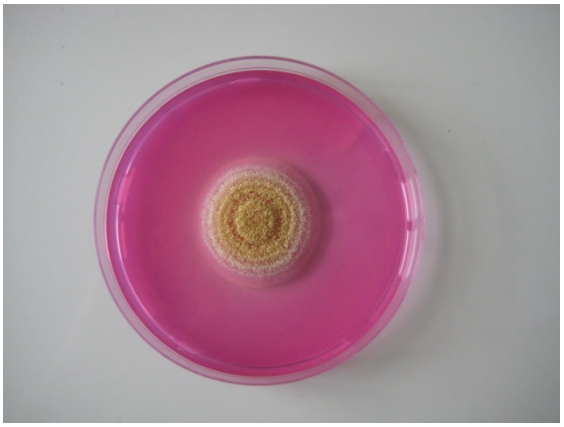


Şekil 7. 6. 8. *A. wentii*' nin RB – 1 besiyerindeki 7 günlük koloni görünümü

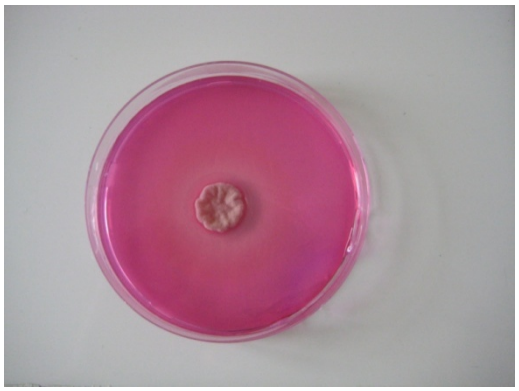
b) RB – 2;

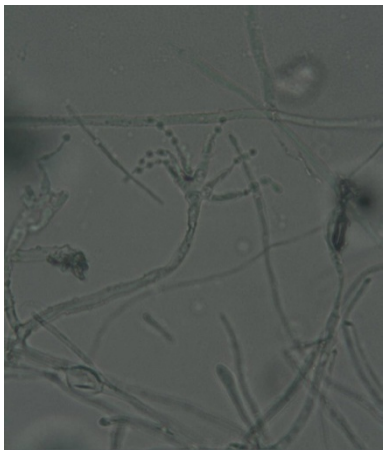
25 °C' de 7 günde koloni çapı 35-37 mm, büyüme oranı dışında makroskobik bir fark gözlenmedi, mikroskobik olarak ise yine tüm özellikler RBC ile aynıdır.

37 °C' de gelişim mevcut 7 günde koloni çapı 12-15 mm, spor orta derecede ve donuk gri, koloni krater formunda, mikroskobik olarak konidyofor kalınlık bakımından düzensiz, pürüzlü, vesikül küresele yakın, fiyalidler tek seri ve normalden uzun ve seyrek olarak gözlemlendi.



A





B **C**

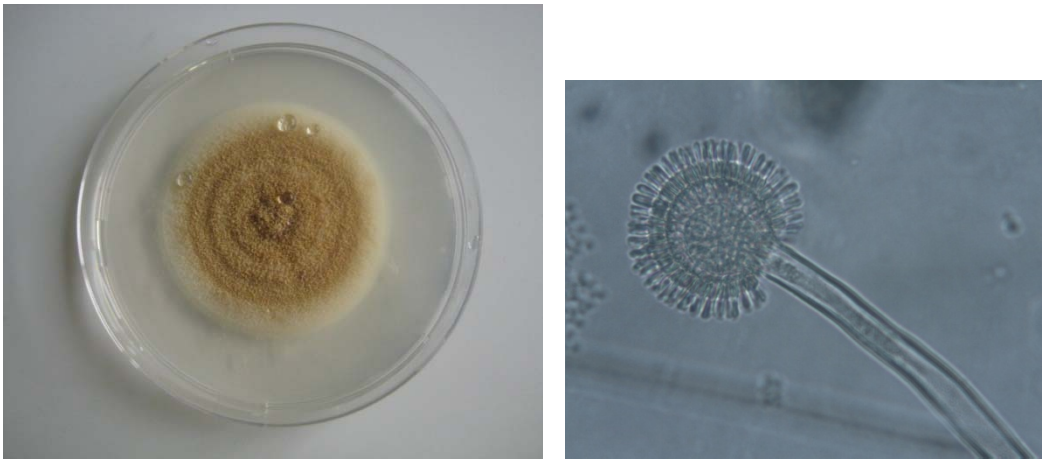
Şekil 7. 6. 9. *A. wentii*' nin RB – 2 besiyerindeki görünümü (A. 25 °C' de 7 günlük koloni; B. 37 °C' de 7 günlük koloni; C. 37 °C 'de ışık mikroskobu x 400)

c) RB - 3;

25 °C' de koloni gelişimi gibi makroskobik ve mikroskobik özellikler RB besiyeri ile aynı, herhangi bir fark gözlemlenmedi.

7. 6. 4. Patates Dekstroz Agar (PDA);

Standart içerikli besiyeri ortamıdır. 25 °C' de 7 günde koloni çapı 55-56 mm, spor bol, zeytinimsi kahve, miselyum beyaz, sporların sıkı ve gevşek paketlenmesinden dolayı zonasyon mevcut, sulkat ve eksuda yok, mikroskobik olarak, vesikül ışınsal, iki seri fiyalid mevcut, konidyofor pürüzlü ve sporlar küreseldir. 37 °C' de gelişim gözlemlenmedi.



A **B**

Şekil 7. 6. 10. *A. wentii*' nin PDA besiyerindeki görünümü (A. 25 °C' de 7 günlük koloni; B. Işık mikroskobu x 400)

a) PDA – 1 ve PDA – 2;

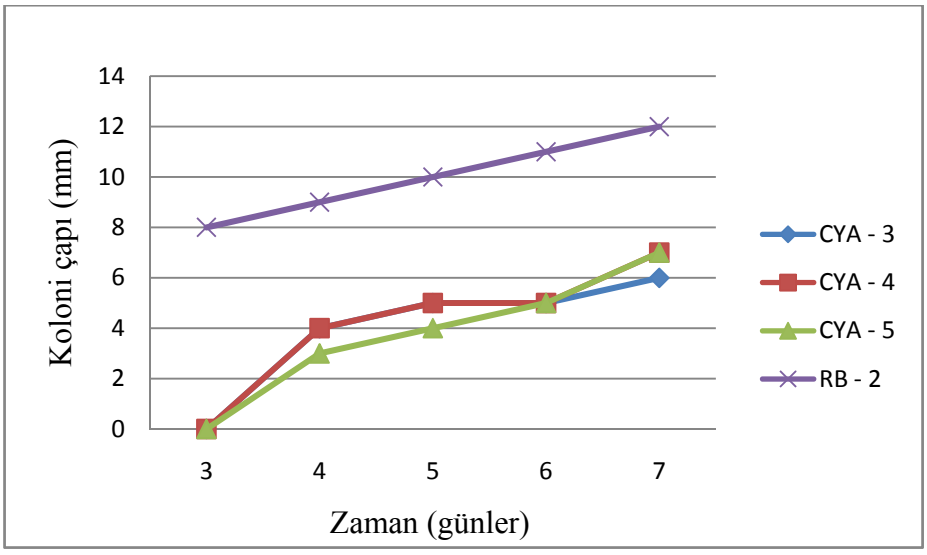
PDA ile aralarında makroskobik ya da mikroskobik bir fark gözlemlenmedi.

Tablo 7. 6. 1. *A. wentii'* nin standart ve içeriği değiştirilmiş besiyerlerindeki koloni çap ölçüm değerleri (mm)

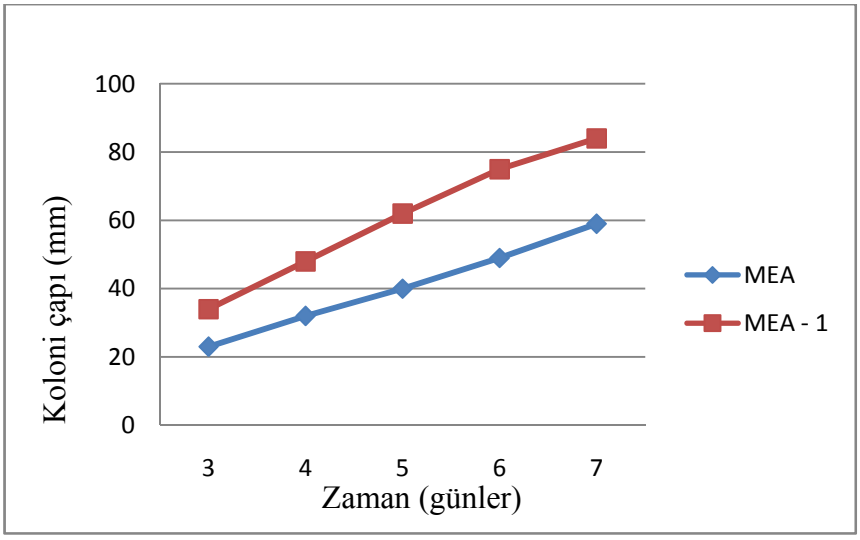
	3.GÜN		4.GÜN		5.GÜN		6.GÜN		7.GÜN	
	25 ˚C	**37 ˚C**	**25 ˚C**	**37 ˚C**	**25 ˚C**	**37 ˚C**	**25 ˚C**	**37 ˚C**	**25 ˚C**	**37 ˚C**
CYA	26-28	-	37-38	-	47-48	-	53-54	-	60-62	-
CYA-1	22-24		33-34		38-40		44-48		58-59	
CYA-2	22-23	-	32-33	-	42-43	-	51-52	-	58-59	-
CYA-3	22-25	-	38-40	4	44-45	5	51-52	5-6	57-65	6-8
CYA-4	24-25	-	34-35	4	45-46	5	51-53	6	59-63	6-7
CYA-5	26-27	-	32-33	3	42-43	4	49-50	5	58-60	5-6
MEA	23-24	-	30-33	-	39-41	-	48-50	-	55-57	-
MEA-1	33-35	-	47-48	-	62-63	-	75-76	-	84-85	-
RB	17-18	-	22-23	-	33-34	-	37-39	-	41-42	-
RB-1	20-21	-	24-25	-	35-36	-	42-43	-	52-53	-
RB-2	16-17	8-9	18-21	9-10	23-25	9-10	28-31	11-12	36-37	12-15
RB-3	15-16	-	20-22	-	26-28	-	30-33	-	37-38	-
PDA	22-23	-	32-33	-	39-40	-	46-48	-	54-56	-
PDA-1	21-22	-	33-34	-	41-43	-	48-50	-	53-55	-
PDA-2	21-24	-	28-31	-	38-40	-	46-48	-	49-51	-



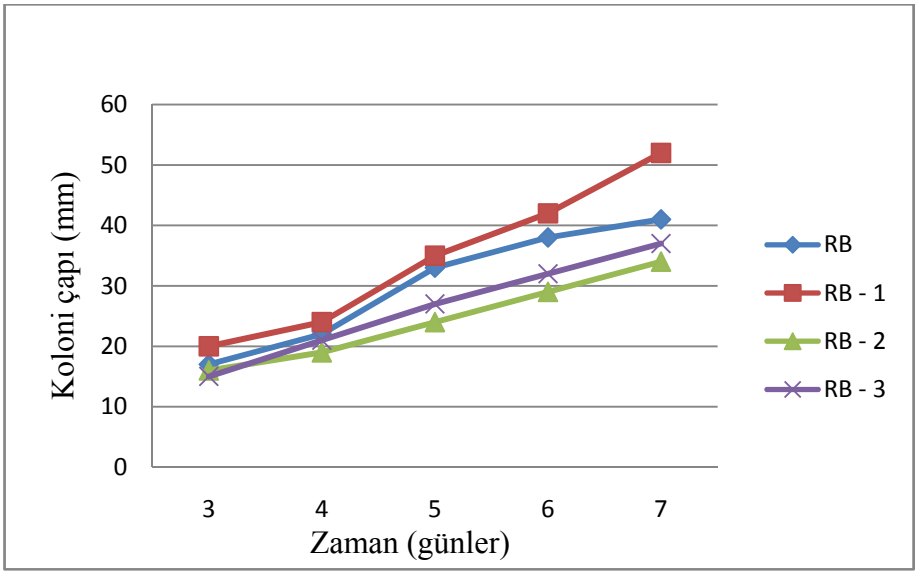
Şekil 7. 6. 11. *A. wentii'* nin CYA besiyerlerinde 25°C' deki gelişim dağılımı



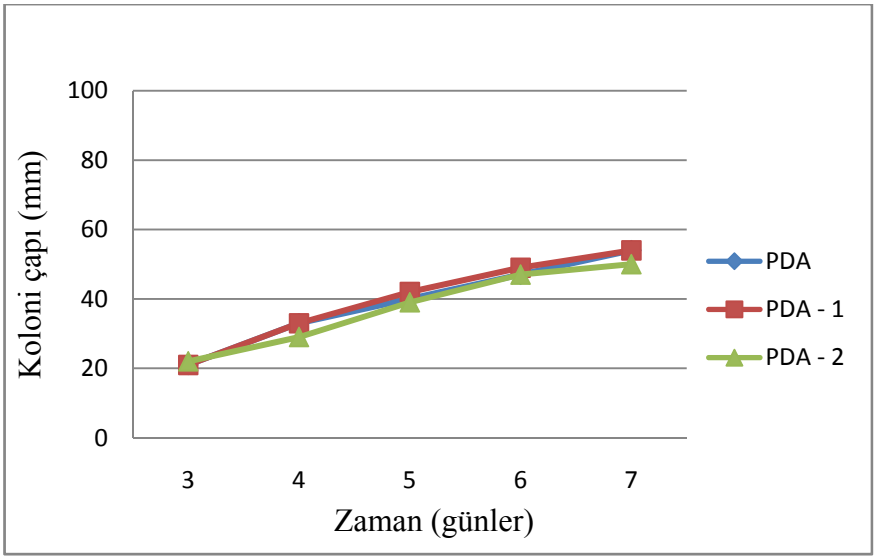
Şekil 7. 6. 12. *A. wentii'* nin 37°C' deki gelişim dağılımı



Şekil 7. 6. 13. *A. wentii'* nin MEA besiyerlerinde 25°C' deki gelişim dağılımı



Şekil 7. 6. 14. *A. wentii'* nin RB besiyerlerinde 25°C' deki gelişim dağılımı



Şekil 7. 6. 15. *A. wentii'* nin PDA besiyerlerinde 25°C' deki gelişim dağılımı

Tablo. 7.7.1. Bulguların tablo halinde özeti

	Penicillium janthinellum	*Penicillium chrysogenum*	*Penicillium aurantiogriseum*	*Aspergillus niger*	*Aspergillus terreus*	*Aspergillus wentii*
CYA - 3	Sporulasyon Negatif	Sporulasyon Negatif	Sporulasyon Negatif	Fark Yok	Fark Yok	37 °C' de Üreme Mevcut
CYA - 4	Sporulasyon Ve Pigment Oluşumu Negatif	Sporulasyon Negatif	Sporulasyon Negatif	Fark Yok	Sporulasyon Negatif	Sporulasyon Negatif, 37 °C' de Üreme Mevcut
CYA - 5	Fark Yok	Fark Yok	Fark Yok	Fark Yok	Fark Yok	37 °C' de Üreme Mevcut
PDA - 2	Pigment Negatif, Kısmi Sporlanma Bölgeleri Mevcut	Fark Yok	Fark Yok	Fark Yok	Fark Yok	Fark Yok
MEA - 1	Gelişim Fazla, Çürük Kokusu Mevcut	Gelişim Fazla	Gelişim Fazla	Gelişim Fazla	Gelişim Fazla	Gelişim Fazla
RB - 1	Sporulasyon Ve Gelişim Fazla	Sporulasyon Ve Gelişim Fazla	Sporulasyon Ve Gelişim Fazla	Sporulasyon Ve Gelişim Fazla	Sporulasyon Ve Gelişim Fazla	Sporulasyon Ve Gelişim Fazla
RB - 2	Gelişim Az	Gelişim Az Ve 37 °C' de Üreme Mevcut	Gelişim Az	Gelişim Az	Gelişim Az	Gelişim Az Ve 37 °C' de Üreme Mevcut
RB - 3	Fark Yok	37 °C' de Üreme Mevcut	Fark Yok	Fark Yok	Fark Yok	Fark Yok

8. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada 6 fungus türünün (*P.janthinellum, P. chrysogenum, P. aurantiogriseum, A. niger, A. wentii, A. terreus*) standart ve içeriği değiştirilmiş besiyerlerindeki makroskobik ve mikroskobik yapıları incelenmiş ve standart besiyeri ortamları göz önüne alınarak değerlendirmeleri yapılmıştır.

Standart besiyeri ortamında aynı türe ait farklı morfolojik görünümün o türün başka bir varyetesine bağlı olduğu bilinmekle beraber, besiyeri ortamlarındaki farklılığın türlerin makroskobik ve mikroskobik özelliklerinde değişikliğe neden olabildikleri teşhisle uğraşan tüm bilim adamları tarafından bilinmektedir. Türlerin teşhislerinde kolaylık sağlayacak besiyeri ortamları yarım asırdır araştırılmakta ve hala bu araştırmalar devam etmektedir (Samson ve Pitt, 2000).

Yapılan bu çalışmaların devamı niteliğinde olan çalışmamızda incelediğimiz tüm türler ele alındığında MEA- 1 ve RB – 1' in gelişim açısından en uygun besiyeri ortamları olduğu anlaşılmıştır. Özellikle RB – 1 besiyerinde gelişimin yanında sporulasyon oluşumu da diğer RB besiyerlerinden oldukça fazla olduğu görüldü. Bunun nedeni besiyeri içine ilave ettiğimiz CC' dir. CC, CYA besiyerinde sporulasyon gelişimini teşvik edici bir karışımdır (Klich, 2002). Özellikle küf mantarlarının laboratuvarlarda üretilmeleri sırasında misel formunu baskılayan, spor oluşumunu arttıran koşulların sağlanması ile tanı kolaylaşır (Mutlu vd., 1999). Bu nedenle rutin çalışmalarda bu besiyeri ortamları kullanılmalıdır. Ayrıca MEA – 1 besiyerinde *P. janthinellum'* da çürük kokusu oluşumu tespit edilmiştir. Koku türler için tanımlayıcı bir karakter olmamakla beraber teşhisi destekleyici bir özellik olarak kullanılabilir (Raper ve Fennell, 1965). Bu durum bize teşhis yapılırken ayırt edici bir kriter sağlamaktadır ve bu nedenle de bu besiyerinin bu açıdan önemli olduğunu söyleyebiliriz. Her iki besiyeri ile ilgili daha fazla bilgi için daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

P. chrysogenum, P. aurantiogriseum, P. janthinellum' un CYA – 3 besiyerinde zayıf spor oluşturdukları gözlemlenmiştir. (Şekil 7.1.2, Şekil 7.2.3, Şekil 7.3.3). Bu türler CYA besiyerinde kuvvetli spor oluşturan türlerdir (Pitt, 2000). CYA – 3 besiyeri hazırlanırken CC – 3 konsantresine $ZnSO_4$ ilave edilmeden hazırlanmıştır.

Zn^{+2} besiyeri ortamında önemli bir eser elementtir ve Smitt tarafından 1949 yılında sporulasyon ve renk sorununun ortadan kalkması için CYA besiyeri hazırlanırken CC' e ilave edilmesi önerilmiştir. (Klich 2002). Elde ettiğimiz bu sonuçlarda bunu desteklemektedir. Buna göre kültür ortamlarına katılan bir eser bileşik olan $ZnSO_4$'ün incelediğimiz *Penicillium* türleri için sporulasyonda önemli bir madde olduğu sonucuna varabiliriz. Çalışmamızda kullandığımız *Aspergillus* türlerinde sporulasyon açısından bu besiyerinin önemli bir fark oluşturmadığı gözlemlendi. Bu nedenle *Aspergillus* ile ilgili rutin çalışmalarda bu besiyerinin kullanılmasının bir sakıncası yoktur.

İncelediğimiz *Penicillium* türlerinin CYA – 4 besiyerinde spor oluşturmadığı, *Aspergillus* türlerinin ise spor oluşumunda azalma olduğu görülürken *P. janthinellum'* un buna ilave olarak bu besiyerinde pigment oluşturmadığı görülmüştür (Şekil 7.1.3). Bu besiyeri hazırlanırken CC - 4 konsantresine $CuSO_4$ ilave edilmedi. Cu^{+2} besiyeri ortamında önemli bir eser elementtir ve Smitt tarafından 1949 yılında CYA besiyeri hazırlanırken sporulasyon ve renk sorununun ortadan kalkması için CC' e ilave edilmesi önerilmiştir. (Klich 2002). Dolayısıyla elde ettiğimiz bu sonuç beklenen bir durum olmasına rağmen *Aspergillus niger* bu besiyerinde sporulasyon açısından çok fazla etkilenmediği için bu besiyerinin rutin çalışmalarda kullanılmasının bir sakıncası yoktur. Fakat genel olarak bu besiyeri ortamı türlerin teşhisine uygun bir ortam değildir. Çünkü teşhis yapılırken spor oluşumunun gözlenmemesi istenmeyen bir durumdur. Pigment oluşumunu engelleme mekanizması hakkında daha önce bir çalışma yapılmamış olmasına rağmen, Cu^{+2} elementinin bu tür için pigment oluşturma mekanizmasında rol oynadığını söyleyebiliriz. Fakat bu mekanizma ile ilgili daha ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç vardır.

P. janthinellum PDA besiyerinde pigment oluştururken PDA – 2 besiyerinde pigment oluşturmadığı gözlemlendi ve normalde PDA besiyerinde spor oluşumu gözlenmeyen bu tür için PDA – 2 besiyerinde kısmi sporlanma bölgeleri tespit edilmiştir (Şekil 7.1.13). Besiyeri bileşimine katılan % 0.1 oranında KH_2PO_4' ün *P. janthinellum*' un pigmentasyonu ile ilgili fizyolojik reaksiyonları engellediğini söyleyebiliriz. Buna ilave olarak bu türün spor oluşturmasında pozitif etkisi olduğu saptanmıştır. Bu maddenin değişik konsantrasyonlarının fungal fizyoloji üzerine etkisi

daha detaylı araştırmalar gerektirmektedir. Bu şekilde spor oluşturmadığı için teşhislerinde güçlük çekilen diğer türler için uygun bir ortam elde edilebilir.

37 °C' de RB besiyerinde üremesi gözlenmeyen *P. chrysogenum'* un RB – 2 ve RB – 3 besiyerlerinde gelişimi gözlemlenmiştir. Bu durumda bu besiyerlerine ilave edilen % 0.005 $ZnSO_4$ ve glukoz 37 °C' de gelişim ile ilgili fizyolojik reaksiyonları tetiklemiş olabilir. Bu sonuçla ilgili daha detaylı fizyolojik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Elde ettiğimiz tüm bu sonuçlara ilave olarak *A. wentii* CYA 37 °C' de gelişim göstermeyen bir türdür (Klich, 2002). Ayrıca yapmış olduğumuz standart RB ve CYA besiyerlerinde de 37 °C' de üremesi gözlenmemiştir. Fakat CYA – 3, CYA – 4, CYA – 5 ve RB – 2 besiyerlerinde mikro koloni şeklinde gelişimi görülmüştür (Şekil 7.6.2., Şekil 7.6.3. B, Şekil 7.6.4. C, Şekil 7.6.9. B.) . Özellikle CYA – 5 besiyerinde ikiye çatallanmış vesikül yapısının bu türün teşhisi yapılırken önemli bir mikroskobik fark olduğu söylenebilir. *A. wentii* için bulunan bu sonuç ile ilgili daha detaylı fizyolojik araştırmalara gerek duymakla beraber bu besiyerlerinin bu açıdan önemli olduğunu söyleyebiliriz.

Modern *Penicillium* sınıflandırması morfoloji, fizyoloji (özellikle koloni çapı), metabolit üretimi ve moleküler çalışmaları kapsamaktadır. Aynı zamanda geleneksel teknikler hala sınıflandırmayı çok belirleyicidir, bunlar petri kültür kaplarının ve mikroskobisinin incelenmesidir (Pitt, 2000). Bu nedenle de besiyerleri türlerin teşhisinde son derece büyük öneme sahiptir.

Besiyerlerindeki değişikliklere fungusların farklı tepkiler verdiği ve bu tepkilerin morfolojik olarak ortaya çıktığı bilinmektedir. Okuda ve arkadaşları, *Penicillium* ve *Aspergillus*' da inkübasyon ve besiyeri ortamlarındaki farklılığın morfolojik karakterler üzerine olan etkilerini araştırmışlardır. Çalışmalarında besiyeri kalınlığının, inkübasyon koşullarının, besiyeri değişikliğinin türler üzerinde morfolojik olarak önemli etkiye sahip olduğu sonucuna varmışlardır (Samson ve Pitt, 2000).

Yaptığımız çalışmada, elde ettiğimiz morfolojik farklılıklar şimdiye kadar bu konuyla ilgili yapılan çalışmaları destekler niteliktedir. Bu çalışmalarda elde edilen sonuçlara ilave olarak 37 °C' de üremesi gözlenmeyen türlerde görülen gelişim, elde ettiğimiz besiyerlerini bu açıdan önemli kılmaktadır. Çünkü fungus teşhisinde sıcaklık hem *Aspergillus* hem de *Penicillium* teşhis anahtarlarında, türlerin ayrımında önemli

bir kriterdir. Bu nedenle öneme sahip olan bu besiyerleri ile ilgili daha fazla çalışma ile ayrıntılı bilgi elde edilebilir.

Bu bulguların daha detaylı araştırmalar ile *Aspergillus* ve *Penicillium* türlerinin teşhisinde yararlanılan bilgilere ilave bilgiler olabileceğini önermekteyiz.

KAYNAKLAR

ATLAS RM. Handbook of Microbiological Media. 3rd Ed, 1960 pp. CRC Press, 2004

BODUR H, OZORAN K, ÇOLPAN A, BALABAN N, TABAK Y, KULACOĞLU S. Arthritis and osteomyelitis due to *Aspergillus fumigatus*: a 17 years old boy with chronic granulomatous disease. Annals of Microbiology and Antimicrobials 2:2, 2003

GRIFFIN DH. Fungal Physiology. 2rd Ed 425 pp. Wiley science paperback series, 1994

HALKMAN A K. Mikrobiyolojide Kullanılan Besiyerleri. 72 syf. Ankara, 1995

FISHER G, DOTT W. Quality assurance and good laboratory practice in the mycological laboratory – compilation of basic techniques for the identification of fungi, Int. J. Hyg. Health 205, 433-442, 2002

FRISVAD JC. Modifications on media based creatine for use in *Penicillium* and *Aspergillus* taxonomy. Letters in Applied Microbiology 16, 154-157, 1992

KLICH MA. Identification of common *Aspergillus* Species. 122 pp. The Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, Netherlands, 2002

MARTIN JP. Use of acid, Rose Bengal and Streptomycin in the plate method for estimating soil fungi. Soil Sci 69: 215–232, 1950

MUTLU G, İMİR T, CENGİZ TA, USTAÇELEBİ Ş, TÜMBAY E, METE Ö. Mantarların yapıları, üreme özellikleri ve sınıflandırılması (Ş. USTAÇELEBİ editör). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Güneş Kitabevi, Ankara, 1015-1021,1999

PALACIOS-CABRARE H, TANIWAKI MT, HASHIMOTO JM, MENEZES HC de. Growth of *Aspergillus ochraceus*, *A. carbonarius* and *A. niger* on culture media at different water activities and temperatures. *Brazilian Jurnal of Microbiology* 36:24-28, 2005

PITT JI. A Laboratory Guide to Common *Penicillium* Species. 3rd Ed, 197 pp, Food Science, Australia, 2000

PITT JI. The Genus *Penicillium* and its Teleomorfic States *Eupenicillium* and *Talaromyces*. 634 pp. Academic Pres. Inc. London, 1979

RAPER KB, FENNEL DI. The Genus *Aspergillus*. 686 pp. The Williams & Wilkins Comp. Baltimore-USA, 1965

RAPER KB, THOM C. A Manual of the Penicillia. 875 pp. The Williams & Wilkins Comp. Baltimore-USA, 1949

SAMSON RA, PITT JI. Integration of Modern Taxonomic Methods for *Penicillium* and *Aspergillus* Classification. 509 pp. Harwood academic publishers, 2000

SEVERO LC, GEYER GR, PORTO N da S, WAGNER MB, LONDERO AT. Pulmonary Aspergillus niger intracavitary colonization. Report of 23 cases and a review of the literature. Rev Iberoam Micol 14: 104-110, 1997

SIME AD, ABBOTT LL, ABBOTT SP. Mounting medium for use in indoor air quality spor-trap analyses. Mycologia 94: 1087–1088, 2002

http://www.bcrc.firdi.org.tw/fungi/showImage.jsp?id=IM200802270014, 2009

http://www.bcrc.firdi.org.tw/fungi/showImage.jsp?id=IM200802260025, 2009

http://classes.plantpath.wsu.edu/plp521/Word%20documents/421media.doc, 2009

http://en.wikipedia.org/wiki/Agar, 2009

http://en.wikipedia.org/wiki/Potassium_nitrate, 2009

http://en.wikipedia.org/wiki/Trace_element, 2009

http://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Penicillium, 2009

http://www.krctraining.com/CRA%20Definitions/penicillin.htm, 2009

http://www.orlab.net/mikrobiyoloji/942300030.pdf, 2009

ÖZGEÇMİŞ

29. 11. 1985 yılında İstanbul' da doğdum. İlköğrenimimi Güngör Tekiner İlk Öğretim Okulunda 1999 yılında, Lise öğrenimimi K. Çekmece Marmara Lisesinde 2002 yılında tamamladım. Lisans öğrenimimi Trakya Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde 2007 yılında tamamladım. Yüksek Lisans Öğrenimime 2007 yılı güz döneminde Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Hücre Biyolojisi bölümünde başladım ve öğrenimime hala devam etmekteyim.