



Bazı Fungal Türlerin Standart ve İçeriği Değiştirilmiş Besiyerlerindeki Mikroskopik ve Makroskopik Yapılarının İncelenmesi

Nurcan BAHADIR¹, Ahmet ASAN², Burhan ŞEN²

¹Deniz Köşkleri Mh. İştak Sk. No:4 D:5 Avcılar/İSTANBUL

²Trakya Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Balkan Yerleşkesi, 22030 EDİRNE

Özet

Bu çalışmada 6 mikrofungus türü (*Penicillium janthinellum*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium aurantiogriseum*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus wentii*, *Aspergillus terreus*) kullanılmış, standart 4 besiyeri (CYA, RB, MEA ve PDA) ortamına ve bunların içeriği değiştirilmiş şekillerine uygun yöntemle ekimleri yapılarak, kültürlerdeki içerik değişikliğinin türlerin makroskopik ya da mikroskopik yapılarında fark oluşturup oluşturmadığı incelenmiştir. Bu amaçla kullanılan 6 mikrofungus türünün, 20 mL besiyeri içeren petri plaklarına, 10⁶ CFU/ mL spor solüsyonundan steril pipet yardımıyla 1 damla olacak şekilde ekimleri yapılmış, 25 °C ve 37 °C' de 7 gün inkübasyona bırakılmıştır. 7 günlük inkübasyon sonunda oluşan kolonilerin çapları ölçülerek, makroskopik ve mikroskopik görünümünün 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 mikroskopik görünümünde özellikle RB – 2 besiyerinde anormal yapılu fiyalid ve CYA – 5 besiyerinde ise çatal şeklinde vesikül yapısı gözlenmiştir. Yine aynı şekilde *P. chrysogenum*' un standart RB' de 37 °C' de gelişimi görülmezken, RB – 2 ve RB – 3 besiyerinde gelişimi görülmüştür. CYA – 4 besiyerinin çalıştığımız tüm türler incelendiğinde sporulasyon üzerinde negatif etkisi gözlenmiştir. RB – 1 besiyerinin gelişim ve özellikle de sporulasyon üzerinde son derece olumlu etkisi olduğu görülmüştür. Ayrıca bu besiyeri ortamının 6 mikrofungus türünde de gelişimi pozitif yönde etkilediği 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 olmasının yanısıra, RB – 2 ve RB-3 besiyeri de türlerin gelişimi aynı olumsuz etkiye sahip olduğu görülmüştür. Dolayısıyla çalışmanın sonunda modifiye edilmiş besiyerleri ile türlerin özellikle makroskopik yapılarında farklılık tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Mikrofungus, Besiyeri, Sporulasyon.

Investigations Of Microscopic And Macroscopic Structure Of Some Fungal Species in Standard And Modified Media

Abstract

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 (CYA, RB, MEA and PDA) and modified media in order to see whether content changes would have an effect on micro- and macroscopic structures of microfungi.



1 drop sample taken from 10^6 CFU/ mL spore solutions of 6 microfungi species were inoculated in Petri dishes containing 20 mL of media, the plates were incubated at 25 °C and 37 °C for 7 days. At the end of the incubation period of 7 days, the colonial diameters of each species of in the all media measured and photographed their micro- and macroscopic appearances of the colonies. *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 at 37 °C 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. Similarly, RB – 1 media had an increased positive effect on growth and especially on sporulation. When we consider all the microfungi 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 RB – 2 and RB-3 to be poor for growth. In conclusion, macroscopic structural modifications were especially observed in microfungi species when inoculated in modified media.

Key words: Microfungi, Culture Media, Sporulation.

GİRİŞ

Mikroorganizmaları laboratuvar ortamında üretmek ve incelemek için kullanılan besiyeri içeriğinin hem mikrofunguslar hem de diğer mikroorganizmalar üzerinde son derece önemli etkisi vardır. Besiyeri bileşimindeki eser elementlerin miktarındaki ufak değişikliklerin, mikrofunguslar üzerinde gözle görülür bir etkiye sahip olduğu bilinmektedir. Bunun dışında her mikroorganizmada olduğu gibi mikrofunguslar da gelişim ortamındaki farklı maddelere karşı tepki vermektedir. Besiyerleri mikroorganizmaların teşhisinde büyük öneme sahiptir. Teşhislerin doğru, güvenilir yapılması besiyerinin içeriğine ve inkübasyon şartlarına bağlıdır. Besiyerlerindeki gelişim davranışları, koloni morfolojisi, pigment oluşumu, petri kutusunda alt ve üstten görünüşleri, spor ve hifsel yapılarının mikroskopik incelenmesi gibi parametrelere göre tanımlama kriterleri dikkate alınarak teşhisleri gerçekleştirilir. *Aspergillus* ve *Penicillium* teşhisiyle ilişkili olarak

her bilim adamı çeşitli faktörlerin koloni ve mikroskopik karakterler üzerine etkili olduğunu bilir. Raper ve Thom' dan beri taksonomik çalışmalarda standart besiyeri ortamları araştırılmıştır. Diğer taksonomistler daha sonra kendi çalışmalarında çeşitli kullanışlı besiyeri ortamları keşfetmişlerdir. Birçok taksonomist kültürlerdeki ayrılığın türlerdeki mikromorfolojik karakterlerde fark oluşturduğunu kabul etmektedir. Besiyerlerindeki farklılığın etkileri daha öncede çalışılmış ve günümüzde teşhiste kolaylık sağlamak adına hala en uygun besiyeri ortamları için çalışmalar devam etmektedir (Samson ve Pitt, 2000). Frisvad (1992) yaptığı bir çalışmada, *Aspergillus* ve *Penicillium* taksonomisinde kullanmak üzere, 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*' da inkübasyon ve besiyerinin 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).

Bu çalışmada 6 mikrofungus türü, birbirinden farklı standart besiyerlerine ve bu besiyerlerinden köken alınarak ve içeriği değiştirilerek üretilmiş olan modifiye besiyerlerinde geliştirilerek, standart besiyerlerindeki durumlarına göre değişip değişmediğini gözlemlenerek ve olası meydana gelebilecek farklılıkları tespit etmek amacıyla yapılmıştır. Aynı zamanda özellikle hem *Aspergillus* hem de *Penicillium* teşhislerinde esas besiyeri ortamı olan Czapek Yeast Autolysate Agar (CYA) besiyerine (Pitt, 1979 ve 2000) önem verilmiştir. Besiyeri ortamı içeriğindeki değişikliklerin bu türlerin makroskopik ya da mikroskopik yapılarını etkileyip etkilemediği, eklenen maddelerin mikrofunguslar üzerindeki olumlu ya da olumsuz etkisi, bu etkilerin teşhiste ayırt edici bir özellik olarak kullanılabilir olup olmadığı ile ilgili sonuçlar elde etmek de amaçlarımız arasında yer almaktadır.

MATERYAL VE METOT

a) Materyal: Bu çalışmada araştırma materyali olarak kullanılan mikrofunguslar Trakya Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji Araştırma Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir. Bunlar; *Aspergillus niger* TIEGH, *Aspergillus wentii* WEHMER, *Aspergillus terreus* THOM, *Penicillium chrysogenum* THOM, *Penicillium janthinellum* BOURGE, *Penicillium aurantiogriseum* DIERCKX olmak üzere 6 farklı türdür.

a1) Kullanılan Standart Besiyerleri:

Czapek Yeast Autolysate Agar (CYA), Malt Ekstrakt Agar (MEA), Patates Dekstroz Agar (=PDA, Raper ve Fennell, 1965), Rose Bengal Streptomycin Agar (=RB; Madan ve Ark., 1982 ; Martin, 1950) çalışılmıştır.

a2) Kullanılan Modifiye Edilmiş Besiyerleri ve Kimyasal Madde Karışımları:

Czapek Yeast Autolysate Agar (CYA)'dan, CYA besiyerini hazırlarken kullanılan ve Czapek Concanrate (CC) adı verilen çözeltilde bazı değişiklikler yapılarak hazırlanan (Tablo 1); CYA-1, CYA-2, CYA-3, CYA-4 ve CYA-5 modifiye besiyerlerinin yanı sıra, RB Agar'dan köken alınarak hazırlanan RB-1, RB-2 ve RB-3 besiyerleri, PDA'dan köken alınarak hazırlanan PDA-1 ve PDA-2 besiyerleri ve son olarak MEA'dan köken alınarak hazırlanan MEA-1 besiyerleri kullanılmıştır (Tablo 2).

b) Metot : Hazırlanan besiyerleri önce cam erlenmayerlerde benmari usulü çözüldürüldü 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 85 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.

b1) Standart ve Modifiye Besiyerlerine

Ekim ve Kültürasyon: Yatık agardaki (PDA) kültür örneği ile çalışırken öncelikli olarak spor süspansiyonu hazırlanmıştır. İlk önce 9/1000'lük serum fizyolojik (1000 mL distile su, 9 g NaCl) hazırlanmış ve otoklavda 1 atm basınçta 15 dk. steril edilmiştir. Hazırlanan bu çözelti steril pipet yardımıyla 5 mL lik hacimlerde yatık agarda bulunan kültüre bek alevi yanında ilave edilmiş



Tablo 1. Standart ve modifiye besiyerleri hazırlanmasında kullanılan, standart CC ve modifiye CC (CC-1,CC-2,CC-3 ve CC-4) çözeltilerinin kimyasal madde içerikleri

Çeşitli CC çözeltileri kimyasal bileşenleri	Standart CC çözeltisi	Modifiye CC Çözeltisi çeşitleri			
		CC-1	CC-2	CC-3	CC-4
NaNO ₃ (30 g)	+	-	-	+	+
KCl (5 g)	+	+	+	+	+
MgSO ₄ .7H ₂ O (5 g)	+	+	+	+	+
FeSO ₄ .7H ₂ O (0.1 g)	+	+	+	+	+
ZnSO ₄ .7H ₂ O (0.1 g)	+	+	+	-	+
CuSO ₄ .7H ₂ O (0.05 g)	+	+	+	+	-
Distile Su 100 mL	+	+	+	+	+
KNO ₃ (30 g)	-	+	-	-	-
KNO ₃ (15 g)	-	-	+	-	-
NaNO ₃ (15 g)	-	-	+	-	-

Tablo 2. Kullanılan standart ve modifiye edilmiş besiyerleri ve hazırlanış yöntemleri

Standart ve Modifiye Besiyeri	Modifiye Besiyeri Hazırlanırken ilave edilen ve/veya eksiltelen maddeler
CYA	Standart CYA besiyerine standart CC çözeltisi ilave edilerek hazırlanmıştır
CYA-1	CC-1 çözeltisi içerir (CC yerine)
CYA-2	CC-2 çözeltisi içerir (CC yerine)
CYA-3	CC-3 çözeltisi içerir (CC yerine)
CYA-4	CC-4 çözeltisi içerir (CC yerine)
CYA-5	CC çözeltisi içerir. Standart içerikten sakkaroz çıkarılmış, ancak yerine aynı oranda glukoz ilave edilmiştir
RB	Mevcut standart içerik
RB-1	MgSO ₄ .7H ₂ O yerine, % 1 oranında standart CC çözeltisi ilave edilmiştir
RB-2	Mevcut standart içeriğe % 0.005 (50 ppm) oranında ZnSO ₄ .7H ₂ O ilave edilmiştir.
RB-3	Mevcut standart içerikteki glukoz yerine, aynı oranda sakkaroz ilave edilmiştir
PDA	Mevcut standart içerik
PDA-1	Mevcut standart içeriğe, % 0.05 oranında MgSO ₄ .7H ₂ O ilave edilmiştir
PDA-2	Mevcut standart içeriğe, % 0.1 oranında K ₂ HPO ₄ ilave edilmiştir
MEA	Mevcut standart içerik (Klich, 2002 ve Pitt, 2000)
MEA-1	Mevcut standart içeriğe %10 oranında Gliserol ilave edilmiştir



ve öze yardımıyla kültür ile serum fizyolojinin birbirine iyice karışması sağlanmıştır. Ardından serum fizyolojik ve spor karışımı steril boş tüplere aktarıldı ve elde edilen karışımın homojen olması için vorteks ile 5 dk. muamele edilmiştir. Homojen spor karışımı thoma lamında sayılmış ve mL'inde ne kadar spor olduğu tespit edilmiştir. Daha sonra bu spor süspansiyonu 10^6 CFU/mL olacak şekilde sulandırma yapılmış ve 10^6 CFU/mL spor içeren süspansiyondan 1 mL'lik pipetle, deneyde kullanılan her bir besiyerinin merkezine bir damla olacak şekilde ekim yapılmıştır (Palacios-Cabrera ve Ark., 2005). Tüm türler için her bir besiyerleri açısından 5 paralel ekim olacak şekilde ekim işlemi gerçekleştirilmiştir. Daha sonra kültürler $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ve $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ' de 7 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun yapıldığı günü takip eden 7. gün sonunda oluşan kolonilerin çapları ölçülmüş, makroskopik ve mikroskopik görünümünün fotoğrafı çekilmiştir.

b2) Preparasyon: 7. günün sonunda gelişen mikrofungus kültürlerinin mikroskopta incelenip fotoğraflarının çekilebilmesi için preparasyonları yapıldı. Preparasyon için, Lakto Pamuk Mavis Çözültisi (Sime ve Ark., 2002), mikroskopik incelemeler için selobant preparatlarda inceleme ortamı olarak kullanılmıştır.

BULGULAR

Bu çalışmada kullanılan 3 *Penicillium* ve 3 *Aspergillus* türü, birbirinden farklı 4 standart besiyeri ve 11 farklı modifiye besiyeri (bu standart besiyerinden köken alınarak hazırlanan) olmak üzere toplam 15 farklı besiyerine ekilmiştir.

Bu çalışmada kullanılan mikrofunguslar petri plaklarındaki koloni çapları açısından değerlendirildiğinde, RB-1 besiyerinin, deneylerde kullanılan türler arasında, %15 ila

%35 oranları arasında koloni çapını arttırıcı etki gösterirken, MEA-1 besiyerinde bu oran %29 ila %123 oranları arasında tespit edilmiştir (Tablo 3). Ayrıca spor oluşumu açısından incelendiğinde, özellikle RB-1 besiyeri sporulasyonu teşvik etmesi bakımından çok dikkat çekicidir (Tablo 4).

A. wentii açısından tespit edilen önemli bir sonuç ise; CYA-3, CYA-4, CYA-5 ve RB-2 besiyerlerinde mikrokoloni boyutlarında olsa da üreme gözlemimizdir (Bu tür CYA $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ' de gelişim göstermemektedir; Klich, 2002). Şekil 1'de bu türün CYA-5 besiyerinde $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Şekil 1A) ve $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ' de (Şekil 1B) petri plağında oluşturduğu koloni görüntüsü ile $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de inkübe edilen CYA-5 besiyerinden yapılan preparasyonda tespit edilen çatallı vesikül (aynı konidyofora bağlı 2 vesikül oluşumu, Şekil 1C) mikroskopik görüntüsü de belirtilmiştir.

Deney esnasında $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ' de inkübe edilen besiyerlerinde koloni oluşumu gözlenmeyen *P. chrysogenum* türü, RB-2 besiyerinde 8-10 mm, RB-3 besiyerinde ise 7-9 mm çapında küçük ölçekli koloni oluşturmuştur.

Deney esnasında $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ' de inkübe edilen besiyerlerinde *A. niger* türünün oluşturduğu kolonilerin büyüklüğü, Tablo 3'te belirtilen $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'deki inkübasyon değerleriyle hemen hemen aynı olduğu tespit edilmiştir. *A. terreus* türü için de aynı durum söz konusudur.

TARTIŞMA

Bu çalışmada 6 mikrofungus türünün (*P. janthinellum*, *P. chrysogenum*, *P. aurantio-griseum*, *A. niger*, *A. wentii*, *A. terreus*) standart ve içeriği değiştirilmiş besiyerlerindeki makroskopik ve mikroskopik yapıları incelenmiş, standart besiyeri ortamlarındaki morfolojileriyle karşılaştırılarak değerlendirilmeleri yapılmıştır.



Tablo 3. Kullanılan mikrofungus türlerinin 25 °C ve 7 gün inkübasyondan sonra petri plaklarında ölçülen koloni çaplarını (mm) ve bu ölçülerin standart besiyerlerindeki değerlerden sapma yüzdeleri

Standart ve Modifiye Besiyeri	*Kullanılan Mikrofungus türleri					
	¹ <i>P. ja</i>	² <i>P. ch</i>	³ <i>P. au</i>	⁴ <i>A. ni</i>	⁵ <i>A. tr</i>	⁶ <i>A. wn</i>
CYA	*0.00 (**48)	0.00 (36)	0.00 (37)	0.00 (83)	0.00 (51)	0.00 (61)
CYA-1	2.08 (49)	8.33 (39)	8.11 (40)	0.00 (83)	5.88 (54)	-3.28 (59)
CYA-2	-6.25 (45)	2.78 (37)	24.32 (46)	0.00 (83)	25.49 (64)	-3.28 (59)
CYA-3	-2.08 (47)	5.56 (38)	-2.70 (36)	0.00 (83)	9.80 (56)	3.28 (63)
CYA-4	0.00 (48)	-2.78 (35)	5.41 (39)	0.00 (83)	17.65 (60)	0.00 (61)
CYA-5	-6.25 (45)	8.33 (39)	5.41 (39)	0.00 (83)	3.92 (53)	-3.28 (59)
RB	0.00 (32)	0.00 (33)	0.00 (26)	0.00 (41)	0.00 (36)	0.00 (42)
RB-1	34.38 (43)	15.15 (38)	50.00 (39)	-26.83 (30)	16.67 (42)	26.19 (53)
RB-2	-18.75 (26)	-21.21 (26)	-30.77 (18)	-14.63 (35)	-13.89 (31)	-11.90 (37)
RB-3	-9.38 (29)	-9.09 (30)	-15.38 (22)	-14.63 (35)	-11.11 (32)	-9.52 (38)
PDA	0.00 (34)	0.00 (33)	0.00 (33)	0.00 (70)	0.00 (35)	0.00 (55)
PDA-1	17.65 (40)	-3.03 (32)	6.06 (35)	17.14 (82)	-2.86 (34)	-1.82 (54)
PDA-2	17.65 (40)	0.00 (33)	6.06 (35)	15.71 (81)	-11.43 (31)	-9.09 (50)
MEA	0.00 (41)	0.00 (32)	0.00 (33)	0.00 (64)	0.00 (35)	0.00 (56)
MEA-1	34.15 (55)	50.00 (48)	66.67 (55)	29.69 (83)	122.86 (78)	51.79 (85)

¹*P. janthinellum*; ²*P. chrysogenum*; ³*P. aurantiogriseum*; ⁴*A. niger*; ⁵*A. terreus*; ⁶*A. wentii*

(*) : Her bir tablo hücresindeki ilk sayısal değer, ilgili türün ilgili besiyerindeki koloni çapının o türün standart besiyerindeki koloni çapına oranıyla elde edilen yüzde (%) değeridir. Yüzde değerinin (+) olması ilgili besiyerinde ölçülen mikrofungus koloni çapının standart besiyerinde ölçülen koloni çapından, tabloda yazan sayısal değer oranında fazla gelişmiş olduğu anlamına gelir. Yüzde değerinin (-) olması ise ilgili besiyerinde ölçülen mikrofungus koloni çapının, standart besiyerinde ölçülen koloni çapından, o yüzdelik oranında küçük olduğu anlamına gelir. Bu nedenle tablonun 1. , 7., 11. ve 14. Satırlarındaki besiyerleri standart besiyerleri oldukları için oluşan koloni çaplarındaki % değişim, %0.00'dır.

(**) : Parantez içindeki sayısal değerler koloni çaplarını (mm) ifade eder.

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).

Bu çalışmamızda incelediğimiz tüm türler ele alındığında MEA- 1 ve RB – 1'in gelişim açısından oldukça teşvik edici besiyeri ortamları olduğu görülmüştür. Özellikle RB – 1 besiyerinde gelişimin yanında sporulasyon oluşumu da diğer RB besiyerlerinden oldukça fazla olduğu görüldü (Tablo 3 ve 4). Bunun nedeni besiyeri içine ilave ettiğimiz CC' dir. CC, CYA besiyerinde sporulasyonu teşvik edici bir karışımdır (Klich, 2002).



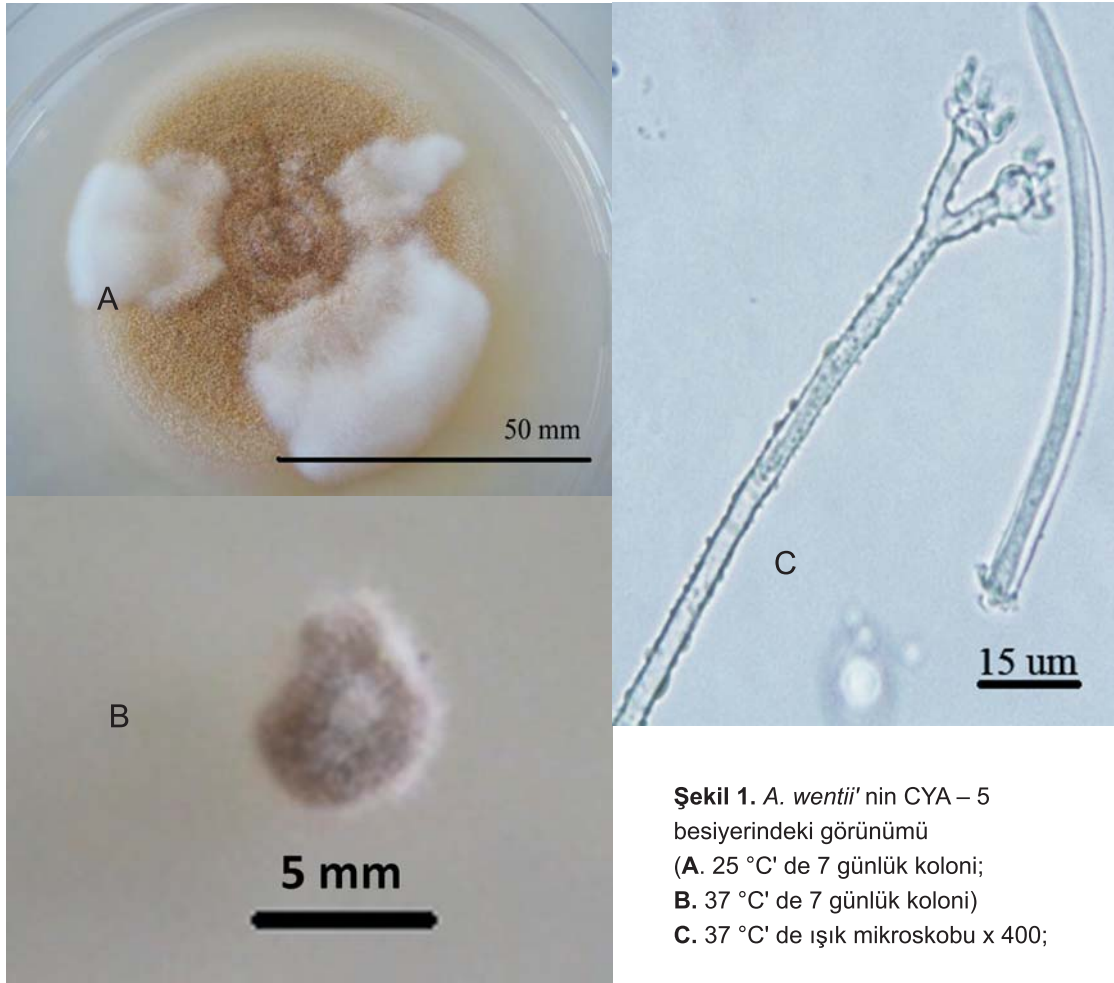
Tablo 4. Kullanılan mikrofungus türlerinin 25 °C ve 37 °C'de ve 7 gün inkübasyondan sonraki standart ve modifiye besiyeleri içeren petri plaklarında gelişen mikrofungus kolonilerinde gözlenen morfolojik değişimler

Standart ve Modifiye Besiyeri	Kullanılan Mikrofungus türleri					
	¹ <i>P. ja</i>	² <i>P. ch</i>	³ <i>P. au</i>	⁴ <i>A. ni</i>	⁵ <i>A. tr</i>	⁶ <i>A. wn</i>
CYA-3	Sporulasyon negatif	Sporulasyon negatif	Sporulasyon negatif	Fark Yok	Fark Yok	37 °C'de üreme mevcut
CYA-4	Sporulasyon ve pigmentasyon 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	Pigmentasyon negatif, Kısmi sporulasyon mevcut	Fark Yok	Fark Yok	Fark Yok	Fark Yok	Gelişim az, 37 °C'de üreme mevcut
MEA-1	Gelişim Fazla	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, 37 °C'de üreme mevcut	Gelişim az	Gelişim az	Gelişim az	Gelişim az, 37 °C'de üreme mevcut
RB-3	Fark Yok	Gelişim az, 37 °C'de üreme mevcut	Fark Yok	Fark Yok	Fark Yok	Fark Yok

Özellikle küf mantarlarının laboratuarlarda üretilmeleri sırasında misel formunu baskılayan, spor oluşumunu arttıran koşulların sağlanması ile tanı kolaylaşır (Mutlu ve Ark., 1999).

İncelediğimiz *Penicillium* türlerinin CYA – 4 besiyerinde spor oluşturmadığı, *Aspergillus* türlerinin ise spor oluşumunda azalma olduğu görülmüştür ancak çalışmamızda kullanılan bu 3 *Penicillium* türü CYA besiyerinde kuvvetli spor oluşturan türlerdir (Pitt, 2000). Bu besiyeri hazırlanırken CC - 4 konsantresine CuSO₄ ilave edilmemiştir (Tablo 1 ve 2). Cu⁺⁺ 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 *A. niger* bu besiyerinde sporulasyon açısından çok fazla etkilenmemiştir. Bu da *A. niger*'in kullanılan türlere göre ekolojik toleransının daha geniş olduğunu gösterir. Fakat teşhis yapılırken spor oluşumunun gözlenmemesi istenmeyen bir durumdur.



Şekil 1. *A. wentii*'nin CYA – 5 besiyerindeki görünümü
 (A. 25 °C' de 7 günlük koloni;
 B. 37 °C' de 7 günlük koloni)
 C. 37 °C' de ışık mikroskobu x 400;

KAYNAKLAR

- Frisvad J.C., *Modifications on media based creatine for use in Penicillium and Aspergillus taxonomy*. Letters in Applied Microbiology 16, 154-157, (1992).
- Klich M.A., *Identification of common Aspergillus Species*. 122 pp. The Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, Netherlands, (2002).
- Madan P., Lamba L.C., Aneja K.R., *The most suitable medium for trapping fungi from air*. Science as culture, 48: 77-78, (1982).
- Martin J.P., *Use of acid, Rose Bengal and Streptomycin in the plate method for estimating soil fungi*. Soil Sci 69: 215-232, (1950).
- Mutlu G., İmir T., Cengiz T.A., Ustaçelebi 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 M.T., Hashimoto J.M., Menezes H.C. de. *Growth of Aspergillus ochraceus, A. carbonarius and A. niger on culture media at different water activities and temperatures*. Brazilian Journal of Microbiology 36:24-28, (2005).
- Pitt J.I., *A Laboratory Guide to Common Penicillium Species*. 3rd Ed, 197 pp, Food Science, Australia, (2000).
- Pitt J.I., *The Genus Penicillium and its Teleomorphic States Eupenicillium and Talaromyces*. 634 pp. Academic Pres. Inc. London, (1979).
- Raper K.B., Fennel D.I., *The Genus Aspergillus*. 686 pp. The Williams & Wilkins Comp. Baltimore-USA, (1965).
- Samson R.A., Pitt J.I., *Integration of Modern Taxonomic Methods for Penicillium and Aspergillus Classification*. 509 pp. Harwood academic publishers, (2000).
- Sime A.D., Abbott L.L., Abbott S.P., *Mounting medium for use in indoor air quality spor-trap analyses.*, Mycologia 94: 1087-1088, (2002).