

**TOKAT İLİ KAZGÖLÜ CİVARINDAKİ  
TOPRAKLARIN TERMOFİL VE TERMOTOLERANT  
MİKROFUNGUS FLORASI ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA**

Ibrahim TÜRKEKUL

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**1995 - TOKAT**

GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TOKAT İLİ KAZGÖLÜ ÇÍVARINDAKI TOPRAKLARIN TERMOFİL VE  
TERMOTOLERANT MİKROFUNGUS FLORASI ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA**

Ibrahim TÜRKEKUL

YÜKSEK LİSANS TEZİ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Bu tez, 29 / 08 /1995 tarihinde aşağıda belirtilen jüri tarafından Oýbirliği ile kabul edilmiştir.

Ünvanı, Adı ve Soyadı

İmza

Başkan : Prof. Dr. Zekeriya ALTUNER

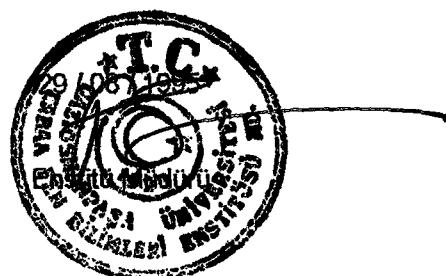
Üye : Prof. Dr. Ahmet ÇITIR

Üye : Doç. Dr. Alper DURAK



ONAY :

Bu tez, 29 / 08 / 1995 tarih ve 1511 sayılı Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirtilen jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.



**ÖZET****TOKAT İLİ KAZGÖLÜ CİVARINDAKİ TOPRAKLARIN TERMOFİL VE  
TERMOTOLERANT MİKROFUNGUS FLORASI ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA****İbrahim TÜRKEKUL**

Gaziosmanpaşa Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi  
1995, 60 sayfa

Danışman : Prof. Dr. Zekeriya ALTUNER

Jüri : Prof. Dr. Zekeriya ALTUNER  
: Prof. Dr. Ahmet ÇITIR  
: Doç. Dr. Alper DURAK

Bu çalışmada Tokat İli Kazgölü civarındaki toprakların termofil ve termotolerant mikrofungus florası araştırılmıştır. Araştırma sahasında iki farklı bölgedeki istasyondan toplam onbeş toprak örneğinden termofil ve termotolerant mikrofunguslara ait on takson ve üç steril fungus izole edilmiştir. On taksonun dört tanesi termotolerant, altı tanesi ise termofil fungustur. Araştırmada "Toprağı Sulandırma" ve "Toprağı Doğrudan Ekim" metodu ile Pepton-Dekstroz Agar ve Emerson 'un YpSs agar besiyeri kullanılmıştır. İnkubasyon sıcaklıklar 42, 47 ve 52 °C olarak alınmıştır.

Çalışmada termotolerant olarak *Aspergillus fumigatus*, *Fresineus* (Moniliaceae) *Aspergillus speluneus*. Raper & Fennell (Moniliaceae) *Aspergillus carneus* (V.Tiegh.) Blochwitz (Moniliaceae), *Gliomastix sp*; termofil olarak ise *Thermomyces lanuginosus* Tsiklisky (Moniliaceae) , *Malbranchea sulfurea*. (Miehe) Sipler Carmichael (Dematiaceae), *Humicola grisea* Traaen var. *thermoidea* Conney & Emerson (Dematiaceae), *Humicola insolens* Cooney &

Emerson (Dematiaceae), *Mycelopthora thermophila* (Apinis) van Oorschot (Moniliaceae) *Scytalidium thermophilum* (Cooney & Emerson) Austwick (Moniliaceae), taksonları bulunmuştur.

Bu taksonlar arasında *Aspergillus fumigatus* Fresineus (Moniliaceae) en yüksek frekansa sahiptir.

Elde edilen on tür ve varyete ile üç steril fungus, topraklarda termofil ve termotolerant mikrofunguslar için uygun bir ortam bulunduğu ve bu substratların oldukça zengin bir floraya sahip olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler : Tokat, Kazgölü, Mikrofungus, Termofil, Termotolerand.

## ABSTRACT

### A STUDY ON THERMOPHILIC AND THERMOTOLERANT FLORA OF MICROFUNGI IN SOILS AROUND KAZGÖLÜ-TOKAT

Ibrahim TÜRKEKUL

Gaziosmanpaşa University  
Graduate School of Natural and Applied Science  
Department of Biology Science

Master Thesis

1995, 60 page

Supervisor : Prof. Dr. Zekeriya ALTUNER

Jury : Prof. Dr. Zekeriya ALTUNER  
: Prof. Dr. Ahmet ÇITIR  
: Doç. Dr. Alper DURAK

In this study, thermophilic and thermotolerant microfungi flora of the soils around Kazgölü - Tokat were investigated. Ten taxa and three steril fungi were isolated from totally 15 soil samples collected from different stations of the two different region. Four of the ten taxa were thermotolerant and others were thermophilic fungi "Soil Dilution Plate" and "Soil Plate" methods and Peptone- Dekstros Agar Emerson's YpSs agar media were used for isolation and incubation temperatures were chosen as 42, 47 and 52 °C .

*Aspergillus fumigatus*, Fresineus (Moniliaceae) *Aspergillus splunaeus*, Raper & Fennell (Moniliaceae) *Aspergillus carneus* (V.Tiegh.) Blochwitz (Moniliaecea), *Gliomastix* sp. were found as thermotolerant and *Thermomyces lanuginosus* Tsiklisky (Moniliaceae) , *Malbranchea sulfurea*. (Miehe) Sipler Carmichael (Dematiaceae), *Humicola grisea* Traaen var. *thermoidea* Conney & Emerson (Dematiaceae), *Humicola insolens* Cooney & Emerson (Dematiaceae), *Mycelopeltora thermophila* (Apinis) van Oorschot (Moniliaceae), *Scytalidium thermophilum* (Cooney & Emerson) Austwick (Moniliaceae) as thermophilic in this study.

Among them , *Aspergillus fumigatus* Fresineus (Moniliaceae )was the most dominant species.

Ten species and varieties and three steril fungi obtained show that the soils have readily provided suitable conditions for thermophilic and thermotolerant microfungi and therefore these substrates have a fairly rich flora of them.

**Key Words :** Tokat, Kazgölü, Microfungi, Thermophilic, Thermotolerand.

**TEŞEKKÜR**

Araştırmamın yapılmasında yakın ilgi ve yardımlarını esirgemeyen hocam Prof. Dr.Sayın Zekeriya ALTUNER 'e ve türlerin tanımlanmasında, verilerin değerlendirilmesinde değerli eleştiri ve önerileri ile yolgösteren hocam Prof. Dr. Sayın İsmet HASENEKOĞLU 'na teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca laboratuvar çalışmalarımı yaptığım Atatürk Üniversitesi K. K. Eğitim Fakültesi Dekanlığına ve Biyoloji Bölümü elamanlarına teşekkürü bir borç bilirim.

Ibrahim TÜRKEKUL

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
<b>Özet</b>	<b>i</b>
<b>Abstract</b>	<b>iii</b>
<b>Teşekkür</b>	<b>v</b>
<b>İçindekiler Listesi</b>	<b>vi</b>
<b>Şekiller Listesi</b>	<b>vii</b>
<b>Çizelgeler Listesi</b>	<b>x</b>
<b>Sırmeler ve Kısalmalar</b>	<b>xi</b>
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
<b>2. LITERATÜR ÖZETİ.....</b>	<b>2</b>
<b>3. MATERİYAL VE METOD.....</b>	<b>8</b>
<b>3.1 Araştırma İçin Seçilen İstasyonlar.....</b>	<b>8</b>
<b>3.2 Bölgenin İklim Özellikleri.....</b>	<b>9</b>
<b>3.3 Araziden Toprak Örneklerinin Alınması.....</b>	<b>10</b>
<b>3.4 Örneklerin İşlenmesi.....</b>	<b>10</b>
<b>3.4.1 İzolasyon Besiyeri ve İnkubasyon Sıcaklıkları.....</b>	<b>10</b>
<b>3.4.2 Araştırmada Kullanılan Besiyerlerinin Hazırlanması.....</b>	<b>11</b>
<b>3.4.3 Örneklerin Ekimi.....</b>	<b>12</b>
<b>3.4.4 Mikrofungusların Ekimi.....</b>	<b>13</b>
<b>3.4.5 İzole Edilen Mikrofungusların Tanımlanması .....</b>	<b>17</b>
<b>3.4.6 Mikrofungusların Sıcaklık Sınırlarının Belirlenmesi.....</b>	<b>19</b>
<b>4. SONUÇLAR.....</b>	<b>20</b>
<b>5. TARTIŞMA.....</b>	<b>48</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>54</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>59</b>

## Şekiller Listesi

<b>Sekiller</b>	<b>Sahife</b>
<b>3.1 Örnek Alma İstasyonları.....</b>	<b>8</b>
<b>4.1 42 °C 'de Dilüsyon ve Doğrudan Ekimlerden Elde Edilen İzolatlar.....</b>	<b>17</b>
<b>4.2 42 °C 'de Dogrudan Ekimlerde 7 Günlük İnkubasyon Peryodu Sonucunda Gelişen Koloniler.....</b>	<b>18</b>
<b>4.3 42 C 'de Dilüsyon Ekimlerde 7 Günlük İnkubasyon Peryodu Sonucunda Gelişen Koloniler.....</b>	<b>18</b>
<b>4.4 47 °C 'de Dilüsyon Ve Doğrudan Ekimlerden Elde Edilen İzolatlar.....</b>	<b>19</b>
<b>4.5 47 °C 'de Dogrudan Ekimlerde 7 Günlük İnkubasyon Peryodu Sonucunda Gelişen Koloniler.....</b>	<b>19</b>
<b>4.6 47 °C 'de Dilüsyon Ekimlerde 7 Günlük İnkubasyon Peryodu Sonucunda Gelişen Koloniler.....</b>	<b>20</b>
<b>4.7 52 °C 'de Dilüsyon ve Doğrudan Ekimlerde Elde Edilen İzolatlar.....</b>	<b>20</b>
<b>4.8 52 °C 'de Dogrudan Ekimlerde 7 Günlük İnkubasyon Peryodu Sonucunda Gelişen Koloniler.....</b>	<b>21</b>
<b>4.9 52 °C 'de Dilüsyon Ekimlerde 7 Günlük İnkubasyon Peryodu Sonucunda Gelişen Koloniler.....</b>	<b>21</b>
<b>4.10 <i>Aspergillus fumigatus</i> Fresineus Genç Konidiyoforlar ve Gelişmekte Olan Fiyalidler, Konidiller, ve Vesikülle .....</b>	<b>28</b>
<b>4.11 MEA Besiyerinde <i>Aspergillus fumigatus</i> Fresineus 'un 5 günlük Kolonisi.....</b>	<b>28</b>
<b>4.12 MEA ve YpSs Agar Besiyerinde <i>Aspergillus fumigatus</i> Fresineus 'un 42, 47 ve 52 °C 'erdeki Gelişme Eğrileri.....</b>	<b>28</b>
<b>4.13 MEA Besiyerinde <i>Aspergillus speluneus</i> Raper &amp; Fennel 'un 7 Günlük Kolonisi....</b>	<b>29</b>
<b>4.14 <i>Aspergillus speluneus</i> Raper &amp; Fennel Konidiyofor, Vezikül, Fiyalid ve Konidiler....</b>	<b>30</b>
<b>4.15 MEA ve YpSs Agar Besiyerinde <i>Aspergillus speluneus</i> Raper &amp; Fennel 'un 42, 47 ve 52 °C 'ki Gelişme Eğrileri.....</b>	<b>30</b>
<b>4.16 <i>Malbranchea sulfurea</i> (Miehe) Sigler &amp; Carmichael a.ve b. Artrakanidilerin Hif Uçları (Oklar, kangal şeklinde kıvrılmış hif uçlarını göstermektedir ).....</b>	<b>32</b>
<b>4.17 MEA Besiyerinde <i>Malbranchea sulfurea</i> ( Miehe ) Sigler &amp; Carmichael 'iGenç Kolonisi .....</b>	<b>32</b>

<b>4.18 MEA ve YpSs Ağar Besiyerinde <i>Malbranchea sulfurea</i> (Miehe) Sigler &amp; Carmichael 'ın 42, 47 ve 52 °C 'deki Gelişme Eğrileri.....</b>	33
<b>4.19 MEA Besiyerinde <i>Gliomastix sp.</i> Günlük Kolonisi .....</b>	34
<b>4.20 <i>Gliomastix sp</i> (Fuckel) a.Konidi Hücreleri b. Konidyojen Hücreler.....</b>	35
<b>4.21 MEA Ve YpSs Agar Besiyerinde <i>Gliomastix sp.</i> (Fuckel) 42, 47 ve 52 °C 'deki Gelişme Eğrileri .....</b>	35
<b>4.22 MEA Besiyerinde <i>Myceliophthora thermophila</i> (Apinis) van. Oorschot 'nın a.GençKolonisib.YaşlanmışKolonisi.....</b>	36
<b>4.23 MEA Besiyerinde <i>Myceliophthora thermophila</i> (Apinis) van. Oorschot 'nın a.Konidi b.Hif, Konidyojen Hücreleri.....</b>	36
<b>4.24 MEA ve YpSs Ağar Besiyerinde <i>Myceliophthora thermophila</i> (Apinis) Oorschot 'nın 42, 47 ve 52 °C 'deki Gelişme Eğrileri.....</b>	37
<b>4.25 MEA Besiyerlerinde <i>Aspergillus cameus</i> ( V. Tiegh.) Blocwitz 'un a. 5 Günlük Genç Kolonisi b.Yaşlanmış Kolonsi.....</b>	38
<b>4.26 <i>Aspergillus cameus</i> ( V. Tiegh.) Blocwitz Fiyalid, Konidiofor, ve Vesiküller.....</b>	38
<b>4.27 MEA ve YpSs Agar Besiyerinde <i>Aergillus cameus</i> ( V. Tiegh.) Blochwitz 42, 47 ve 52 °C'deki Gelişme Eğrileri.....</b>	39
<b>4.28 MEA Besiyerinde <i>Scytalidium thermophilum</i> ( Cooney &amp; Emerson ) Austwick 'un 5 Günlük Kolonisi.....</b>	40
<b>4.29 <i>Scytalidium thermophilum</i> ( Cooney &amp; Emerson ) Austwick Konidiler ve Konidi Zincirleri.....</b>	40
<b>4.30 <i>Scytalidium thermophilum</i> ( Cooney &amp; Emerson ) Austwick a. b. Çeşitli büyütmelerde Konidiler ve Konidi Zincirleri.....</b>	41
<b>4.31 MEA ve YpSs Agar Besiyerinde <i>Scytalidium thermophilum</i> ( Cooney &amp; Emerson ) Austwick 'un 42, 47 ve 52 °C 'deki Gelişme Eğrileri.....</b>	41
<b>4.32 <i>Humicola grisea</i> Traaen var. <i>thermoidea</i> Cooney &amp; Emerson a. ve b. Alleurikonidiler.....</b>	43
<b>4.33 MEA Besiyerinde <i>Humicola grisea</i> Traaen var. <i>thermoidea</i> Coney &amp; Emerson 'nın 6 Günlük Kolonisi.....</b>	43
<b>4.34 MEA ve YpSs Agar Besiyerinde <i>Humicola grisea</i> Traaen var. <i>thermoidea</i> Cooney &amp; Emerson 'un 42, 47 ve 52 °C 'deki Gelişme eğrileri.....</b>	44
<b>4.35 <i>Humicola insolens</i> Cooney &amp; Emerson a. Aleurokonidiler b.Hiflerin Görünümü.....</b>	44
<b>4.36 MEA Besiyerinde <i>Humicola insolens</i> Cooney &amp; Emerson 'un Yaşlanmış Kolonisi.....</b>	45

4.37 MEA ve YpSs Ağar Besiyerindek <i>Humicola insolens</i> Cooney & Emerson 'in 42,47 ve 52 °C 'deki Gelişme Eğrileri.....	45
4.38 MEA Besiyerinde <i>Thermomyces lanuginosus</i> Tsiklinsky 'un 5 Günlük Genç Kolonisi.....	46
4.39 <i>Thermomyces lanuginosus</i> Tsiklinsky a ve b.Çeşitli Büyütmelerde Aleirokonidiler..	47
4.40 MEA ve YpSs Agar Besiyerinde <i>Thermomyces lanuginosus</i> Tsiklinsky 'un 42, 47 ve 52 °C 'deki Gelişme Eğrileri.....	47

## **Çizelgeler Listesi**

<b>Çizelge</b>	<b>Sahife</b>
<b>3.1 Araştırma Bölgesinin 1930-1992 Yılları Arasındaki Ortalama Sıcaklık.....</b>	<b>9</b>
<b>3.2 Araştırma Bölgesinin 1930-1992 Yılları Arasındaki Ortalama Yağış Değerleri .....</b>	<b>9</b>
<b>3.3 Toprağın Kimyası Analizi.....</b>	<b>16</b>
<b>4.1 Dilisyon Ekimlerinde Farklı Besiyerine ve Farklı Derecelerde İzole Edilen Taksonların Koloni Sayıları ve Bunların Toplam Koloni Sayılarına Oranı.....</b>	<b>22</b>
<b>4.2 Dogrudan Ekimlerinde Farklı Besiyerine ve Farklı Derecelerde İzole Edilen Taksonların Koloni Sayıları ve Bunların Toplam Koloni Sayılarına Oranı.....</b>	<b>23</b>
<b>4.3 Kullanılan Besiyeri ve Sıcaklık Derecelerine Göre Farklı İstasyona Ait Topraklardan İzole Edilen Taksonların Koloni Sayılarına Oranı.....</b>	<b>24</b>
<b>4.4 Farklı İnkubasyon Sıcaklıklarında Taksonların Görüldüğü Örnek Sayıları Ve Toplam Örnek Sayılarına Oranları .....</b>	<b>25</b>

### **SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ**

MEA	Malt Extrakt Agar.
PepDA	Pepton Dextroz Agar.
YpSs	Yips Extakt Agar.

## 1. GİRİŞ

Tüm canlıların yaşamları boyunca sıcaklık vazgeçilmez bir role sahiptir. Tabiatla yaşayan canlıların bir kısmı sıcaklık isteklerini kontrol etmenin yollarını bilirlerken, bazı canlılarda vardır ki bunlardan yoksundurlar. Sıcak kanlı hayvanlar ve insanlar yaşamış oldukları çevrenin sıcaklık değişimine karşı değişik mekanizmalar geliştirmiştir. Bununla beraber ilkel yapılı hayvanların büyük çoğunluğu, mikroorganizmalar ve bitkiler alemine dahil edilen canlılar yaşadıkları ortam sıcaklığından çok az bir değişikliğe toleranslıdır.

Çoğu canlılar genelde 10-40 °C sıcaklık aralıklarında yaşarlar. Fakat bu derecenin altında veya üstünde yaşayan canlı grupları da mevcuttur. İşte bu derecelerin altında veya üstünde yaşayabilen canlılar psikofil ve termofil mikroorganizmalar olarak adlandırılırlar.

Sıcaktu yaşamayı sevme özelliği olan termofilizm değişik birçok mikroorganizma gruplarında görülmektedir. Yüksek yapılı bitkiler arasında termofil olarak çok az örnek bulunurken, tallofilerde termofilizm iyi gelişmiş bir özellikleir. 50 °C 'ye kadar sıcaklıklarda yaşayan böcek ve mollusca örnekleri mevcuttur. Bunların yanında Cyanobacteria 'ların 80-85 °C 'de termal su kaynaklarında bol miktarda yaşayan örneklerine rastlanmaktadır. Aynı şekilde denizlerin derin bölgelerinde 120 °C sıcaklıklardaki sularda sülfat ve sülfür indirgeyen litotrof bakteriler ve aynı bölgede 120-150 °C sıcaklara adapte olmuş termofil heterotrof ve litotrof bakterilere rastlamak mümkündür (Brock ve Madigan 1988).

Yurdumuzda mezofil mikrofunguslarla ilgili çok sayıda çalışmaları yapıldığı halde termofil ve termotolerant mikrofunguslarla ilgili çok az sayıda çalışmaya rastlamaktayız. Dünyanın çeşitli yerlerinde yapılan ekolojik ve floristik çalışmalar funguslar hakkında belli bir bilgi verdiği halde ülkemizde bu tür çalışmalar henüz yeterli değildir.

Halbuki yurdumuzda hemen hemen her bölgede jeotermal orijinli kaplıcalar ve sıcak su kaynakları oldukça fazladır. Ayrıca gübre, saman, kereste, tütün üretimi ve işletme tesisleri üzerinde yapılacak değerlendirmeler termofil mikroorganizmalar yönünden çok zengin kaynaklara sahip olduğunu hatırlatacaktır. İşte bir nebze de olsa ülkemiz termofil ve termotolerant mikrofungus florasına katkıda bulunması ümidiyle böyle bir çalışmayı uygun bulduk.

Mikolojinin araştırma sahası içerisinde yer alan mikrofunguslar tabiatta litosfer, hidrosfer ve atmosfer de yaygın olmakla birlikte en fazla litosferde bulunur.

Toprak verimliliği içerisinde bulunan mikroorganizmalarla paralel olarak artmaktadır. Bilindiği üzere toprakta protozoa, bakteri, alg ve mikrofunguslar bulunur. Mikrofunguslar toprakta diğer mikroorganizma grupları ile birlikte toprakta humus oluşumu, organik ve inorganik maddelerin çevrilmesinde önemli rol oynarlar.

Mikrofunguslar insan, hayvan ve bitkilerde parazit olarak yaşayarak çeşitli hastalıklara ve hatta ölümlere yol açmaktadır. Toprakta çok sık olarak rastlanan *Aspergillus* Mich. ex. Fr. ve *Fusarium* Link. türleri özellikle kültür bitkilerinde tohumlarda ve köklerde çürümelere neden olmaktadır. Ayrıca tahıllar, meyvalar, sebzeler ve hayvan yemleri gibi çeşitli ürünlerin depolanması ve besin maddelerinin saklanması esnasında gelişen mikrofunguslar veya bunların üretikleri toksinler büyük zarar verirler. Küplerin mikotoksinleri nedeniyle ortaya çıkan ekonomik kayıplar ve halkın sağlığı ile ilgili problemler, toprağın yanısıra insan ve hayvan gıdalarında mikrofungus florasının belirlenmesi konusundaki araştırmaların artmasına yol açacak niteliktedir ( Hasenekoğlu, 1987).

## LITERATÜR ÖZETİ

İlk gerçek termofil fungus *Mucor pusillus* Lindt. *Rhizomucor psillus* (Lindt) Scipper olarak 1886 'da Lindt tarafından bulunmuştur (Cooney ve Emerson, 1964).

Griffon and Mavblac (1911) 'de gübrelerde *Talaromyces* (penicillium) *dupontii* Griffon & Mauble, *Talaromyces thermophilus*. Stolk türünü ilk defa izole ederek tanımını yapmışlardır. (Emerson 1968).

1912 'den 1950 'ye kadar otuzsekiz yıl geçmesine rağmen bu yıllar arasında ciddi bir çalışma yapılamamış ve yeni bir termofil mikrofungus bulunamamıştır. Bu yıllarda kadar sadece beş termofil fungusun tanımı yapılmış, fakat bunlar üzerinde yeterli açıklamalar yapılamamıştır.

Ancak Cirisan (1959) ilk kez o tarihe kadar yapılan çalışmaları gözden geçirerek termofil fungusları optimum gelişme isteğinin 40 °C veya üstünde olan funguslar olarak tanımlamıştır. Bu çalışmalarda Emerson 'un YpSs agar besiyeri ve Waksman 'ın doğrudan ekim metodu uygulanmış olup, ondört tür ve varyete bulunmuştur.

Son yıllarda birçok araştırmacı termofil ve termotolerant mikrofunguslar üzerinde floristik, taksonomik, fizyolojik ve ekolojik ağırlıklı oldukça fazla çalışma yapmışlardır. Günümüzde özellikle enzimatik ve biyoteknolojik çalışmalarla ağırlık verilmektedir. Bunlardan bazıları aşağıda kronolojik olarak verilecektir;

Apinis (1963), Nottingham yakınlarındaki aluvial topraklardan ondört termofil fungus izole etmiştir. Araştırmacı bu fungusların temperatur araştırmalarını yaparak şu şekilde gruplandırmıştır; a. mikrotermofil olarak adlandırdığı 25-35 °C arasında optimum gelişme gösteren , fakat 48 °C 'de gelişme göstermeyen türler, b. hem düşük hemde yüksek sıcaklıklarda gelişme gösteren ve geniş bir sıcaklık toleransına sahip olan ve 48°C 'de gelişme gösteren psikrotolerant türler. c. gerçek veya ortotermofil olarak adlandırdığı 40-50 °C arasında optimum gelişme gösteren ve hatta 58 °C 'den daha yüksek derecelerde gelişme gösteren türlerdir.

Cooney and Emerson (1964), " Thermophilic Fungi " adlı eserlerinde termofil

fungusların kültür ve izolasyon metodlarını izah ederek ekonomik değerleri hakkında açıklamalar yapmışlardır.

Yine Emerson (1968), hazırlamış olduğu " The Fungi " adlı beş ciltlik kitabın üçüncü cildinde termofil mikrofunguslarla ilgili oldukça önemli bilgiler vermişlerdir.

Fergus (1969), termofil fungusları ve Actinomyeceteslerin selülotik aktivitelerini araştırmış ve Actinomyeceteslerin termofilik fungslara oranla daha az aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir.

Löhr and Olsen (1969) çiftlik ve kompost gübresini çalışmışlar ve *Humicola lanuginosa*'nın optimum gelişme sıcaklığının 45-50 °C civarında olduğunu bildirmiştir.

Berrnet and Fergus (1971), yapmış oldukları çalışmada termofil ve mezofil dört fungus üzerinde miselyum, amilaz ve zaman ilişkilerini incelemiştir.

Tansey (1971), kendiliğinden ısınan endüstriyel odun yiğinlarında yapmış olduğu çalışmada termofil sekiz tür bulmuştur. Bu çalışmada *Aspergillus fumigatus* türünün en fazla görüldüğünü belirtmiştir.

Fergus ve Amelung (1971), şapkalı mantarlar üzerinde termofil olarak yaşayabilen fungusları araştırmış *Humicola grisea* Traen var. *thermoidea* Cooney & Emerson, *Mucor pusillus* *Humicola lanuginosa* türlerinin 68 °C gibi yüksek bir sıcaklığa mukavemet gösterdiklerini ifade etmişlerdir.

Ward ve Cowley (1972), Merkezi Güney Carolina topraklarından, toprağı sulandırma ve toprağı doğrudan ekme metodunu dört ayrı besiyerinde ve 43° C 'de uygulayarak *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus nidulans* (Eidam) Winter, *Emericella nidulans* (Eidam) *Thermoascus auranticus*, *thielaurast* türlerini izole etmişlerdir.

Minoura, et al., (1973), Japonyada çeşitli kaynak ve topraklardan termofil onuç tür izole etmişlerdir.

Eicker (1972), Güney Afrikada kuş yuvaları ve çeşitli organik maddelerdeki termofil fungusları çalışmış ve oniki tür izole etmiştir.

Euans (1972), *Aspergillus fumigatus*, *Mucor pusillus* ve *Thermomyces lanuginosus* türlerinin havada en çok rastlanan termofil fungus olduğunu bulmuştur.

Tansey (1973), timsah yuvalarındaki termofil ve termotolerant fungusları araştırmış, termotolerant olarak *Aspergillus fumigatus*' u bulurken termofil olarak ise *Chaetomium thermophila* var. *dissitum*, *Thermoascus auranticus*, *Talaromyces thermophilus*, *Humicola lanuginosa*, türlerini bulmuştur.

Kaane ve Mullins (1973), termofil fungusları belediyeye ait atık kompost sisteminde araştırmış ve *Torula thermohila*, *Mucor pusillus*, *Humicola lanuginosa*, *Chatumium thermophilum* ve *Aspergillus* türlerini izole etmişlerdir.

Hudson (1973), Cabridge 'de havada bulunan fungus sporlarını araştırmış ve *Aspergillus fumigatus* türünün her mevsimde dominant olduğunu görmüştür.

Awao ve Mitsugi (1973), Japonya 'da tavşan dışkalarında ve ithal misirler üzerinde yapmış olduğu çalışmada *Thermomyces lanuginosus*, *Talaromyces thermophilus* , *Chatomium thermophilum* var. *cophoprium* gibi termofil mikrofungus türlerini bulmuşlardır.

Gochenour (1975), Bahamian 'da farklı iki toprakta termofil ve mezofil mikro fungusları karşılaştırmalı olarak çalışmış ve altı fungus türü izole etmiştir.

Tansey ve Jack (1976), ABD 'de merkez-güney Indiana 'da termofil ve termotolerant mikrofungusları güneşin doğrudan ısıttığı topraklar üzerinde araştırmışlardır. Bu çalışmada onsekiz tür ve varyete elde edilmiş olup, güneşin doğrudan alan topraklarda daha fazla mikrofungusa rastlanmış, ağaç gölgelerinde bulunan topraklarda ise daha az bulunduğu sonucuna varılmıştır.

Tahakur (1977), Bombay (Hindistan) 'da havada bulunan termofil mikrofungusları araştırmış ve sekiz termofil tür bulmuştur.

Abdel-Fettah et al., (1977), termofil mikrofunguslar için kuş yuvalarının uygun ortam oluşturduğunu ifade ederek, mikrofunguslar için yazın güneş ışınlarının kışın ise kuşların vücut sıcaklıklarının yeterli olduğunu bulmuşlardır.

Jain et al., (1979), sekiz termofil ve termotolerant mikrofungus türünün lignin, sellüloz bozunması, sellüloz aktivitesi ve humus oluşumu üzerine etkilerini araştırmış. *Humicola lanuginosus*, *Talaromyces dupontii* ve *Mucor miehei*'nin sadece lignini bozduğunu bunun yanında *Humicola insolens* ve *Aspergillus fumigatus*'un selluloz tozu üzerinde geliştirildiğinde önemli sellüloz aktivitesi gösterdiğini bulmuşlardır.

Sandhu ve Singh (1981), Hindistan'da Darjeling bölgesi orman topraklarının termofil fungus dağılımını çalışmışlardır. Bu çalışma sonucunda bir mikrotermofil, altı termotolerant ve üç gerçek termofil olmak üzere toplam on termofil izole etmişlerdir.

Ellis ve Keane (1981), Avustralya'nın çeşitli bölgelerindeki bazı topraklarda bulunan termofil mikrofungusları araştırmışlardır. *Aspergillus fumigatus* ve *Thermomyces lanuginosus* türünün en fazla görüldüğü çalışmada on üç tür izole edilmiştir.

El-Tobshy ve Abdel-Gafoure (1981a), Mısır'da *Gliomastix novae-zelandiae* türü tarafından C ve N kaynaklarının kullanımı, bu fungusların büyümeye sporlanması üzerine çeşitli fungusların etkilerini çalışmışlardır.

Yine El-Tobshy ve Abdel-Gafoure (1981b), *Gliomastix novae-zelandiae* türünün sporlanması ve büyümesi üzerine bazı çevre faktörlerinin etkilerini çalışmışlardır. Büyümeye ve sporlanma için optimum sıcaklığın 25-30 °C olduğunu ifade etmişlerdir.

Ogundero (1981), Nijerya'da yapmış olduğu bir seri çalışmada *Humicola lanuginosa*, *Torula thermophila* ve *Chatomium thermophilum* türlerinin palme Ürünlerinin bozulmasına en fazla sahip funguslar olduğunu göstermiştir.

Mauposher et al., (1982), Mısır'da bakla ve buğday saman kompostlarında 45 °C de dokuz tür izole etmişlerdir.

Kuthubutheen (1982), Malezya'da hava filtrelerinin, depolanmış tahılların, atmosferin, çeşitli toprakların ve çeşitli sanayi ürünlerinin termofil mikrofungus filorasını araştırmış ve yirmi tür izole etmiştir. Bu çalışmada *Aspergillus fumigatus* en çok rastlanan tür olarak bulunmuştur.

Yine Kuthubutheen (1982b), Malezya'da mezofil ve termofil fungusları palma yağı Öretim tesisi atıklarında araştırmış ve otuz tür elde etmiştir.

Abde-Hafez et al., (1983), Suriye 'de kırk toprak örneğinden otuzluç tür ve dört varyete izole etmişlerdir.

Bokhary et al., (1984), Sudi Arabistan 'ın kurak bölgelerindeki termotolerant ve termofil mikrofungus florasını, sıcaklık ilişkilerini ve mevsimsel değişikliklerini araştırmışlardır. Bu çalışmada toplam yirmialtı tür izole edilmiş olup %30,8 'nin termotolerant diğerlerinin ise termofil olduğu gösterilmiştir.

Singh ve Sandhu (1985), Amritasar (Hindistan) 'da petri kaplarını havaya maruz bırakarak bir yılda yirmidokuz farklı tür izole etmişlerdir. Bu izolatlarda en fazla rastlanan *Aspergillus fumigatus* olup bunu *Thermomyces laniginosus* ve *Mucor pusillus* izlemektedir.

Samuelson ve Anderson (1986), at, sığır, köpek ve kedi göz kapaklarında bulunan mikrofungusları araştırmışlardır. Araştırmada 43 at, 23 sığır, 50 köpek ve 25 kedi 'nin gözlerinden alınan numuneler incelenmiştir. Bu çalışmada atların %95 'nde, sığırların %100 'nde, köpeklerin %22 'nde ve kedilerin %40 'nda mikrofungus izole edilmiştir.

Abdel-Gafoure ve El-Shehedi (1986), farklı karbon ve azot kaynağı kullanılarak *Gliomastix novae-zelandiae* türlerinin gelişmesi ve sporlanması üzerine etkilerini incelemiştir.

Sethi ve Rawla (1987), Hindistan 'da *Penicillium pinophilum*, *Aspergillus guatricinatus* ve *Gliomastix murorum* gibi üç mikrofungusun ekstraselüler olarak endo-β glukonas, ekso-β glukonas ve β-glikosidas enzimlerinden oluşan seluloz kompleks salgıladığı bulmuşlardır.

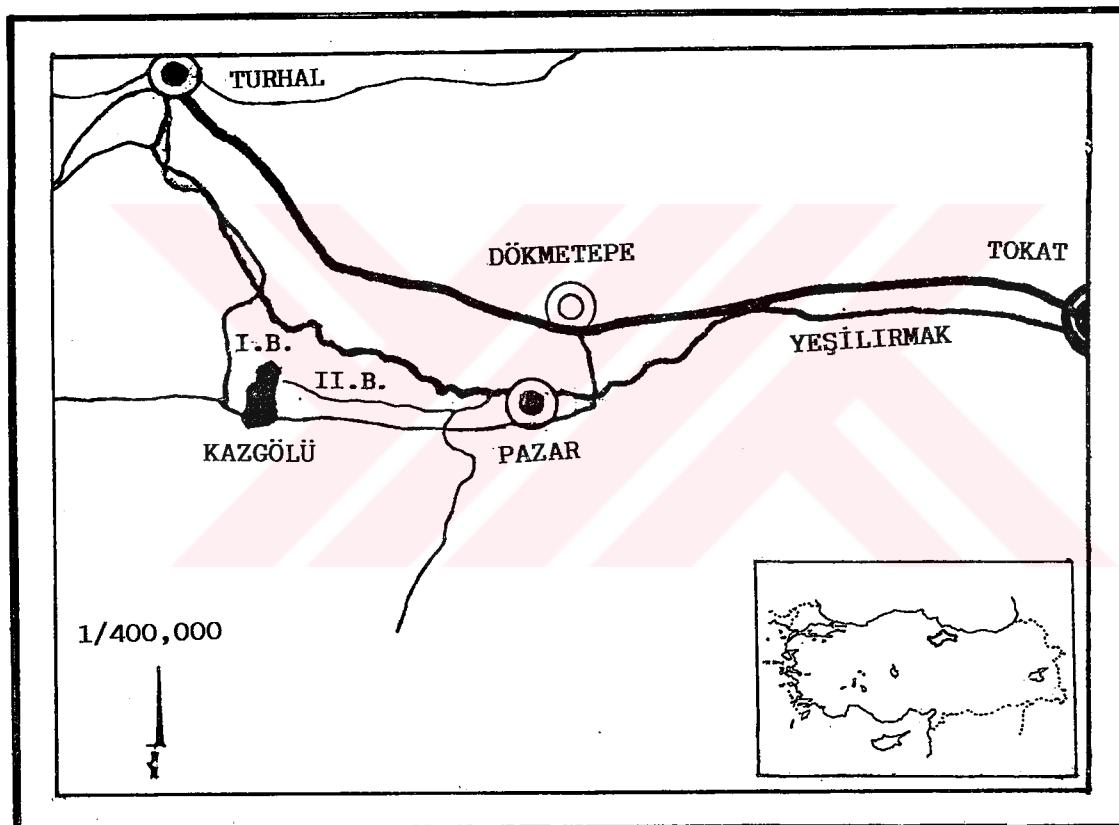
Haliki. (1992), İzmir İline bağlı Bergama yöresindeki bazı kültürasyon alanlarından izole edilen mezofilik, termofilik ve termotolerant funguslar üzerine bir çalışma yapmıştır. Bu çalışmada 69 mikrofungus türü bulunmuştur.

Yeşilyurt. (1993), Erzurum il sınırları içerisindeki bazı ilçe ve köylerde bulunan sığır ve koyun ahırlarındaki gübrelerin termofil ve termotolerant mikrofungus florasını çalışmış ve dört termofil, dokuz termotolerant olmak üzere onuç tür ve varyete elde etmiştir.

### 3. MATERİYAL VE METOD

#### 3.1. Araştırma İçin Seçilen İstasyonlar

Araştırma Tokat İli sınırları içerisinde Pazar ilçesinin 1 km. kuzeybatısında Kazgölü civarında iki farklı bölgeden sağlanan toplam 15 toprak örneği üzerinde yapılmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Öğnek Alma İstasyonları

### 3.2. Bölgenin İklim Özellikleri

Tokat; Orta Karadeniz Bölgesi ile İçanadolu iklimi arasında bir geçiş özelliği gösterir. Sıcaklık Kasım ayında düşmeye başlamakta ve en düşük seviyeye Ocak ayında ulaşmaktadır. Nisan ayında tekrar artmaya başlamakta ve en yüksek seviyeye Ağustos ayında ulaşmaktadır. Yıllık yağışların büyük bir bölümü ilkbahar aylarında gerçekleşmekte, endüşük yağış miktarı ise yaz aylarından Temmuz-Ağustos 'da olmaktadır. Tokat 'da 1930-1992 yılları arasında rasatlarda yılların ortalamasına bakıldığından yıllık ortalama yağış miktarının 444,12mm, yıllık ortalama yağış miktarı ise 37,00 mm dir. Aylık ortalamalarda en yağışlı ay 56,9 mm ile Mayıs ayı en kurak ay ise 9,4 mm ile Ağustos ayıdır. Yıllık ortalama sıcaklığı 12,47 °C 'dir. En düşük sıcaklık ortalaması 1,7 °C ile Ocak ayında, en yüksek sıcaklık ortalaması 22,0 °C ile Temmuz ayında gözlenmiştir (Çizelge 3.1 , 3.2).

**Çizelge 3.1 Araştırma Bölgesinin 1930-1992 Yılları Arasındaki Ortalama Sıcaklık Değerleri (°C)**

Ocak	Şubat	Mart	Nisan	Mayıs	Haziran	Temmuz	Ağustos	Eylül	Ekim	Kasım	Aralık	Y.Ortalama
1.7	3.9	7.6	12.3	16.4	19.7	22.0	21.9	18.6	13.6	8.4	3.8	149.7
-3.6	0.4	6.8	11.4	16.6	18.6	20.6	22.0	18.2	14.0	3.8	5.3	136.7

**Çizelge 3.1. Araştırma Bölgesinin 1930-1992 Yılları Arasındaki Ortalama Sıcaklık Değeri (°C)**

Ocak	Şubat	Mart	Nisan	Mayıs	Haziran	Temmuz	Ağustos	Eylül	Ekim	Kasım	Aralık	Y.Ortalama
49.2	39.8	44.3	53.0	56.9	43.3	11.4	9.4	21.9	28.7	39.0	47.2	443.9
56.9	20.3	46.3	63.7	80.9	49.8	18.0	22.6	19.5	21.1	74.6	33.2	495.9

### **3.3. Araziden Toprak Örneklerinin Alınması**

Toprak örnekleri Temmuz 1994 yılında Tokat İli Kazgölü civarındaki daha önce sularla kaplı olup günümüzde üzerinde tarımsal kültür yapılan arazi ile üzeri sularla kaplı olmayan üzerinde uzun yıllar tarımsal kültür yapılan toprak bölgesi olmak üzere iki ayrı bölgeden toplam 15 örnek alınmıştır. Örnekler yüzeyden 10 cm derinliklerden toplanmıştır. Toprak örnekleri yüksek konsantrasyonlu alkolde (%96) dezenfekte edilmiş 18x22 cm ölçülerinde polietilen torbalara konularak etiketlenmiştir. Örnek konulan torbalar laboratuvara getirilinceye kadar sabit sıcaklıklı termostatlarda tutulmuş ve laboratuvara işleninceye kadar +2 °C'de buzdolabında saklanmıştır.

Örnekler alınırken yüzey kontaminasyonunu uzaklaştmak ve floranın tabii halini korumak için örnek alınacak noktada 40 cm derinlikte bir profil kazılmış, sonra bir yüzeyi dikkatle temizlenmiş ve düşey hale getirilmiştir. Daha sonra örnek almada kullanılan spatül alkollerde dezenfekte edilerek istenilen derinlikdeki profil yüzeyinden bir tabaka sıyrılmış ve taze toprak yüzeyi açığa çıkarılmıştır. Bundan hemen sonra spatül tekrar dezenfekte edilerek profil yüzeyine dik olarak uygulanması suretiyle örnek alınmış ve 45-50 g. örnek torbalara konulmuştur. Toprak almada rastgele yöntemi uygulanmıştır.

### **3.4. Örneklerin İşlenmesi**

#### **3.4.1. İzolasyon Besiyerleri Ve İnkubasyon Sıcaklıklarının Seçimi**

Daha önceki çalışmalara bakıldığındá mesofil, termotolerant ve termofil mikrofungusların kültür ve izolasyonlarının yapılmasında farklı besiyerinin kullanıldığı görülmektedir. Bunlar arasında en çok kullanılan ve ömekteki mikrofungusların gerçeğe en yakın olarak gelişmesini sağlayan besiyerleri pepton dekstroz agar (Martin, 1950; Miller, et al, 1957; Papavizas & Davey, 1959; Hasenekoğlu, 1980), dekstroz-pepton yeast ekstrakt agar (Papavizas & Davey, 1959) ve Emerson'un YpSs (Crisan, 1959, 1964; Cooney & Emerson, 1964; Satyanarayana, et al, 1977; Kuthubutheen, 1981, 1982a,b; Sandhu & Singh, 1985; Singh & Sandhu, 1986) 'dır. Mesofil mikrofungusların izolasyonunda 25 °C 'de inkubasyon uygulandığı halde termotoleranı ve termofil mikrofungusların izolasyonunda literatürde çok farklı sıcaklık derecelerinin kullanıldığı görülmektedir. Bununla beraber son yıllarda yapılan çalışmalarla kullanılan sıcaklık dereceleri 42, 47 ve 52 °C 'dir (Sandhu, et al, 1980; Sandhu & Singh, 1985; Singh & Sandhu, 1986).

Biz de çalışmamızda inkubasyon sıcaklığı olarak da 42, 47 ve 52 °C 'leri ve izolasyon besiyeri olarak Pepton-dekstroz agar (PepDA) ve Emerson 'un YpSs agar (YpSs agar) 'ni kullandık.

### **3.2.2. Araştırmada Kullanılan Besiyerlerinin Hazırlanması**

Kullanılan besiyerlerinin formülleri aşağıdaki gibidir:

**Emersonu 'un YpSs Agar (Cooney & Emerson, 1964)**

Yeast Extract	4.0 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1.0 g
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.5 g
Soluble Stach	15.0 g
Agar	20.0 g
Damitik Su	750 ml
Çeşme Suyu	250 ml

**Pepton Dektroz Agar (Ainswort, 1961; Hasenekoğlu, 1980)**

Dextrose	10.0 g
Peptone	5.0 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1.0 g
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.5 g
Agar	15.0 g
Damitik Su	1000 ml

Pepton-dekstroz agar kültür ortamına, gelişen mikrofungus kolonilerinin birbiri Üzerine aşmasını engellemek için 30mg/lt rose bengal ile örnekte bulunan bakterileri elimine etmek için 30mg/lt streptomycin ilave edilmiştir. Rose bengal, besiyerine otoklava konulmadan önce, streptomycin ise yüksek sıcaklıkta bozulmasından dolayı otoklavdan çıkarılıp Petri kaplarına dökülmeden hemen önce eklenmiştir (Yeşilyurt, 1993).

Emerson 'un YpSs agarına ise 50mg/lt rose bengal ve 50mg/lt chloramphenicol ilave edilmiştir (Sandhu, et al., 1980; Gams, et al., 1987). Her iki madde de otoklavdan önce ilave edilmiştir.

İşlenecek her örnekte kullanılmak üzere üç ayrı inkubasyon sıcaklığı ve iki ayrı ekim metodu için her iki besiyerinden altı petri kabı hazırlanmıştır. Böylece her bir örnek için farklı besiyerleri farklı sıcaklıklarda toplam 12 petri kullanılmıştır.

### 3.4.3. Örneklerin Ekimleri

Toprak örneklerinden termofil ve termotolerant mikrofungusların izolasyonu için " (Soil Dilution Plate)" (Waksman, 1944) ve " (Soil Plate Method)" (Warcup, 1950) olarak iki metod uygulanmıştır.

Toprağı Sulandırma Metod 'unda toprak örneklerinden 25 gr 'lık kısımlar 250 ml 'lik steril dereceli kaplara konulmuş ve üzerleri steril suyla 250 ml 'ye tamamlanmıştır. Bu şekilde hazırlanan 1/10 'luk süspansyonlar steril 250 'lik erlenelere alınarak su banyolu mekanik çalkalayıcıda dakikada 100 devir hızla 30 dakika boyunca çalkalanmıştır (Apinis, 1963). termofil ve termotolerant fungusların spor çimlenmesi için genellikle ısı şoku gereklidir. Dolayı çalkalayıcının su banyosu 70 °C 'ye ayarlanarak çalkalanma müddeti olan 30 dakika boyunca ısı şoku uygulanmıştır (Gams, et al., 1987).

Çalkalanma sonucu homjen bir şekilde süspanse olan 1/10 'luk dilüsyonlardan 1/100 'luk dilüsyonlar hazırlanmış ve ekimler bu dilüsyonlardan yapılmıştır. Dilüsyon ekimleri, seçilen besiyeri ve sıcaklıklara göre her örnekten aşağıdaki plana göre yapılmıştır

Sıcaklık (°C)	Besiyeri	Petri Kabı Sayısı	Petriye Ekilen Miktar (ml) (Singh & Sandhu, 1986)
42	PepDA	2	1
42	YpSs	2	1
47	PepDA	2	5
47	YpSs	2	5
52	PepDA	2	5
52	YpSs	2	5

Yukarıda görüldüğü gibi seçilen her bir sıcaklık derecesi için iki ayrı besiyeri olarak toplam dört petri kabına ekim yapılmış olup, bir örnekten toplam dilüsyon ekimi oniki Petri olmaktadır. Böyle paralel ekim yapma sonucu örnekte bulunabilecek bütün termofil fungusların gözden kaçırılmadan izolasyonu hedeflenmiştir.

Toprağı Doğrudan Ekim Metodunda ise dilüsyon ekimlerinde kullanılan besiyerleri kullanılmış olup her besiyerinden her bir örnek ve besiyeri için iki petri ekim yapılmıştır. Böylece bir örnek için iki besiyeri ve üç sıcaklık derecesi olarak toplam oniki Petri kabına doğrudan ekim yapılmıştır. Dilüsyon ekimleri ve doğrudan ekimlerin bir örnek için toplam petri sayısı yirmidördür.

Toprağı Doğrudan Ekim Metodunda küçük toprak örnekleri alevde sterilize edilmiş bir pens ile alınarak petri kaplarına eşit aralıklarla yerleştirilmek suretiyle ekimler yapılmıştır. Bir petri kabına bu şekilde 18-20 adet ekim yapılmıştır.

#### **3.4.4. Mikrofungusların Üretilmesi**

Toprağı Sulandırma ve Toprağı Doğrudan Ekim metoduna göre ekimi yapılan besiyerleri 42, 47 ve 52 °C olmak üzere üç ayrı sıcaklık derecesinde bir hafta boyunca inkube edilmiştir. Petri kapları buharlaşmanın fazla olması ve besiyerlerinin kurumaması için polietilen torbalara konularak etüve konulmuştur. Ayrıca su kaybını en aza indirmek için etüvün bir köşesine geniş kaplar içerisinde su konulmuştur. Böylece su kaybı en aza indirilmiştir (Tansey, 1971; Singh & Sandhu, 1986). Polietilen torbalara sarılan Petrilere günde iki defa torbalardan çıkarılarak havalandırılmıştır. Petri içerisindeki koloniler peryodik olarak kontrol edilmiş ve stereomikroskop yardımıyla incelenerek izolasyonları yapılmıştır.

İnkubasyona bırakılan petri kaplarından 7-8 gün sonunda koloni sayımları yapılmıştır. Sayımlar her sıcaklık derecesinde ayrı ayrı yapılarak besiyeri çeşitlerine göre ve paralel ekimlerin toplamı olarak kaydedilmiştir. İlk bakışta farklı gibi görülen ve farklı olduklarından şüphelenilen kolonilerden daha önce patates-dextroz agarla hazırlanmış yatkı agar besiyerine transfer edilmiştir. Transferi yapılan izolatların bulunduğu tüpler izole edildikleri derecelerde bir müddet geliştiğinden sonra teşhis ekimleri yapılmaya kadar +2 °C de buzdolabında saklanmıştır. Patates dekstroz agarın formülü şöyledir:

### **Patates Dextrose Agar (Difco)**

Patates Extract	4.0 g
Dextrose	20.0 g
Agar	15.0 g
Damitik Su	1000 ml

### **3.4.5 İzole Edilen Mikrofungusların Tanımlanması**

Toprak örneklerinden üç ayrı sıcaklık dereesi kullanarak izole edilen termofil ve termotolerant mikrofungusların teşhis edilmesi amacıyla stok izolatlardan *Aspergillus* cinsine ait olanlar Czapex agar, diğerleri ise Malt Extrakt Agar (MEA) besiyerine ekimleri yapılmıştır. Ekimi yapılan Petri kapları 37 °C de on gün inkube edildikten sonra teşhs işlemleri yapılmıştır (Coney & Emerson, 1964). Teşhis amacıyla koloniler önce steromikroskop altında incelenerek koloninin Üreme yapılarının tabii durumları tespit edilmiş, daha sonra bu kolonilerden preperatlar hazırlanarak mikroskop altında bütün detaylar gözlenmiş ve ölçümleri yapılmıştır. Preperat ortamı olarak Amman'ın laktofenol çözeltisi kullanılmıştır. Çözelti formülü şöyledir:

### **Laktofenol (Games, et al., 1987)**

Kristal Fenol	20.0 g
Laktik Asit	20.0 g (veya 16 ml)
Gliserin	40.0 g (veya 31 ml)
Damitik Su	20.0 g (veya 20 ml)

Ortama boyalı maddesi olarak 1000 ml için 0.05 g anilin mavisi (pamuk mavisi) ilave edilmiştir. Preperat yapımında klasik lam lamel ve selüloz band metodu uygulanmıştır. Bunun için yapışkan bir selüloz banttan uygun büyüklükteki parçalar incelenmek istenilen koloniningç bölgeleri Üzerine hafifçe bastırılmış, daha sonra lam Üzerindeki perat ortamına yapışkan taraf alta kalacak şekilde yerleştirilmiştir. Bant iyice gerilerek iki tarafı lama yapıştırılıp mikroskopta incelencek hale getirilmiştir (Butler ve Mann, 1959).

Teşhis amacıyla kullanılan besiyerlerinin formülleri şöyledir:

**Czapek Agar (Samson & Pitt, 1985; Gams,et al., 1987)**

NaNO <sub>3</sub>	3.0 g
KCl	0.5 g
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.5 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1.0 g
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.01 g
Bakkaroz	30.0 g
Agar	15.0 g
Damitik Su	1000 ml

**Malt Extract Agar (Samson & Pitt, 1985)**

Malt Extract(toz)	20.0 g
Peptone	1.0 g
Glucose	20.0 g
Agar	15.0 g
Damitik Su	10000 g

Formüldeki maddeler bir litrelık erlende eritilerek süzüldükten sonra otoklavda 121 °C 'de 15 dakika sterilize edilmiştir.

Teşhis yapılırken gelişen kolonilerin önce kültür özellikleri (koloni rengi, morfolojisi, renkte meydana gelen değişimler, koloni altı rengi vs.) gözlenmiş, daha sonra mikroskopik özellikleri incelenmiştir. Özellikle oluşan üreme organlarının karakterleri, düzenleniş şekilleri konidiyoforların, sporangioforların, sporangiyumların ve sporangiosporların bütün özellikleri incelenmiş ve boyutları oküler mikrometre ile ölçülmüştür.

Örneklerin tür ve cins seviyesindeki teşhislerinde Crisan (1959), Cooney & Emerson (1964), Raper & Fennel (1965), Emerson (1968), Ellis (1971) Samson (1974), Arx (1981), Hasenekoğlu (1991) kaynak olarak kullanılmıştır.

### 3.4.6 Mikrofungusların Sıcaklık Sınırlarının Belirlenmesi

Elde edilen ve teşhisleri yapılan termofil ve termotolerant on taksonun üç ayrı sıcaklık derecesinde ve farklı iki besiyerinde gelişme dereceleri araştırılmıştır. Seçilen sıcaklık dereceleri 42, 47 ve 52 °C olup, besiyerleri ise malt extrakt agar (Ward & Cowley, 1972) ve Emerson 'un YpSs agar (Crisan, 1959, 1964; Tansey, 1972)'ıdır. Besiyerleri herbir takson için üç ayrı sıcaklık derecesinde kullanılmak üzere toplam altı Petri olarak hazırlanmış ve her sıcaklık derecesi için iki ekim yapılmıştır. Ekimler Petri kaplarının tam ortasına tek koloni olarak ekilmiş daha uzun süre izleyebilmek için 12 cm çapındaki Petri kapları kullanılmıştır. Ekimden itibaren her sıcaklık derecesindeki gelişen kültürlerde ait koloniler yirmidört saatlik periyotlarla koloni altından cetvelle milimetre olarak ölçülmüş ve paralel ekilmiş petrilerin ölçüm ortalamaları kaydedilmiştir. Ölçümler yapılırken her koloni birbirine dik iki yönde ölçülp ortalaması alınmıştır. Hızlı gelişen taksonların Petri kaplarını doldurduktan sonra ölçümllerine son verilmiştir (Apinis, 1963; Crisan, 1964; Sandhu, et al., 1980; Singh & Sandhu, 1986).

**Çizelge 3.3 Toprağın Kimyasal Analizi**

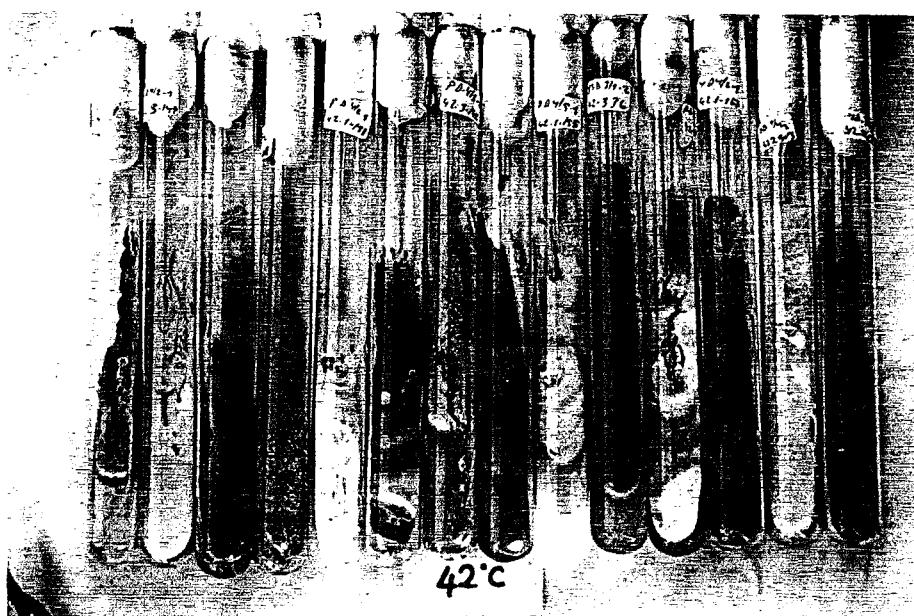
	2 : 5		% Oganik Madde	% Kireç	% Nitrat	% Fosfor
	pH	EC				
Birinci Bölge	8.37	88	1.05	5.23	0.039	4
İkinci Bölge	8.53	120	1.36	10.83	0.040	5

\* Toprakta Organik madde Walkkey-Black yöntemine göre, kireç tayini Kalsimetrik yöntemle, nitrat taini Klorimetrik olarak, fosfor ise Borton yöntemine göre spektrofotometre ile okunarak yapılmıştır.

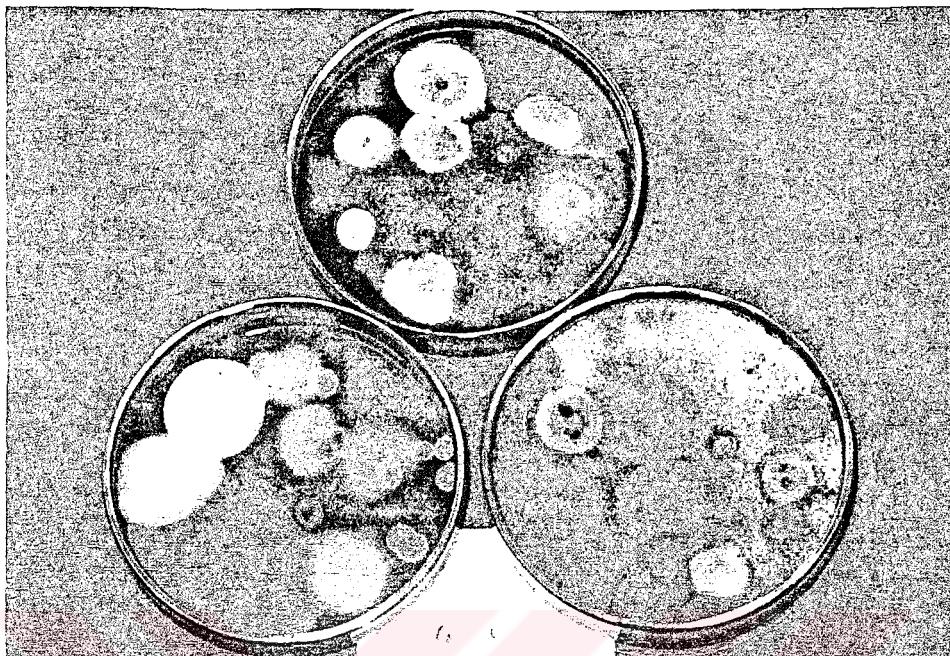
#### 4. SONUÇLAR

Tokat İli Kazgölü civarındaki daha önce sularla kaplı olup şuanda ekilip-biçilebilir hale getirilen toprak ile daha önceden üzerinde tarımsal kültür yapılan toprak olmak üzere iki ayrı bölgedeki istasyonlardan toplam 15 toprak örneğinden araştırma yapılmıştır; metod olarak toprağı doğrudan ve toprağı sulandırma metodu, besiyeri olarak Emerson 'un YpSs ağacı ve PepDA besiyerleri, sıcaklık olarak ise 42, 47 ve 52 °C 'leri kullanılmıştır. Bu çalışmada 770 tanesi doğrudan ekim, 524 tanesi ise dilüsyon ekimlerinden olmak üzere toplam 1294 izolat elde edilmiştir (Şekil 4.1, 4.4, 4.7).

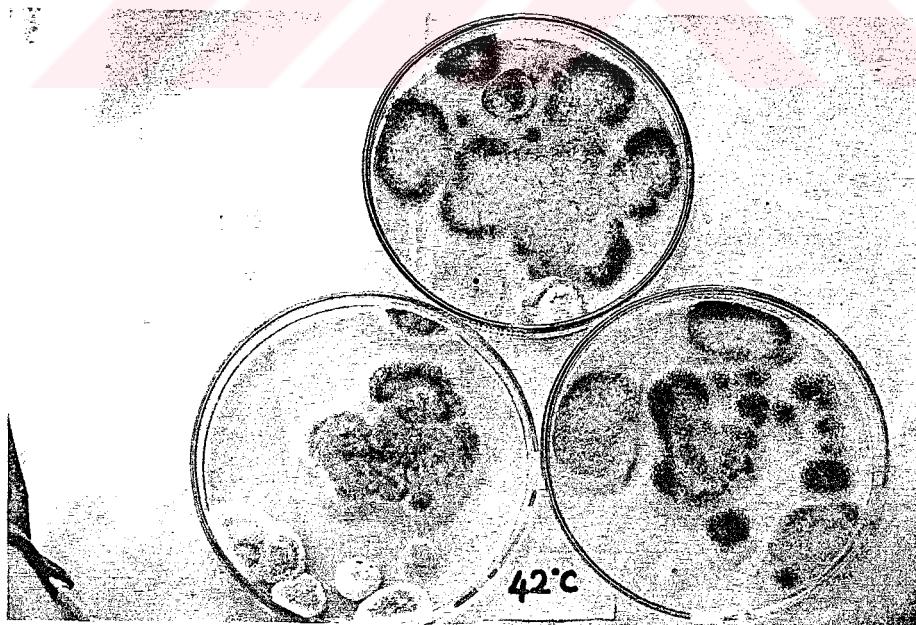
Bu izolatların teşhisleri sonucunda on tür ve varyete ile üç steril mikrofungus elde edilmiştir. Doğrudan ekimlerde farklı besiyerlerinde ve sıcaklıklarda izole edilen taksonların koloni sayıları ve bunların toplam koloni sayılarına oranları çizelge 4.1 'de verilmiştir. Aynı şekilde dilüsyon ekimlerinde farklı besiyerlerinde ve sıcaklıklarda izole edilen taksonların koloni sayıları ve bunların toplam koloni sayılarına oranları çizelge 4.2 'de verilmiştir. Kullanılan besiyeri ve sıcaklıklara göre farklı iki istasyona ait topraklardan elde edilen taksonların koloni sayıları ve toplam koloni sayılarına oranları çizelge 4.3 'de verilmiştir. Farklı inkubasyon sıcaklıklarında taksonların görüldüğü örnek sayıları ve toplam örnek sayılarına oranları çizelge 4.4 de verilmiştir.



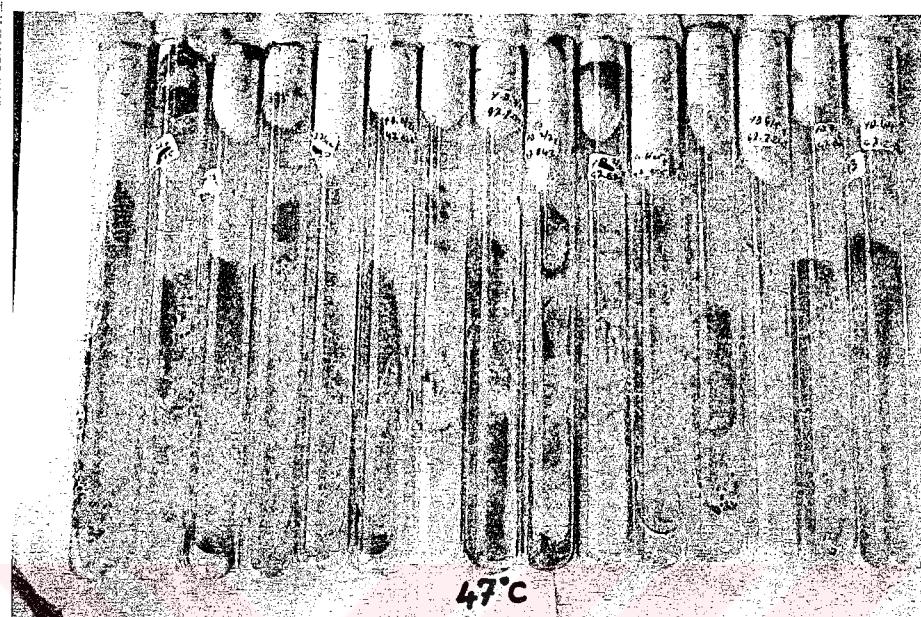
**Şekil 4.1 42 °C 'de Dilüsyon ve Doğrudan Ekimlerden Elde Edilen Izolatlar**



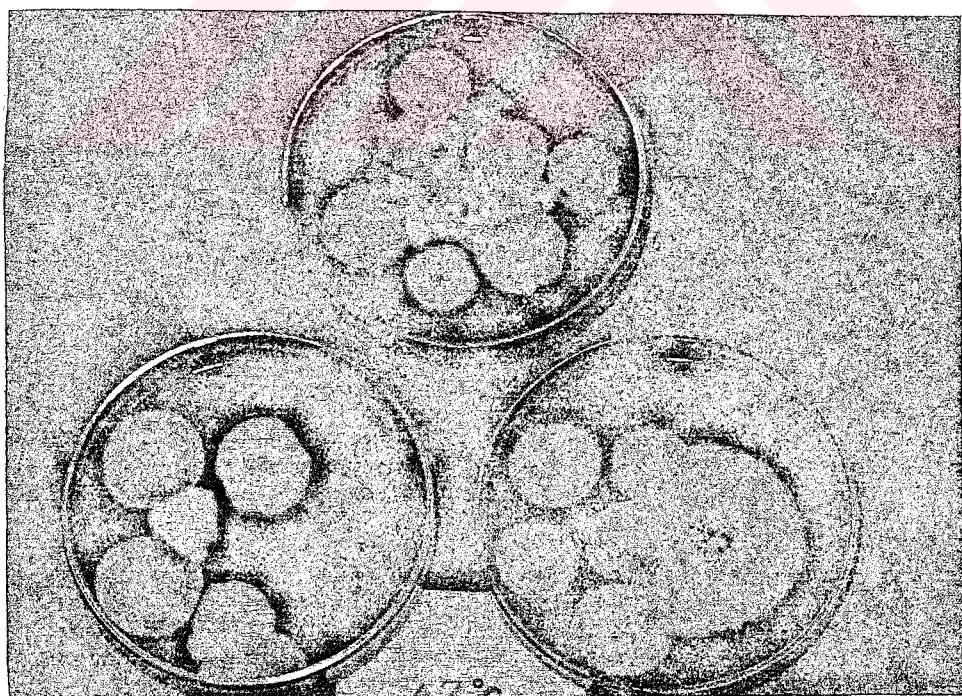
**Şekil 4.2** 42 °C 'de Dogrudan Ekimlerde 7 Günlük İnkubasyon Peryodu Sonucunda Gelişen Koloniler



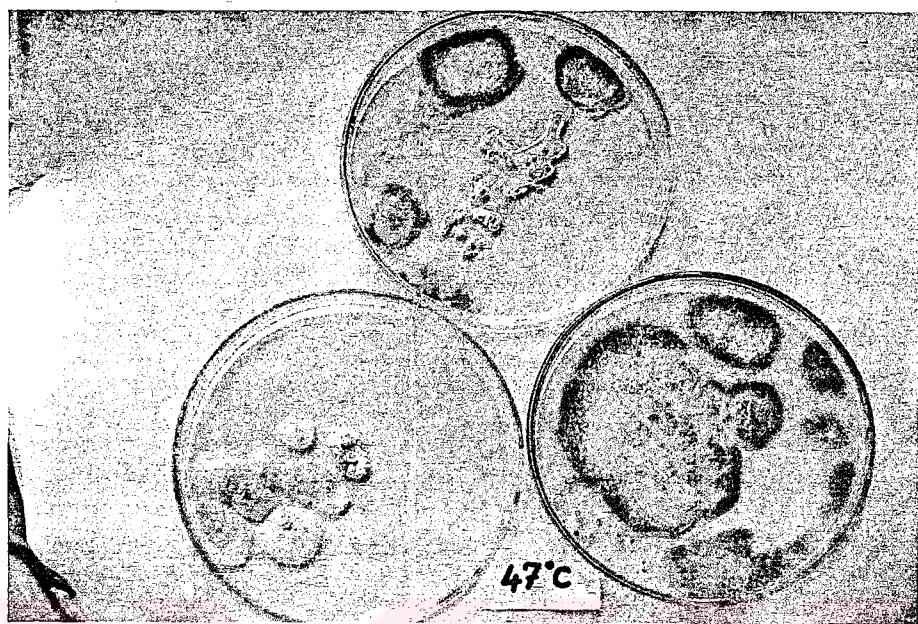
**Şekil 4.3** 42 °C 'de Dilüsyon Ekimlerde 7 Günlük İnkubasyon Peryodu Sonucunda Gelişen Koloniler



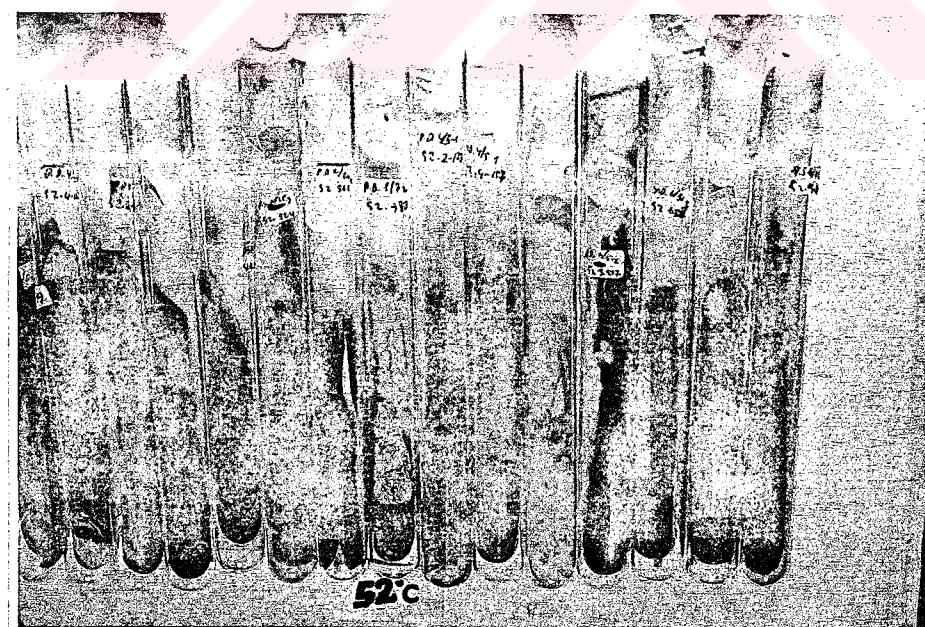
**Şekil 4.4** 47 °C'de Dilüsyon ve Doğrudan Ekimlerden Elde Edilen İzotatlar



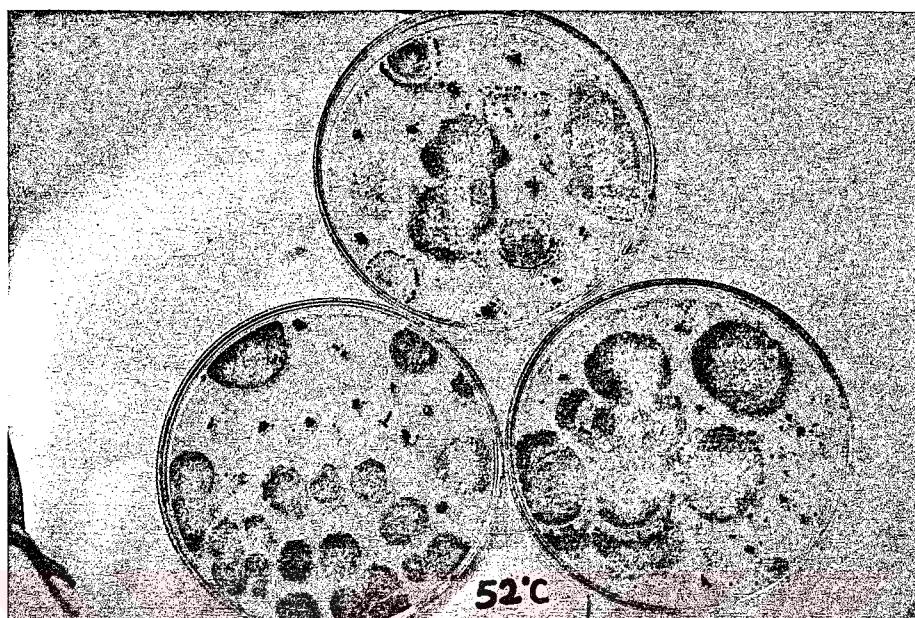
**Şekil 4.5 47 °C 'de Doğrudan Ekimlerde 7 Günlük İnkubasyon Peryodu Sonucunda Gelişen Koloniler**



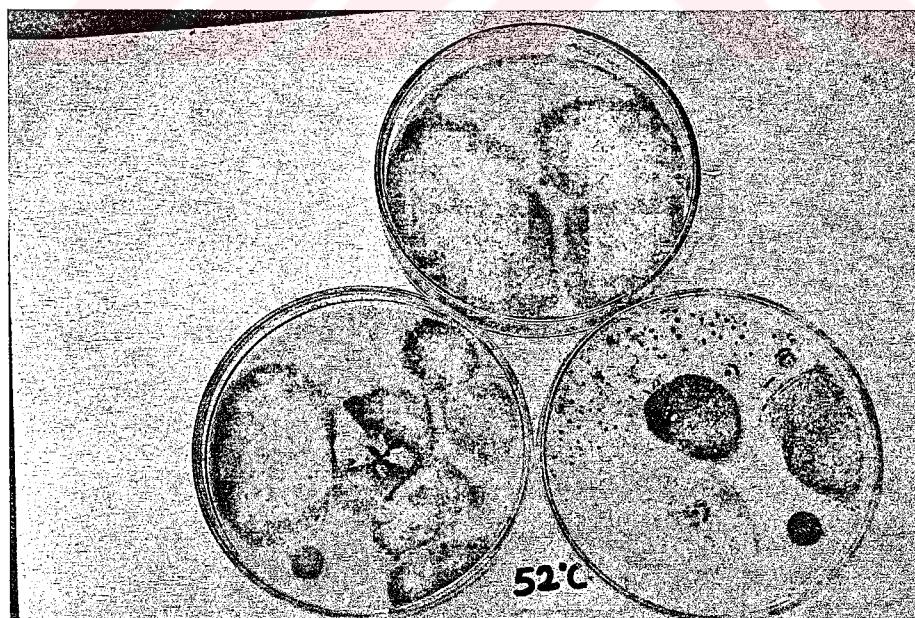
#### **Şekil 4.6 47 °C 'de Dilüsyon Ekimlerde 7 Günlük İnkubasyon Peryodu Sonucunda Gelişen Koloniler**



**Şekil 4.7** 52 °C 'de Dilüsyon ve Doğrudan Ekimlerde Elde Edilen İzolatlar



**Şekil 4.8** 52 °C 'de Doğrudan Ekimlerde 7 Günlük İnkubasyon Peryodu Sonucunda Gelişen Koloniler



**Şekil 4.9** 52 °C 'de Dilüsyon Ekimlerde 7 Günlük İnkubasyon Peryodu Sonucunda Gelişen Koloniler

**Çizelge 4.1 Doğrudan Etkinlerinde Farklı Besiyerine ve Farklı Derecelerde İzole Edilen Taksonların Koloni Sayıları ve Bunların Toplam Koloni Sayılarına Oranı.**

Taksonun Adı	Besiyeri		Sıcaklık (°C)
	PepDA	YpSs	
<i>Aspergillus fumigatus</i> Fresenius	743(%18,74)	879(%11,75)	42
	652(%8,5)	741(%9,71)	47
	—	—	52
<i>Humicola grisea</i> Trazen var. <i>thermoidea</i> Cooney & Emerson	12(%0,10)	6(%0,07)	42
	2(%0,02)	4(%0,05)	47
	61(%0,80)	38(%0,49)	52
<i>Gliomastix</i> sp.	4(%0,05)	—	42
	10(%0,15)	2(%0,02)	47
	—	—	52
<i>Malbranchea sulfurea</i> (Miehe) Sigler & Carmichael	34(%0,44)	10(%0,13)	42
	32(%0,41)	34(%0,44)	47
	26(%0,34)	12(%0,15)	52
<i>Thermomyces lanuginosus</i> Tsiklinsky	—	6(%0,07)	42
	12(%0,15)	14(%0,18)	47
	76(%0,99)	43(%0,56)	52
<i>Humicola insolens</i> Cooney & Emerson	4(%0,05)	11(%0,14)	42
	19(%0,24)	9(%0,11)	47
	—	—	52
<i>Scytalidium thermophilum</i> (Cooney & Emerson) Austwick	—	—	42
	2(%0,02)	—	47
	—	—	52
<i>Myceliophthora thermophila</i> (Apinis) van Ooschot	—	—	42
	—	—	47
	12(%0,15)	—	52
<i>Aspergillus speluneus</i> Raper & Fennell	16(%0,20)	8(%0,10)	42
	8(%0,09)	4(%0,05)	47
	—	—	52
<i>Aspergillus cameus</i> (V.Tiegh.) Blochwitz	14(%0,18)	6(%0,07)	42
	2(%0,02)	7(%0,09)	47
	—	—	52
Steril I	4(%0,05)	—	42
	14(%0,18)	12(%0,15)	47
	58(%0,76)	48(%0,62)	52
Steril II	46(%0,60)	166(%2,17)	42
	38(%0,49)	39(%0,50)	47
	64(%0,83)	—	52
Steril III	8(%0,10)	—	42
	70(%0,91)	76(%0,99)	47
	2(%0,02)	18(%0,23)	52

Çizelge 4.2 Dilisyon Ekimlerinde Farklı Besiyerine ve Farklı Derecelerde İzole Edilen

- Taksonların Koloni Sayıları ve Bunların Toplam Koloni Sayılarına Oranı.

Taksonun Adı	Besiyeri		
	PepDA	TyPSs	Sıcaklık (°C)
<i>Aspergillus fumigatus</i> Fresenius	896(%11.75) 741(%9.71) —	672(%8.81) 714(%9.36) —	42 47 52
<i>Humicola grisea</i> Traaen var. <i>thermoidea</i> Cooney & Emerson	6(%0,07) 6(%0,06) 5(%0,06)	5(%0,06) 6(%0,06) 12 (%0,15)	42 47 52
<i>Gliomastix</i> sp.	— 22(%0,28) —	— —	42 47 52
<i>Malbranchea sulfurea</i> (Miehe) Sigler & Carmichael	7(%0,09) 11(%0,14) 6(%0,07)	— 5(%0,06) 3(%0,04)	42 47 52
<i>Thermomyces lanuginosus</i> Tsiklinsky	— — 13(%0,17)	— 2(%0,02 ) 9(%0,11)	42 47 52
<i>Humicola insolens</i> Cooney & Emerson	— 5(%0,06) —	2(%0,02) 4(%0,05) —	42 47 52
<i>Scytalidium thermophilum</i> (Cooney & Emerson ) Austwick	— — —	— — —	42 47 52
<i>Myceliophthora thermophila</i> (Apinis ) van Ooschot	— — —	— — —	42 47 52
<i>Aspergillus speluneus</i> Raper & Fennell	7(%0,09) 3(%0,04) —	12(%0,10) 2(%0,02) —	42 47 52
<i>Aspergillus cameus</i> ( V.Tiegh.) Blochwitz	3(%0,04) 5(%0,06) —	11(%0,14) 3(%0,04) —	42 47 52
Steril I	18(%0,23) 2(%0,02) 5(%0,06)	24(%0,31) 10(%0,13) 13(%0,17)	42 47 52
Steril II	44(%0,54) 12(%0,14) —	82(%1,07) 8(%0,10) —	42 47 52
Steril III	— 48(%0,62)	19(%0,24) —	42 47 52

**Çizelge 4.3 Kullanılan Besiyeri Ve Sıcaklıklara Göre Farklı İki İstasyona Ait Topraklardan Elde Edilen Taksonların Koloni sayıları Ve Bunların Toplam Koloni Sayılarına Oranları**

Taksonun Adı	I. Bölge	II. Bölge	Sıcaklık(°C)
<i>Aspergillus fumigatus</i> Fresenius	1643(%27,91) 1423(%18,16) —	1447(%18,97) 1231(%16,14) —	42 47 52
<i>Humicola grisea</i> Traaen var. <i>thermoidea</i> Coovey & Emerson	8(%0.10) 16(%0.17) 12(%0.15)	19(%0.24) 12(%0.15) 104(%1.34)	42 47 52
<i>Gliomastix sp.</i>	4(%0.05) 10(%0.13) —	— 24(%0.31) —	42 47 52
<i>Malbranchea sulfurea</i> (Miehe) Sigler & Carmichael	41(0.53) 44(0.56) —	10(0.13) 38(0.46) 12(%0.15)	42 47 52
<i>Thermomyces lanuginosus</i> Tsiklinsky	— 17(%0.22) 107(%1.40)	6.(%0.6) 11(%0.14) 34(%0.44)	42 47 52
<i>Humicola insolens</i> Cooney & Emerson	14(%0.18) 28(%0.36) —	3(%0.04) 9(%0.11) —	42 47 52
<i>Scytalidium thermophilum</i> (Cooney & Emerson ) Austwick	— — —	— 2(%0.02 ) —	42 47 52
<i>Myceliophthora thermophila</i> (Apinis ) van Ooschot	— — 12(%0.15)	— — —	42 47 52
<i>Aspergillus speluncus</i> Raper & Fennell	13(%0.15) 5(%0.06) —	30(%0.39) 12(%0.15) —	42 47 52
<i>Aspergillus carneus</i> ( V.Tiegh.) Blochwitz	19(%0.24) 13(%0.15) —	15(%0.19) 4(%0.05) —	42 47 52
Steril I	6(%0.07) 22(%0.28) 86(%1.12)	40(%0.52) 16(%0.17) 40(%0.52)	42 47 52
Steril II	72(%0.49) 46(%0.60) 34(%0.44)	266(%3.48) 50(%0.65) 32(%0.41)	42 47 52
Steril III	21(%0.27) 100(%1.31)	6(%0.07) 94(%1.23)	42 47 52

**Çizelge 4.4 Farklı İnkubasyon Sıcaklıklarında Taksonların Görüldüğü Örnek Sayıları Ve Toplam  
Örnek Sayılarına Oranları**

Taksonun Adı	42 °C	47 °C	52 °C
<i>Aspergillus fumigatus</i> Fresenius	124(%1,62)	115(%1,50)	—
<i>Humicola grisea</i> Trazen var. <i>thermoidea</i> Coovey & Emerson	4(%0,05)	5(%0,06)	10(%0,13)
<i>Gliomastix</i> sp.	1(%0,01)	6(%0,07)	—
<i>Malbranchea sulfurea</i> (Miehe) Sigler & Carmichael	6(%0,07)	12(%0,15)	10(%0,13)
<i>Thermomyces lanuginosus</i> Tsiklinsky	2(%0,02)	7(%0,09)	24(%0,31)
<i>Humicola insolens</i> Cooney & Emerson	4(%0,05)	6(%0,07)	—
<i>Scytalidium thermophilum</i> (Cooney & Emerson ) Austwick	—	1(%0,01)	—
<i>Mycelopithora thermophila</i> (Apinis ) van Ooschot	—	—	2(%0,02)
<i>Aspergillus spelaeus</i> Raper & Fennell	8(%0,10)	5(%0,06)	—
<i>Aspergillus carneus</i> ( V.Tiegh.) Blochwitz	7(%0,09)	3(%0,04)	—
Steril I	7(%0,09)	8(%0,10)	23(%0,30)
Steril II	55(%0,72)	23(%0,30)	16(%0,20)
Steril III	5(%0,06)	25(%0,32)	6(%0,07)

Elde edilen taksonların sistematik durumları, kültürel özellikleri ve temperatür çalışmaları şu şekildedir;

#### Hypomycetes

##### *Aspergillus fumigatus* Grubu

##### *Aspergillus fumigatus* Fresenius, 1863

Syn:*Aspergillus aviarus* Peck, 1981

*Aspergillus bronchialis* Blumentritt, 1901

*Aspergillus calyptatus* Oudemans, 1902

*Aspergillus-cellulosae*-Hopff, 1919

*Aspergillus fumigatus* var. *alpha* Sinon & Alexandrescu, 1908

*Aspergillus fumigatus* var. *bunzinense* Von Szilvungi, 1941

*Aspergillus fumigatus* var. *minimus* Sartory, 1919

*Aspergillus fumigatus* var. *subgulobosus* Blochwitz, 1935

*Aspergillus fumigatus* var. *tumescens* Blumentritt, 1905

*Aspergillus fumigatus* f.sp *ficciosus* & f.sp. *veltinus* Ohmasa, 1950

*Aspergillus glaucoides* Spring, 1952

*Aspergillus ligniersi* Cost & Lucet, 1905

*Aspergillus nigrenrens* Robin, 1853

*Aspergillus pulmonum homins* Welcker, 1855

*Aspergillus ramosus* Hallier, 1870

*Aspergillus septatus* Sartory, 1943

*Aspergillus syncephalis* Gueguen, 1904

*Aspergillus virido-griseus* Cost & Lucet, 1905

Czapek agar besiyerinde koloniler hızlı gelişmekte ve yayılmakta, koloni yüzeyi kesin kadife, önce beyaz, konidi başlarının gelişmesi ile yeşil, bazan kunduz grisi olmakta, koloni altı ve substratum renksiz, bazlarında sarı ve kırmızı tonlarında konidi başları kolumnar, kompakt genellikle yoğun şekilde bir arada, ölçülerde değişmekte 400x50  $\mu$  kadar olabilmekte, konidiyofor kısa, düz, 300-500x5.0-8  $\mu$  ölçülerinde, genellikle yeşil renkli, özellikle vezikülün üst kısmında belirgin şekilde renkli doğrudan batık hiflerden geliştiği gibi havai hiflerden gelişmekte, veziküller

18-28  $\mu$  çapında genellikle konidiyoforlar aynı renkte, sadece üst kısmında fertil, sterigma tek seri ve renkli, 6-10x2-3  $\mu$  ölçülerinde, eksenleri kabaca konidiyofor eksenine paralel, konidiler kitle halinde yeşil, ekinulat, globaz-subglobaz, 2.0-3.5  $\mu$  çapında, genellikle 2.5-3.0  $\mu$ , sklerasyum veya kleistetesyum yok (Şekil 4.10, 4.11).

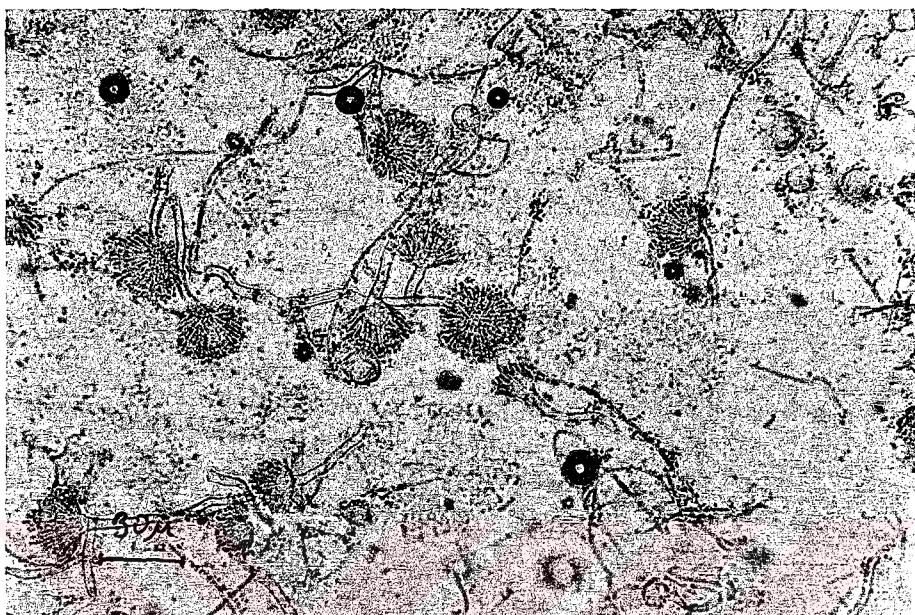
MEA besiyerinde 42°C 'de çok iyi gelişmekte ve 130 saatte Petriyi doldurmakta, 47°C 'de orta derecede bir gelişme göstermekte, 240 saatte 70 mm çapında koloni yapmakta, 52°C 'de ise gelişme zayıf olup, 240 saatte 30 mm çapında koloni yapmaktadır, YpSs agar besiyerinde 42 °C 'de 160 saatte petri kabını doldurmakta , 47 °C 'de 240 saatte 61 mm çapında koloni yapmakta ve 52 °C 'de 240 saatte 17 mm çapında koloni meydana getirmektedir (Şekil 4.12 ).

#### *Aspergillus versicolor* Grubu

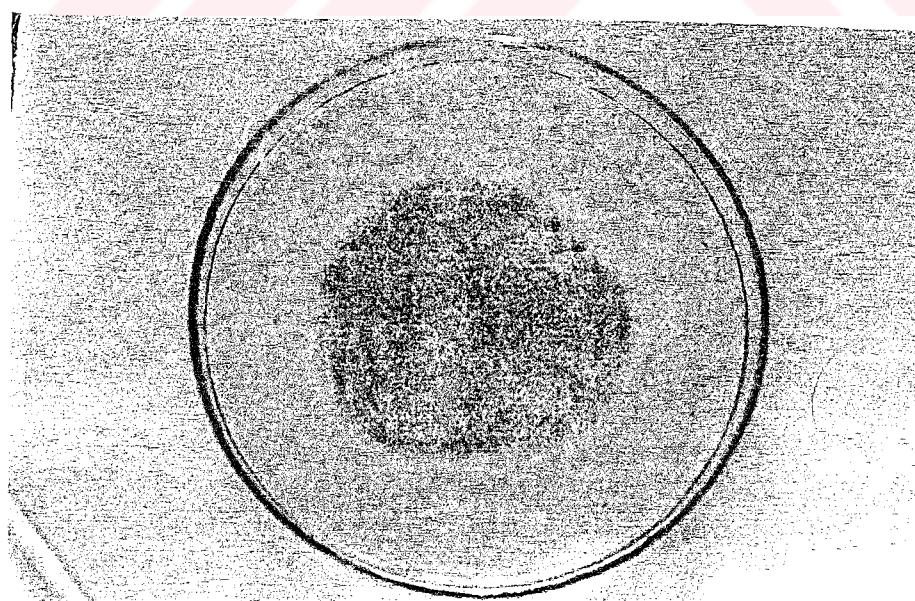
##### *Aspergillus speluneus* Raper & Fennel, 1965

Czapek agar besiyerinde seyrek olarak gelişmekte, 37 °C 'de on günde 7-8cm koloni yapmaktadır, vejetatif miselyum ince, hemen tamamıyla batık, seyrek şekilde sarı-yeşil konidi başları; konidi başlarının şekli ve büyüklükleri değişken, gevşek şekilde kolumnar olma eğiliminde, konidi başları divergent ve dar sütunlar halinde ayrılmaktadır, 200-300  $\mu$  uzunluğunda, diğer bazı başlar çok az sayıda konidi zincirleri taşımaktadır, konidiyoforlar genellikle, 120-160x3.5-5.0  $\mu$  ölçülerinde, düz çeperli, kırmızımsı kahverengi renkte, veziküler konidiyoforlarla aynı renkte, globoza çok yakın olanların yanında biraz uzamış olanlar da var; üstte 2:3 kısmında fertil 7.5-12.0  $\mu$  çapında, sterigma iki seri, sıkı istiflenmiş, birinci seri belirgin şekilde kama-takoz şeklinde, 4.5-5.5x2.2-3.0  $\mu$ , ikinci seri 5.0-7.5x2.2  $\mu$  ölçülerinde, konidiler tipik olarak globoz, ekinulat, 2.2-3.0  $\mu$  çapında, hulle hücreleri var (Şekil 4.13, 4.14).

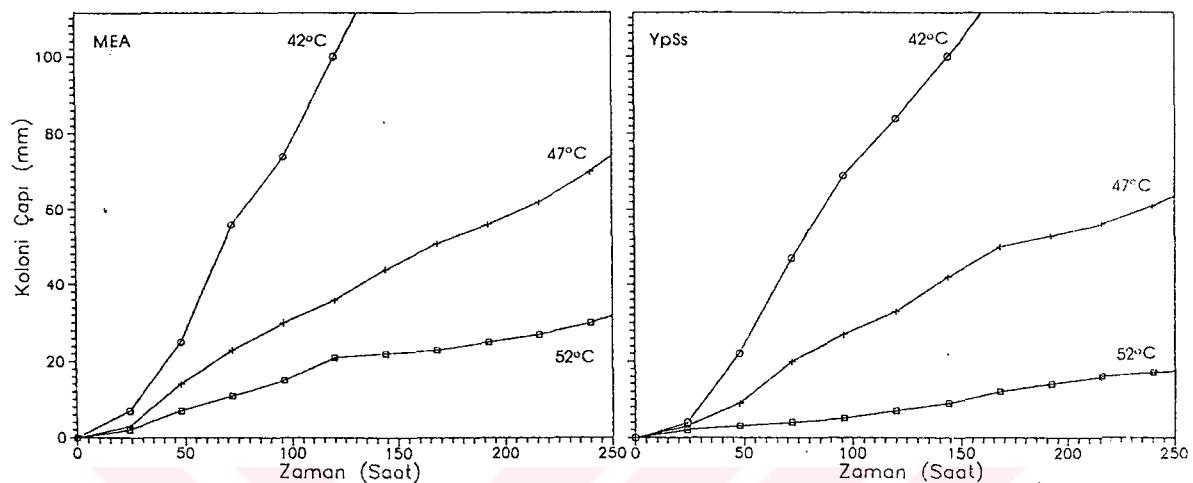
MEA besiyerinde 240 saatte, 42°C 'de 75 mm, 47°C 'de 17 mm çapında koloni yapmaktadır, 52 °C 'de ise hiç gelişme olmamakta, YpSs besiyerinde 240 saatte 42 °C 'de 70 mm, 47 °C 'de 12 mm çapında koloni yapmaktadır, 52 °C 'de ise hiçbir gelişme olmamakta (Şekil 4.15).



**Şekil 4.10 *Aspergillus fumigatus* Fresineus Genç Konidiyoforlar ve Gelişmekte Olan Fiyalidler, Konidiller, ve Vesiküler**



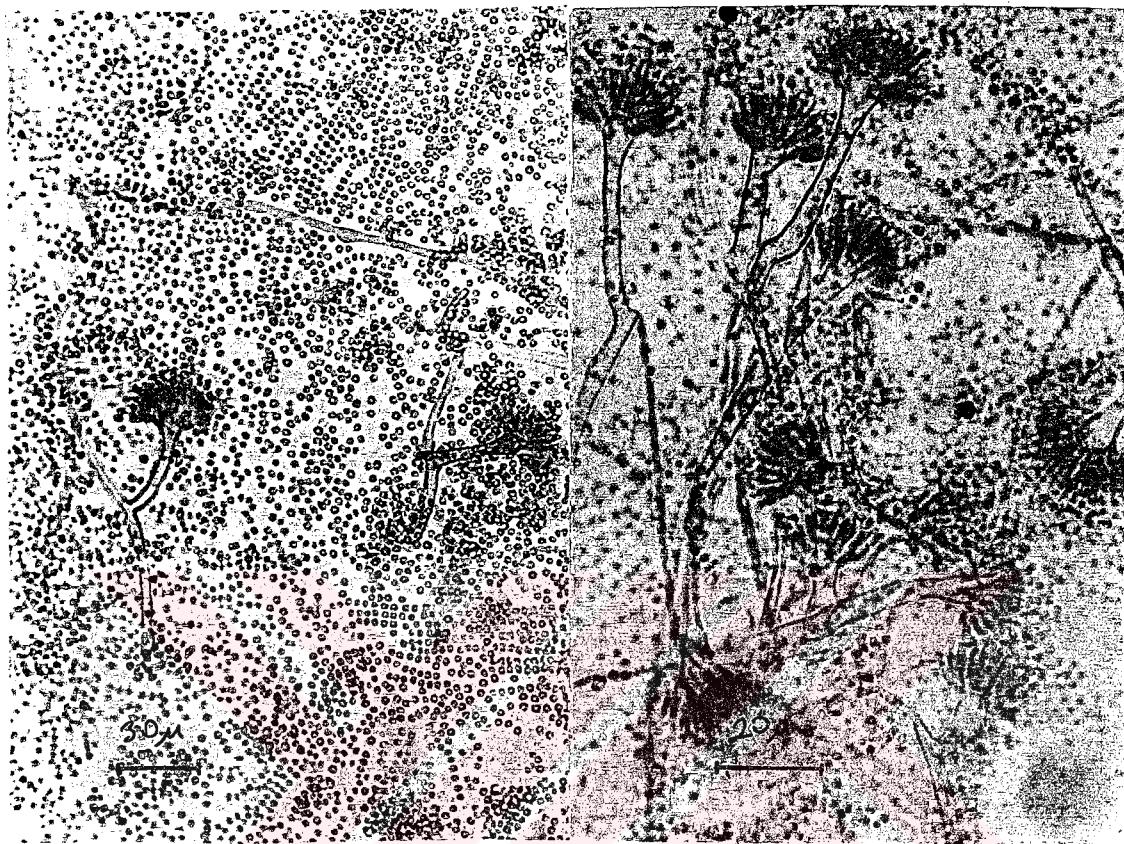
**Şekil 4.11 MEA Besiyerinde *Aspergillus fumigatus* Fresineus 'un 5 günlük Kolonisi**



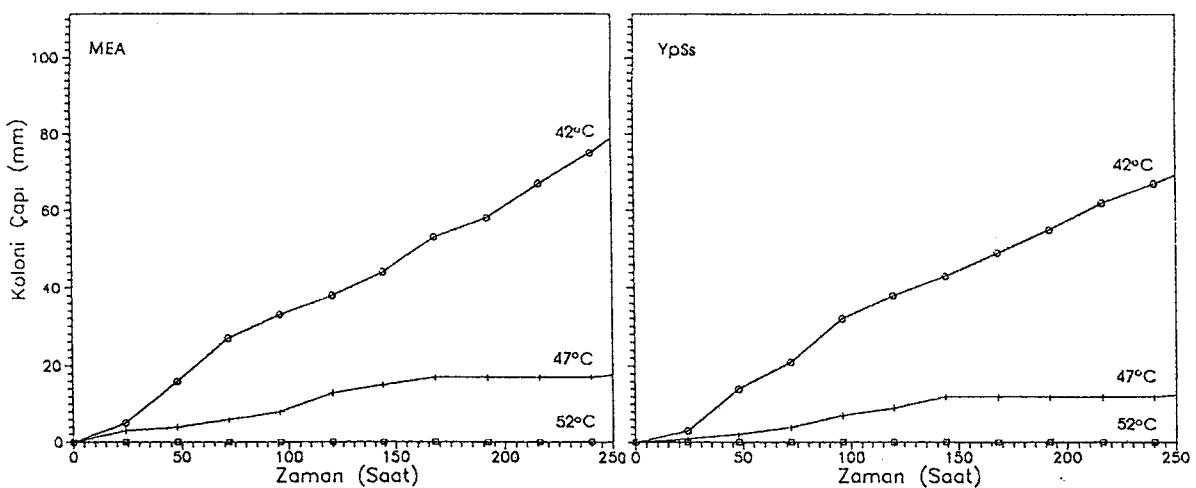
**Şekil 4.12** MEA ve YpSs Agar Besiyerinde *Aspergillus fumigatus* Fresineus 'un 42, 47 ve 52 °C 'lerdeki Gelişme Eğrileri



**Şekil 4.13** MEA Besiyerinde *Aspergillus spelaneus* Raper & Fennel 'un 7 Günlük Kolonisi



**Şekil 4.14** *Aspergillus speluneus* Raper & Fennel Konidiyofor, Vezikül, Fiyalid ve Konidiler



**Şekil 4.15** MEA ve YpSs Agar Besiyerinde *Aspergillus speluneus* Raper & Fennel 'un 42, 47 ve 52 °C 'ki Gelişme Eğrileri

***Malbranchea sulfurea* (Miehe) Sigle & Carmichael, 1976**

Syn: *Malbranchea pulchella* Saccardo & Penzig, 1882 var. *sulfurea* (Miehe) Cooney & Emerson, 1964

***Thermoidium sulfureum* Miehe, 1907**

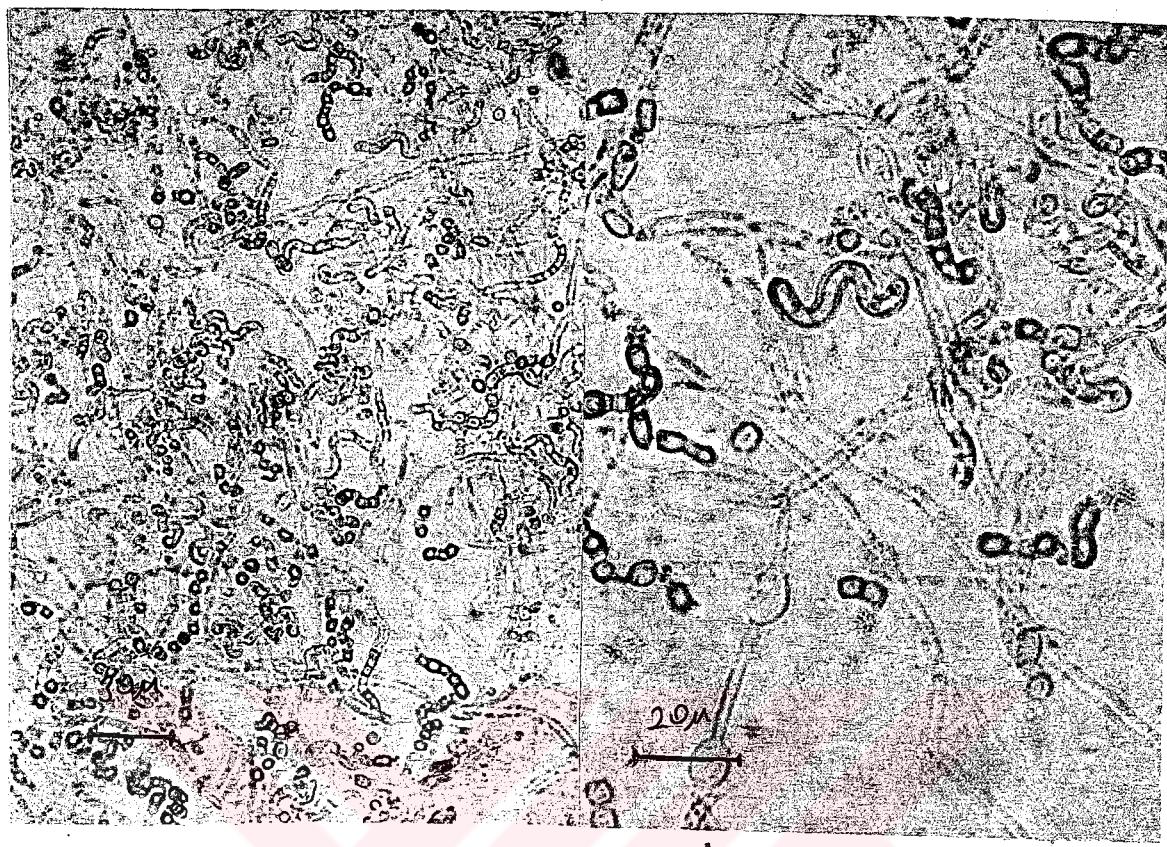
*Malbranchea bolognesii-chircoi* Vuillemin, Pollaci & Nannizi, 1925

*Malbranchea kambayashi* Kambayashi, 1934

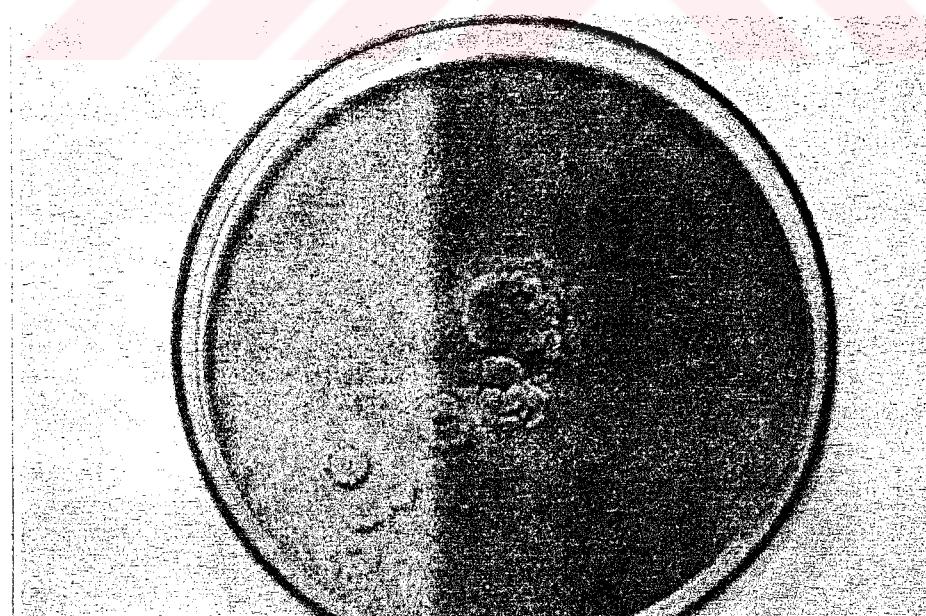
*Actinomyces bolognesii-chircoi* (Vuillemin et al.) Dodge, 1935

MEA besiyerinde 37 °C 'de bir haftada 5-6 cm çapında koloni yapmakta, koloni yüzeyi merkezde derin deve tüyü, kahverengi, çevreye doğru parlak kükürt sarısı tonlarında, koloni yüzeyinde irili ufaklı parlak sarı renkte öz su oluşmaktadır, koloni altı merkezde koyu kahverengi, kenarlarda ise şarap kırmızısı renginde, agar ortamına kuvvetli şekilde kırmızı pigment geçiş olmaktadır, hifler bölmelerin bulunduğu yerlerde şişkinlikler göstermekte, hiflerin uçları kıvrımlı hale gelmekte ve sıkbölmeli, bu şekildeki hiflerin uçları küçük halkalar veya kısa helozonlar şeklinde kıvrılmaktadır, hif uçlarından artrokonidiler gelişmekte artrokonidiler 5-8x3.0-4.0 °C ölçülerinde, subsilindirik, bazen hif kıvrık veya düzensiz şekilli, soluk sarı renkte veya hemen tamamen renksiz (Şekil 4.16, 4.17)

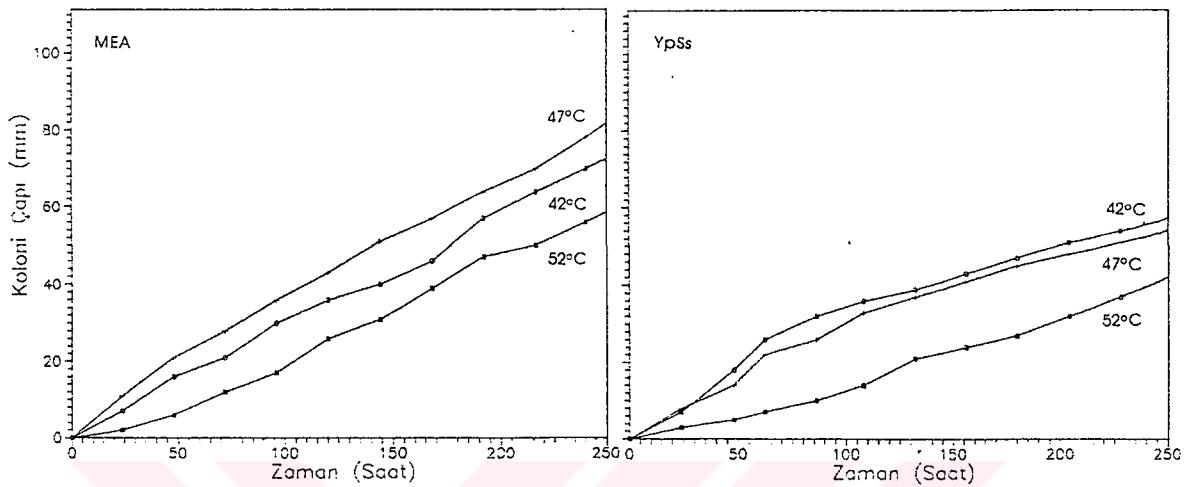
MEA besiyerinde 240 saatte 42 °C 'de 70 mm, 47 °C 'de 78 mm, ve 52°C 'de ise 56 mm çapında koloni yapmaktadır, YpSs agar besiyerinde ise 240 saatte 42 °C 'de 60 mm, 47 °C 'de 54 mm, 52 °C 'de ise 37 mm çapında koloni yapmaktadır (Şekil 4.18).



**Şekil 4.16** *Malbranchea sulfurea* (Miehe) Sigler & Carmichael a.ve b. Artrakonidilerin Hif Uçları (Oklar, kangal şeklinde kıvrılmış hif uçlarını göstermektedir )



**Şekil 4.17** MEA Besiyerinde *Malbranchea sulfurea* ( Miehe ) Sigler & Carmichael 'in Genç Kolonisi



**Şekil 4.18** MEA ve YpSs Ağar Besiyerinde *Malbranchea sulfurea* (Miehe) Sigler & Carmichael 'ın 42, 47 ve 52 °C 'deki Gelişme Eğrileri

#### *Gliomastix sp.*

MEA besiyerinde 37 °C 'de on günde petri kabını doldurmaktır. Önceleri sporlanma zayıf ve beyaz-pembe, koloni altı pembe-kahverengi, aşırı derecede hif iplikleri oluşmaktadır, sporlanma zayıf gün ışığında inkubasyon sonucu teşvik olmaktadır, koloni sporlanma sonucu yeşilimsi-siyah olmaktadır, hifler şeffaf, 0.7-4.0  $\mu$  genişlikte, fiyaloforların üzerinde fiyalitler bulunmaktadır, düz veya dalgalı , şeffaf , seyrek şekilde pürüzlü, üçta subulat, 11-30 x 1.1-3.5  $\mu$  uç kısmında 0.7-1.3  $\mu$ , üçta küçük, koyu renkli depozit bulunabilmekte, fiyaloforlar kolay dağılan zincirler oluşturmaktadır (Şekil 4.19, 4.20).

MEA besiyerinde 240 saatte 42 °C ' de 98 mm çapında koloni oluşturmaktır , 47 °C 'de 240 saatte 18 mm çapında koloni oluşturmaktır, 52 °C 'de ise gelişmekte olmamaktır, YpSs agar besiyerinde ise 42 °C 'de 240 saatte 56 mm çapındır, 47 °C 'de 22 mm çapında koloni oluşturmaktır, 52 °C ' de ise gelişmekte olmamaktadır (Şekil 4.21).

*Myceliophthora thermophila* (Apinis) van Oorschot, 1980

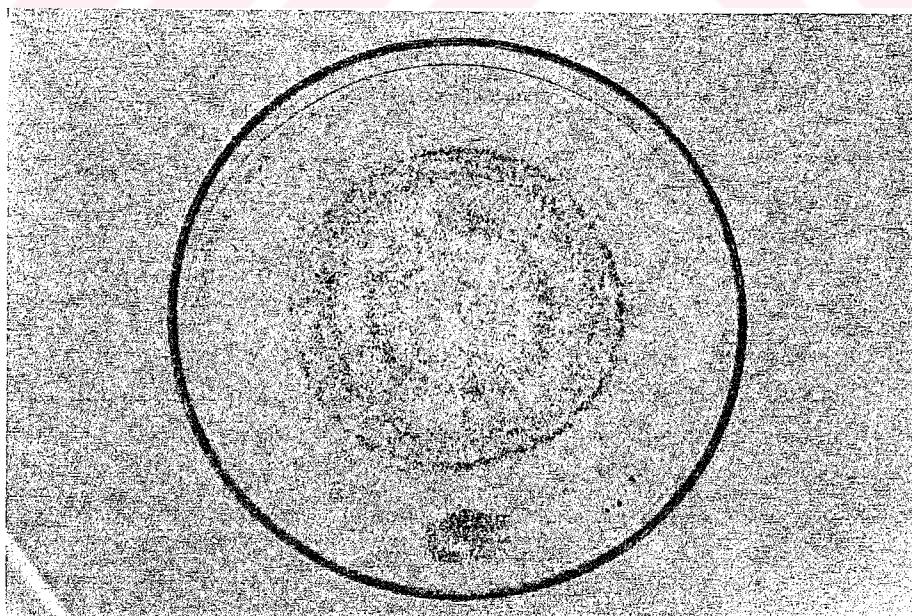
Syn: *Sporatrichum thermophilum* Apinis, 1962

*Chrysosporium thermophilum* (Apinis) v. Klopotek, 1974

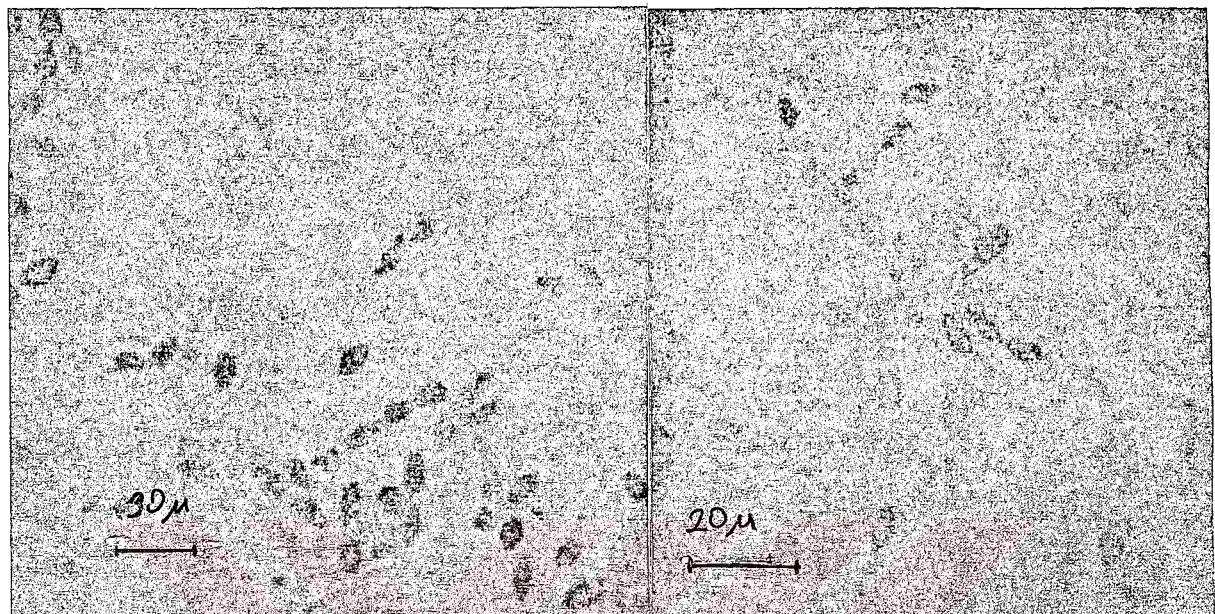
Teleomorf: *Thiavia heterothallica* V. Klopotek, 1976

MEA besiyerinde 37 °C 'de üç günde 7-8 cm çapında koloni oluşturmaktır, fulukkızıtozlu, tarçın renginde, seyrek görünen, koloni altı benzer renklerde, konidiler bol miktarda gelişmekte, hafif şişkin konidiyojen hücreler üzerinde terminal veya lateral olarak tek veya rastgele sıralar halinde gelişmekte, bazen sekonder konidiler var, bunlar düzensiz kümeler oluşturmaktır, konidiler ovat-priform, tabanları trunkat, pürüzlü, bazen düz çeperli, soluk koyu kahverengi 5-8(-10)x3-5  $\mu$  ölçülerinde, heterotallik olduğundan askomalar gözlenmedi (Şekil 4.22, 4.23).

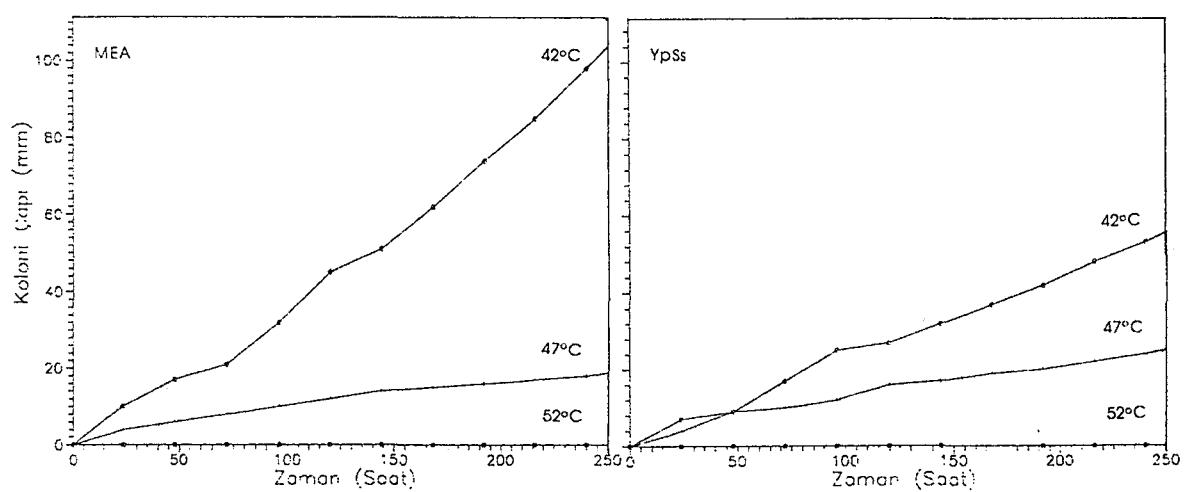
MEA besiyerinde 42 °C 'de 96 saatte, 47 °C 'de 210 saatte Petrikabını doldurmakta, 52 °C'de ise 240 saatte 24 mm çapında koloni yapmaktadır, YpSs agar besiyerinde 42 °C'de 120 saatte, 47 °C 'de 210 saatte Petri kabını doldurmakta, 52 °C 'de 240 saatte 15 mm çapında koloni yapmaktadır (Şekil 4.24).



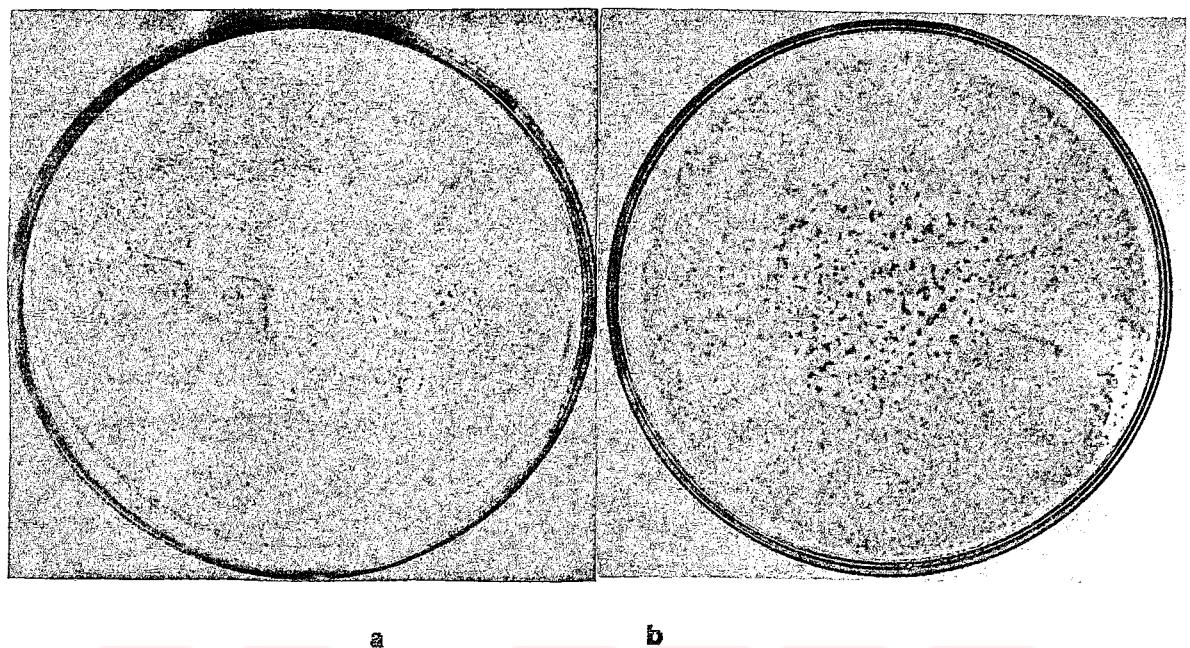
Şekil 4.19 MEA Besiyerinde *Giomastix* sp. Günlük Kolonisi



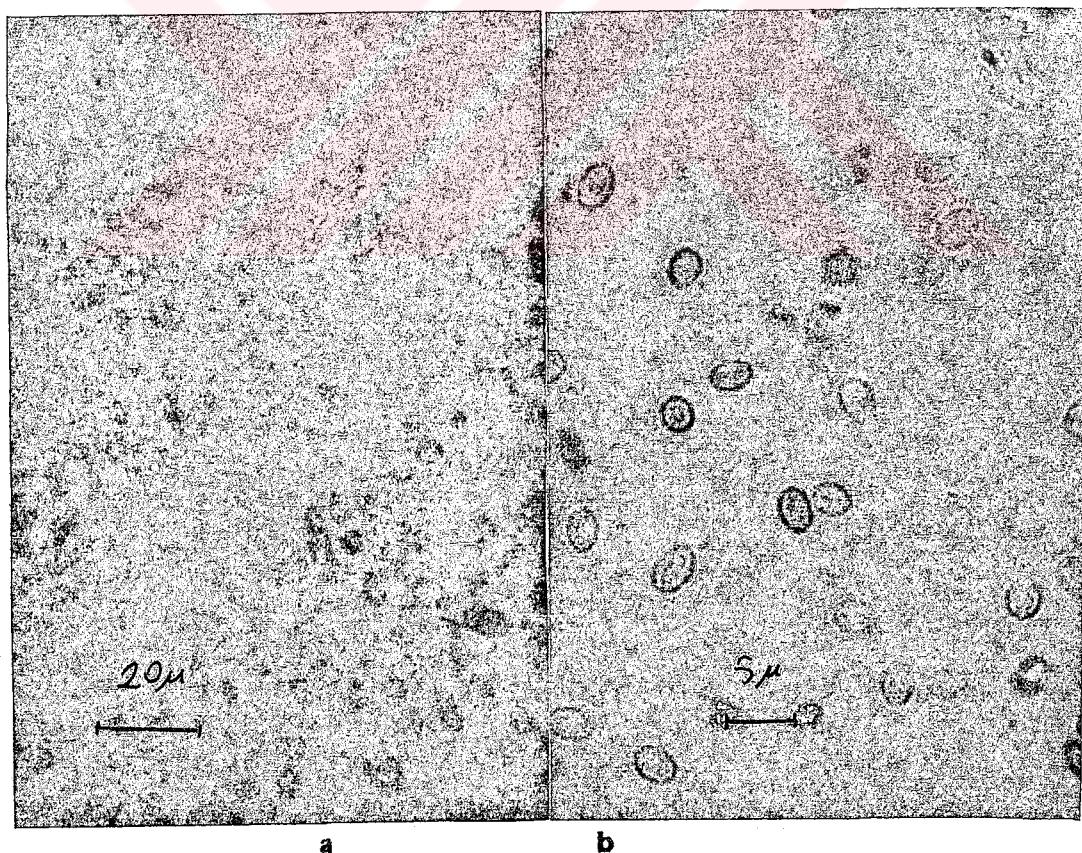
**Şekil 4.20** *Gliomastix sp.* (Fuckel) a. Konidi Hücreleri b. Konidiyojen Hücreler



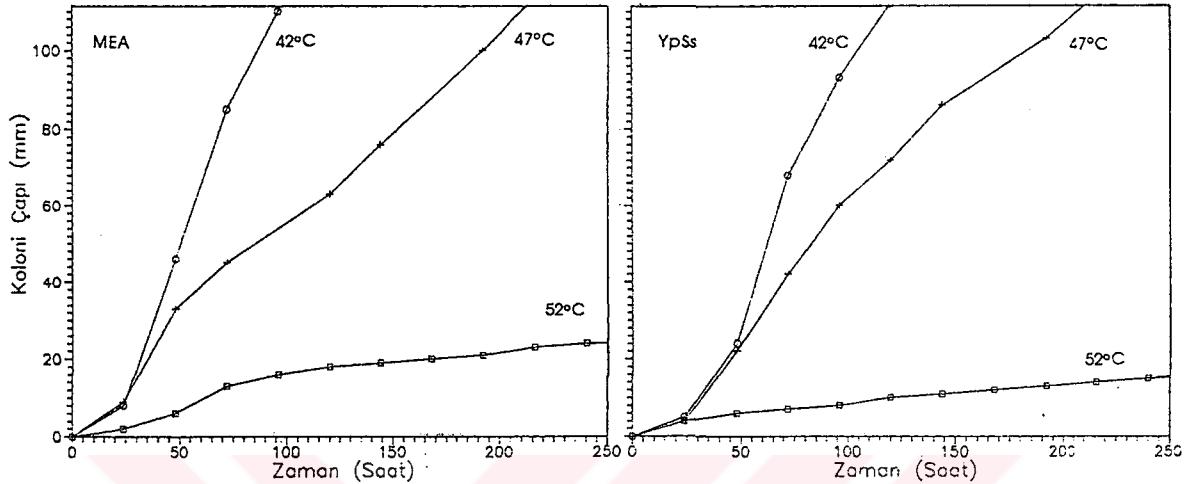
**Şekil 4.21** MEA Ve YpSs Agar Besiyerinde *Gliomastix sp.*(Fuckel) 42, 47 Ve 52 °C  
52 °C 'deki Gelişme Eğrileri



**Şekil 4.22** MEA Besiyerinde *Myceliophthora thermophila* (Apinis) van. Oorschot 'nın  
a. Genç Kolonisi b. Yaşlanmış Kolonisi



**Şekil 4.23** MEA Besiyerinde *Myceliophthora thermophila* (Apinis) van. Oorschot 'nın  
a. Konidi b. Hif, Konidiojen Hücreleri



Şekil 4.24 MEA ve YpSs Ağar Besiyerinde *Myceliophthora thermophila* (Apinis ) Van. Oorschot 'nın 42, 47 ve 52 °C 'deki Gelişme Eğrileri

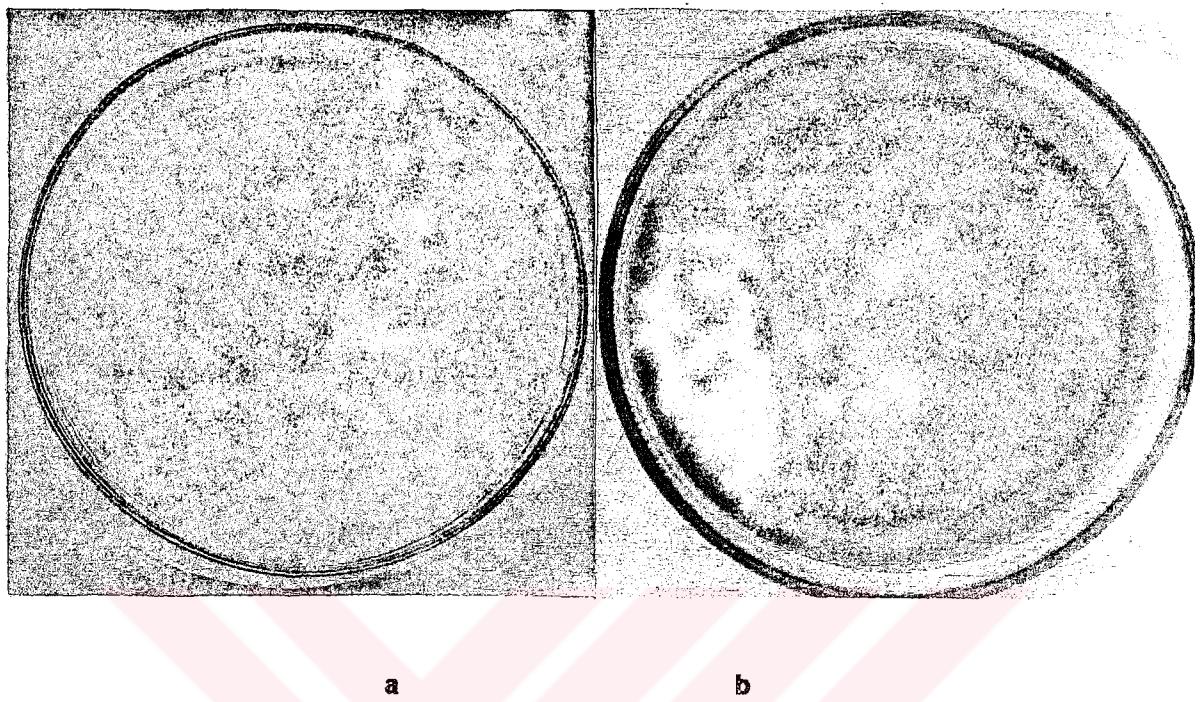
#### *Aspergillus flavipes* Grubu

##### *Aspergillus carneus* (V. Tiegh) Brochwitz, 1945

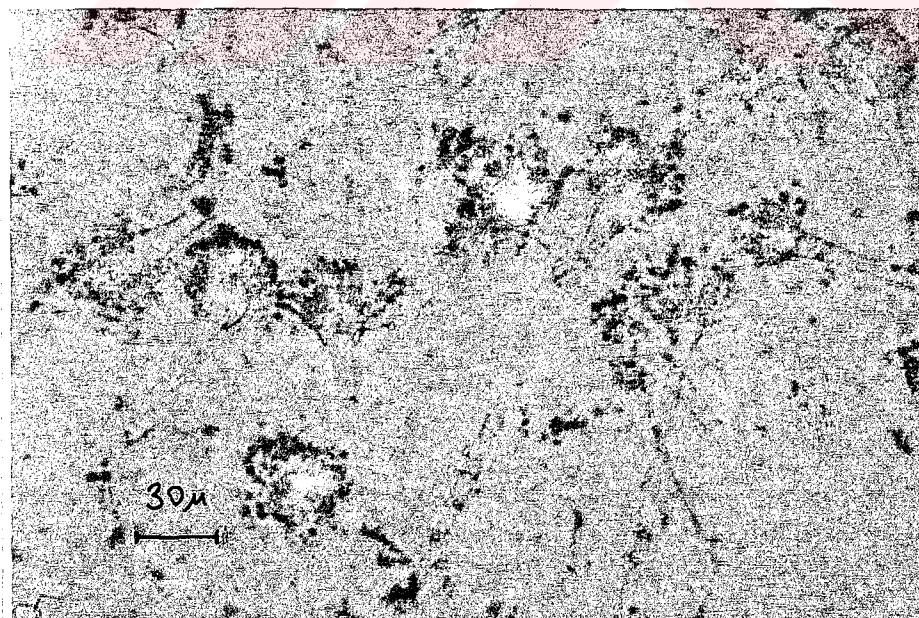
Syn: *Sterigmatocystis carnae* V.Tiegh, 1877

*Sterigmatocystis albo-rosea* Sartory, 1930

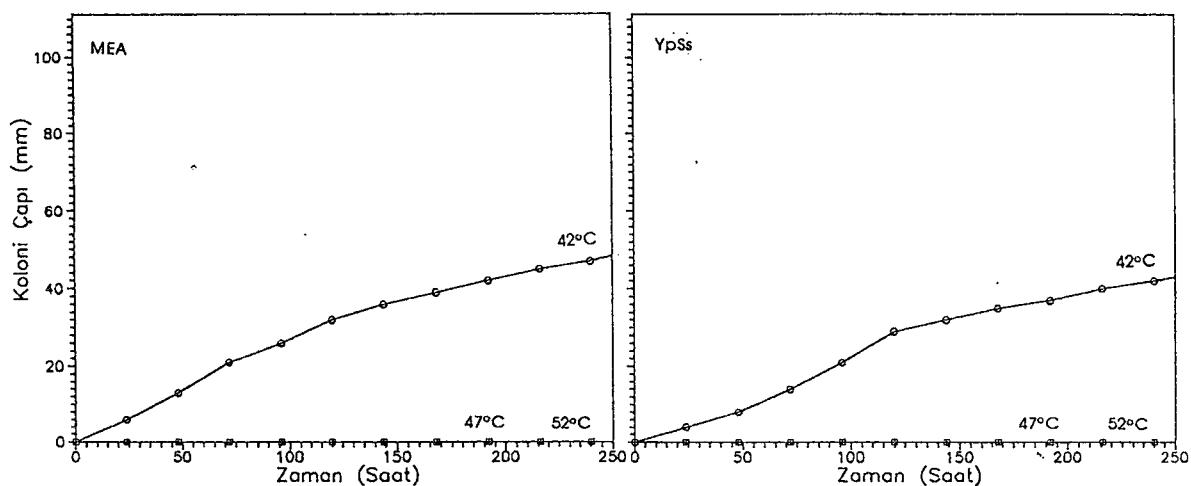
Czapek agar besiyerinde 37 °C 'de iyi gelişmekte, 10 günde 5-6 cm koloni yapmakta, düz az fulukkoz, 1-2 mm veya daha derinlikte, bol miktarda sporlanmakta, konidi yapıları hem havai hiflerden hem de batık hiflerden gelişmekte, önce beyaz, daha sonra olgun konidi başlarının gelişmesiyle soluk şarabimsı karaca tüyü renginde, koloni altı portakal veya kırmızı kahverengi, konidi başları gevşek şekilde kolumnar, 150-200x25-35  $\mu$  ölçülerinde, koloni rengiyle aynı, konidiyoforların uzunluğu değişken 250-400  $\mu$  ve ziküller küresel, 6.0-9.0  $\mu$  çapında, bazan 15  $\mu$ , sterigma iki seri, oldukça gevşek, birinci seri 5.5-6.0x2.0-2.5  $\mu$ , ikinci seri 5.0-5.5x10-2.0  $\mu$  ölçülerinde, konidiler globoz-subgloboz, ince ve düz çeperli, 2.2-2.9-8  $\mu$  çapında. Malt ekstrakt agar besiyerinde çok sınırlı gelişmekte, bunun yanısıra daha fazla sporlanmakta ve pigmentasyon daha belirgin, diğer özellikler Czapek agar besiyeriyle aynıdır (Şekil 4.25, 4.26).



Şekil 4.25 MEA Besiyerlerinde *Aspergillus carneus* ( V. Tiegh.) Blocwitz 'un a.  
5 Günlük Genç Kolonisi b.Yaşlanmış Kolonisi



Şekil 4.26 *Aspergillus carneus* ( V. Tiegh.) Blocwitz Fiyalid, Konidiyofor, ve Vesiküler



**Şekil 4.27** MEA ve YpSs Agar Besiyerinde *Aegillus cameus* ( V. Tiegh.) Blochwitz 42, 47 ve 52 °C'deki Gelişme Eğrileri

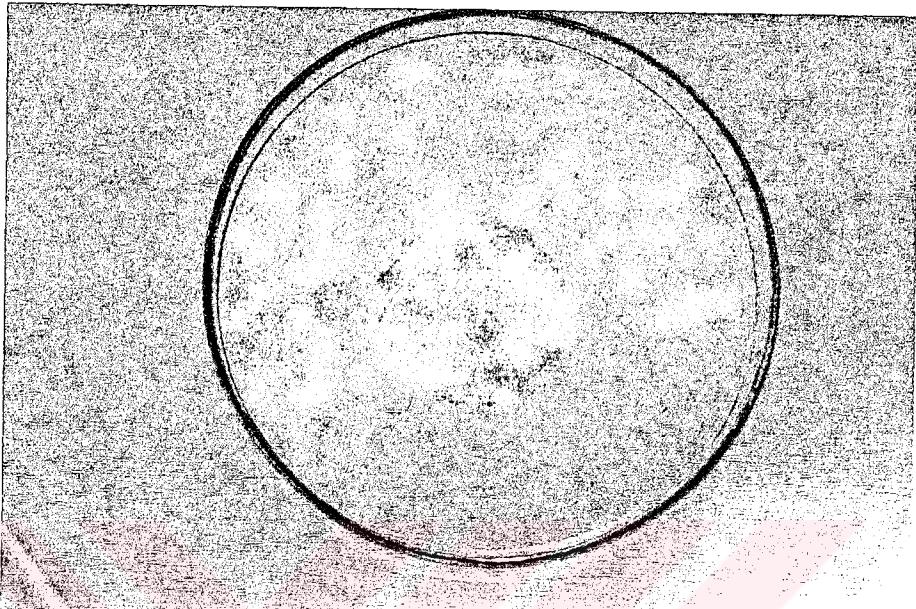
MEA besiyerinde 42 °C 'de 240 saatte 47 mm çapında koloni yapmakta, 47 ve 52 °C 'de gelişme yok, YpSs agar besiyerinde 42 °C 'de 240 saatte 42 mm çapında koloni yapmakta, 47 ve 52 °C 'de gelişme yok ( Şekil 4.27).

#### *Scytalidium thermophilum* (Cooney & Emerson) Austwick, 1976

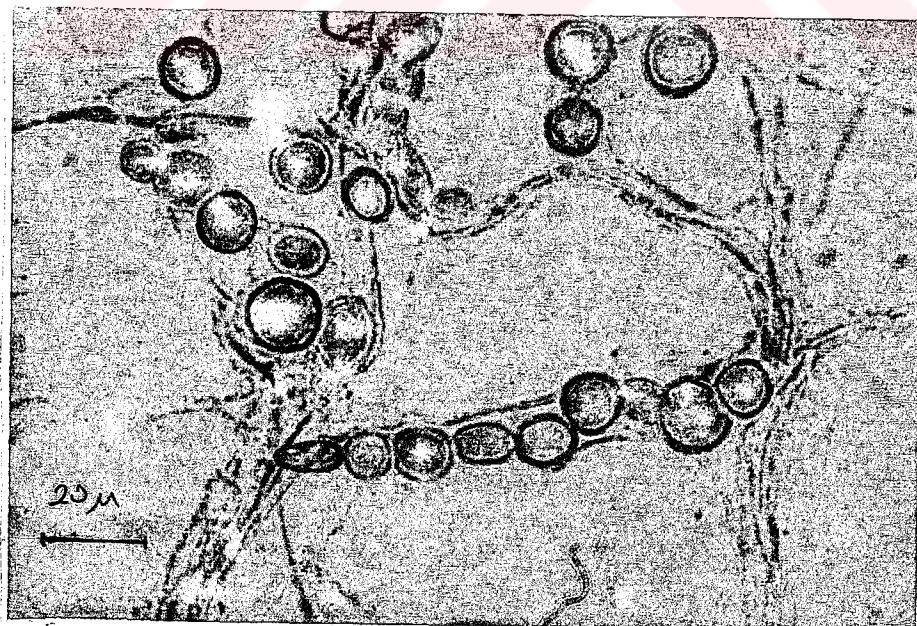
Syn: *Torula thermophila* Cooney & Emerson, 1964

MEA besiyarında 37 °C 'de 4 günde Petri kabını dolduracak şekilde koloni yapmakta, önceleri beyaz, konidilerin gelişmesi ile renk koyulmaktadır, grimsi olmakta, dahasonra dahada koyularak fare grisi, grimsi siyah olmakta, koloni altı siyah renkte, koloni yüzeyi kadifemsi, çok küçük damlacıklar halinde rensiz eksudat görülmekte, konidiler zincir şeklinde hif uçlarından interkalar şişkinlikler halinde gelişmekte, olgun konidiler küresel koyu kahverengi, düz çeperli, 8-16  $\mu$  çapında, oval şekilli konidiler ise 10-14.5x6-10  $\mu$  ölçülerinde (Şekil 4.28, 4.29, 4.30).

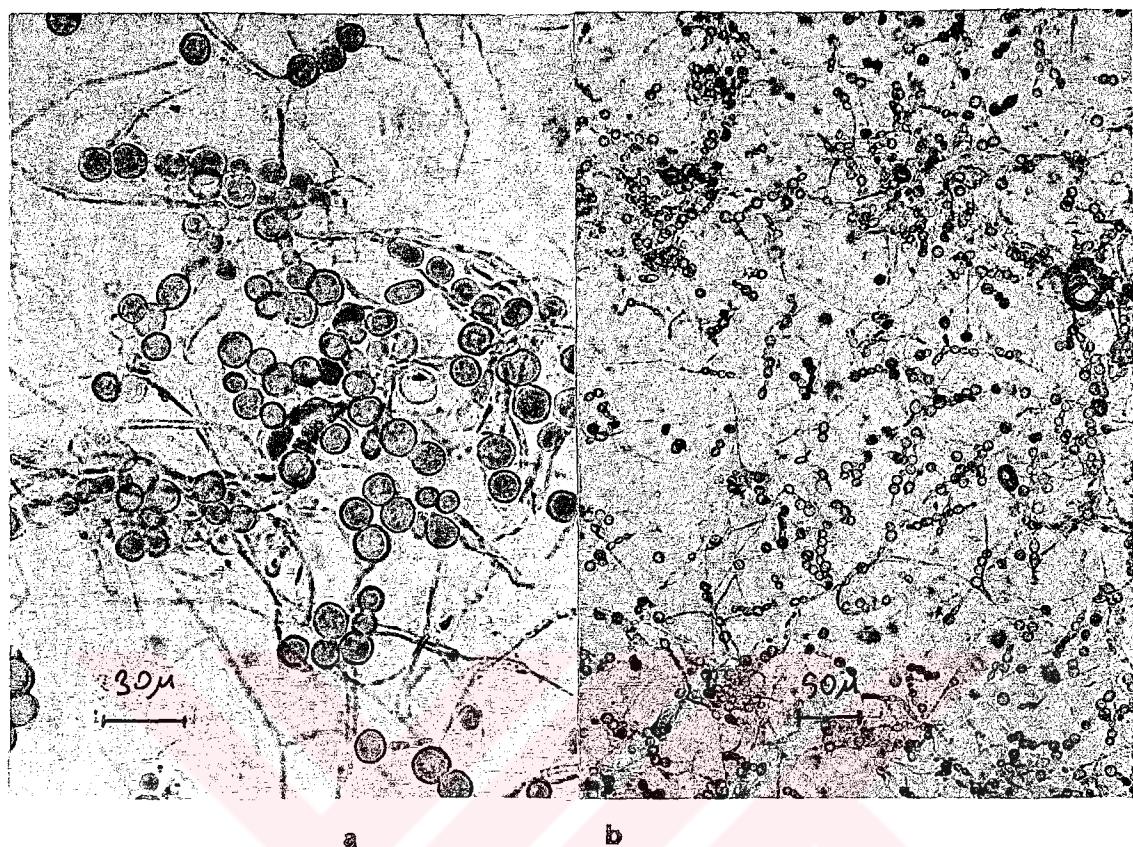
MEA besiyerinde 42 °C 'de 96 saatte, 47 °C 'de ise 144 saatte Petri kabını dolduracak şekilde koloni yapmakta, 52 °C 'de ise 240 saatte 49 mm çapında koloni yapmakta, YpSs agar besiyerinde ise 42 °C 'de 144 saatte, 47 °C 'de 150 saatte Petriyi dolduracak şekilde koloni yapmakta, 52 °C 'de ise 240 saatte 16 mm çapında koloni yapmakta (Şekil 4.31).



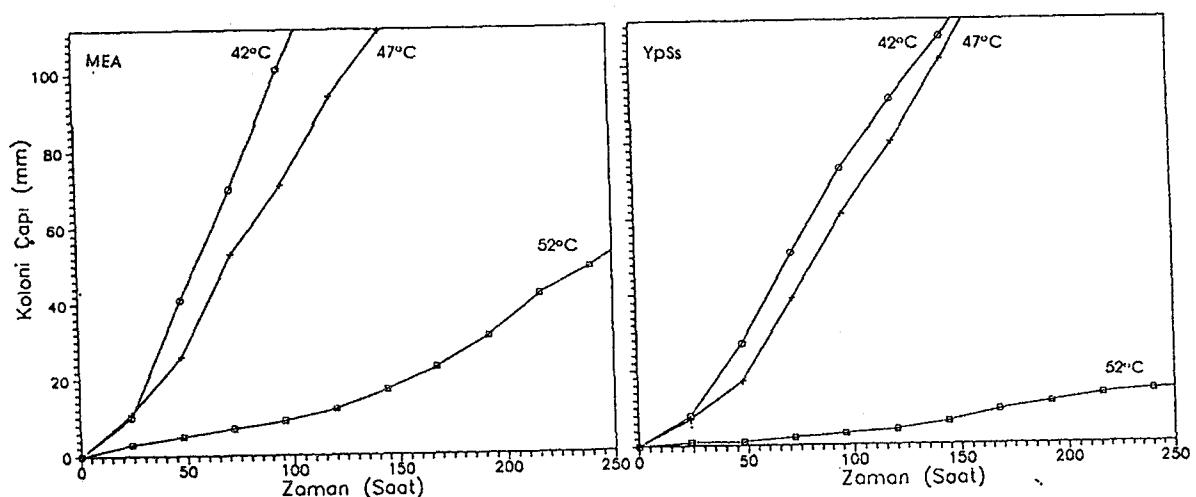
**Şekil 4.28** MEA Besiyinde *Scyphalidium thermophilum* ( Cooney & Emerson ) Austwick 'un 5 Günlük Kolonisi



**Şekil 4.29** *Scyphalidium thermophilum* ( Cooney & Emerson ) Austwick Konidiler ve Konidi Zincirleri



**Şekil 4.30** *Scytalidium thermophilum* ( Cooney & Emerson ) Austwick a. b. Çeşitli büyütmelerde Konidiler ve Konidi Zincirleri



**Şekil 4.31** MEA ve YpSs Agar Besiyerinde *Scytalidium thermophilum* ( Cooney & Emerson ) Austwick 'un 42, 47 ve 52 °C 'deki Gelişme Eğrileri

*Humicola grisea* Traaen, 1914 var. *thermoidea* Cooney & Emerson, 1964

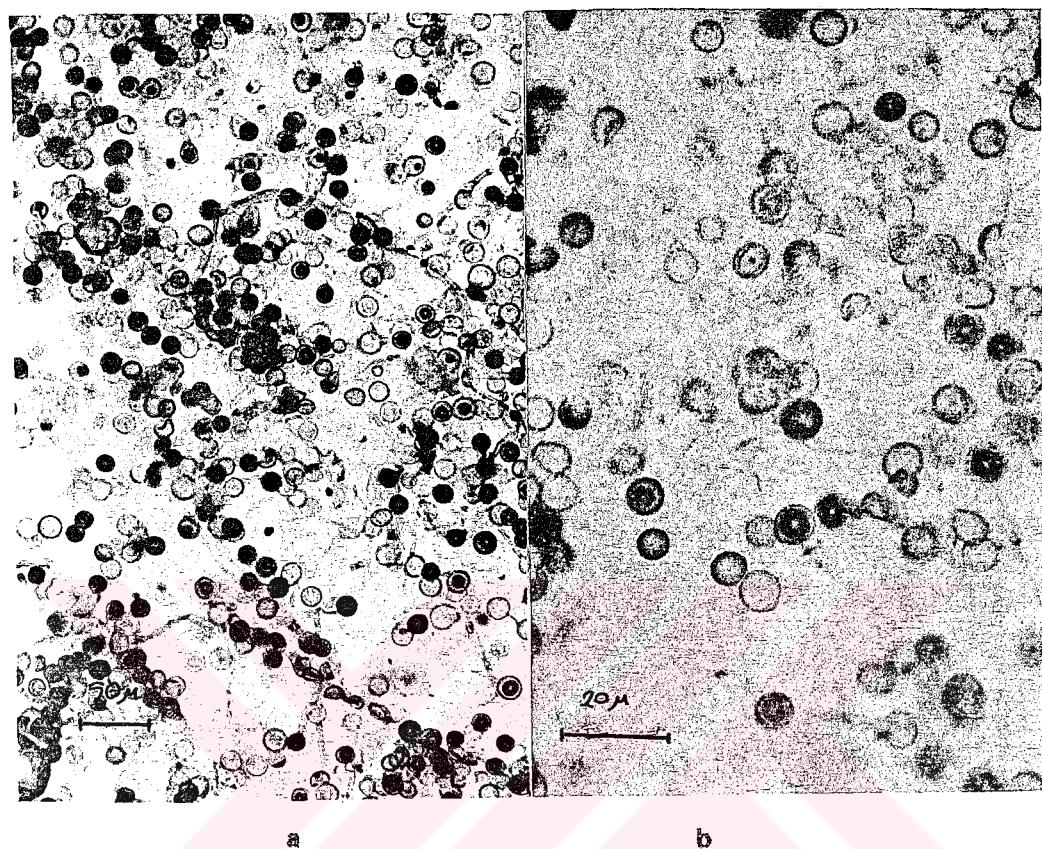
*Humicola grisea* Traaen, 1914 var. *thermoidea* Cooney & Emerson, MEA besiyerinde 37 °C 'de iki üç gün içinde Petriyi kaplamakta, önce beyaz daha sonra aleurikonidilerin oluşması grimsi olmakta, ikinci günün sonunda bütün koloni koyu bir renkte olmakta, daha sonra renk koyulaşarak donuk siyah renge dönüşmekte, koloni altı benzer şekilde renklenmekte, sporulasyon hiflere dik açılar yapan şişkinliklerden gelişmekte, daha sonra bu şişkinlikler uzayarak kısa lateral aleurikonidi haline dönüşmekte, aleurikonidiler tabanlarından bir bölme ile ayrılmakta, olgun aleurikonidilerin çeperleri kalınca, koyu kahverengi , düz çeperli, genellikle globoz, 8-15  $\mu$  çapında, bazen oval 11-15x9-12  $\mu$  ölçülerinde, konidiyoforlar 2.5-3.0  $\mu$  eninde, fiyalokonidiler görülmeli (Şekil 4.32, 4.33 ).

MEA besiyerinde 42 °C 'de 96 saatte Petri kabını doldurmaktır, 47 °C 'de 100 saatte Petriyi doldurmaktır, 52 °C 'de ise 240 saatte 104 mm çapında koloni yapmaktadır, YpSs agar besiyerinde ise 42 °C 105 saatte Petriyi doldurmaktır, 47 °C 'de 96 saatte petriyi doldurmaktır, 52 °C 'de ise 160 saatte petriyi doldurmaktır (Şekil 4.34).

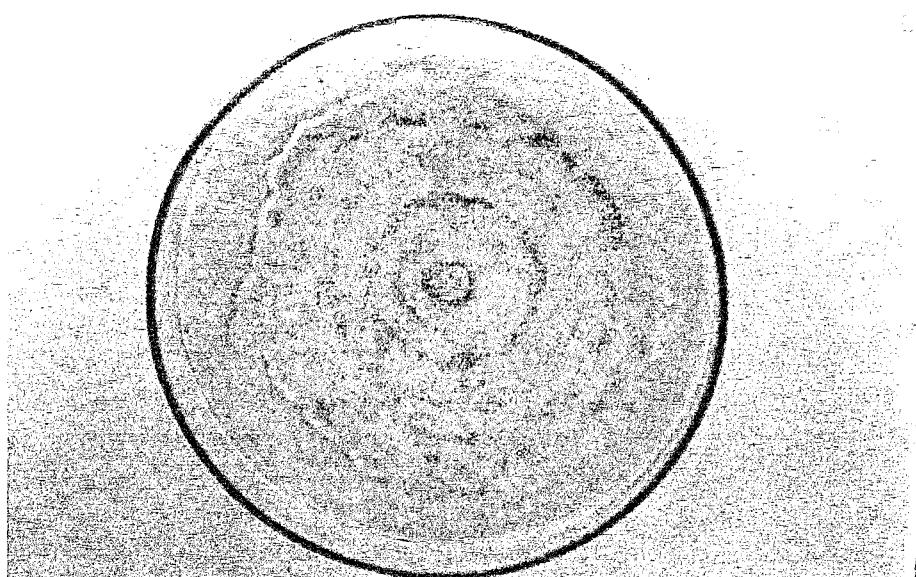
*Humicola insolens* Cooney & Emerson, 1964

MEA besiyerinde 37 °C 'de hızlı gelişmekte, önce beyaz, günlük gelişme hızı 2 cm, sporulasyon iki gün sonra başlamakta ve bunun sonucu renkte koyulasma olmakta, koloni rengi sporların olgunlaşması sonucu grimsi açık kahverengi aleurikonidiler tek tek çiftler halinde bazen de kısa zincirler halinde görülmekte, tek aleurikonidiler terminal veya kısa yandallar üzerinde gelişmekte, yeni gelişen olgunlaşmamış aleurikonidiler renksiz veya sarımsı, olgunlaşıklarında açık kahverengi olmakta, genellikle globoz veya globoza yakın 7.5-12.5  $\mu$  çapın da, interkalar ve az veya çok zincir şeklinde gelişen klamidosporlar var, 11-20x6-12  $\mu$  ölçülerinde, fiyalokonidiler yok (Şekil 4.35, 4.36).

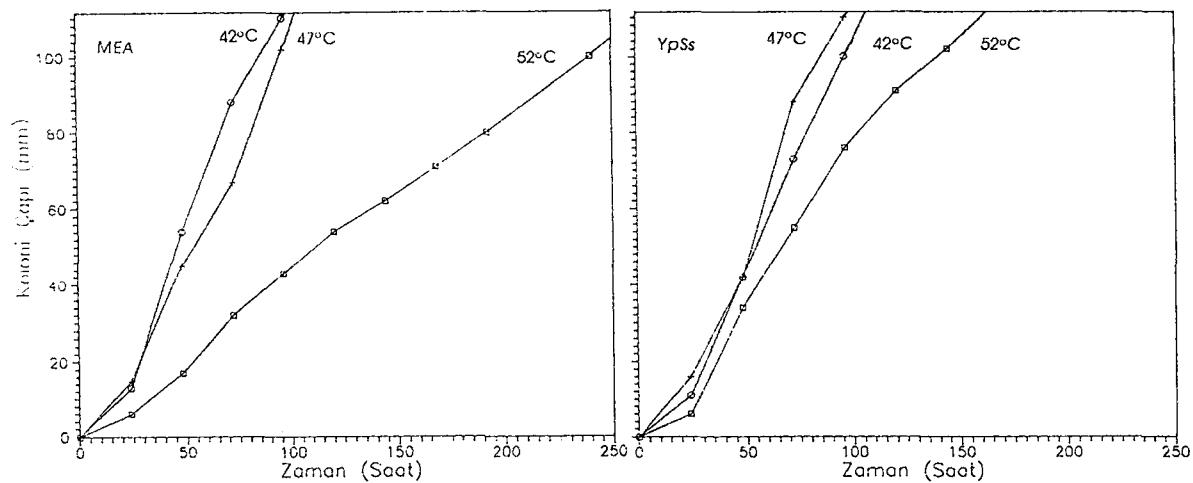
MEA besiyerinde 42 °C 'de 240 saatte 101 mm çapında koloni yapmaktadır 47 °C 'de 240 saatte 31 mm çapında koloni yapmaktadır, 52 °C 'de ise gelişme yok, YpSs agar besiyerinde ise 240 saatte 42 °C 'de 81 mm, 47 °C 'de 25 mm çapında koloni yapmaktadır, 52 °C 'de ise gelişme yok (Şekil 4.37).



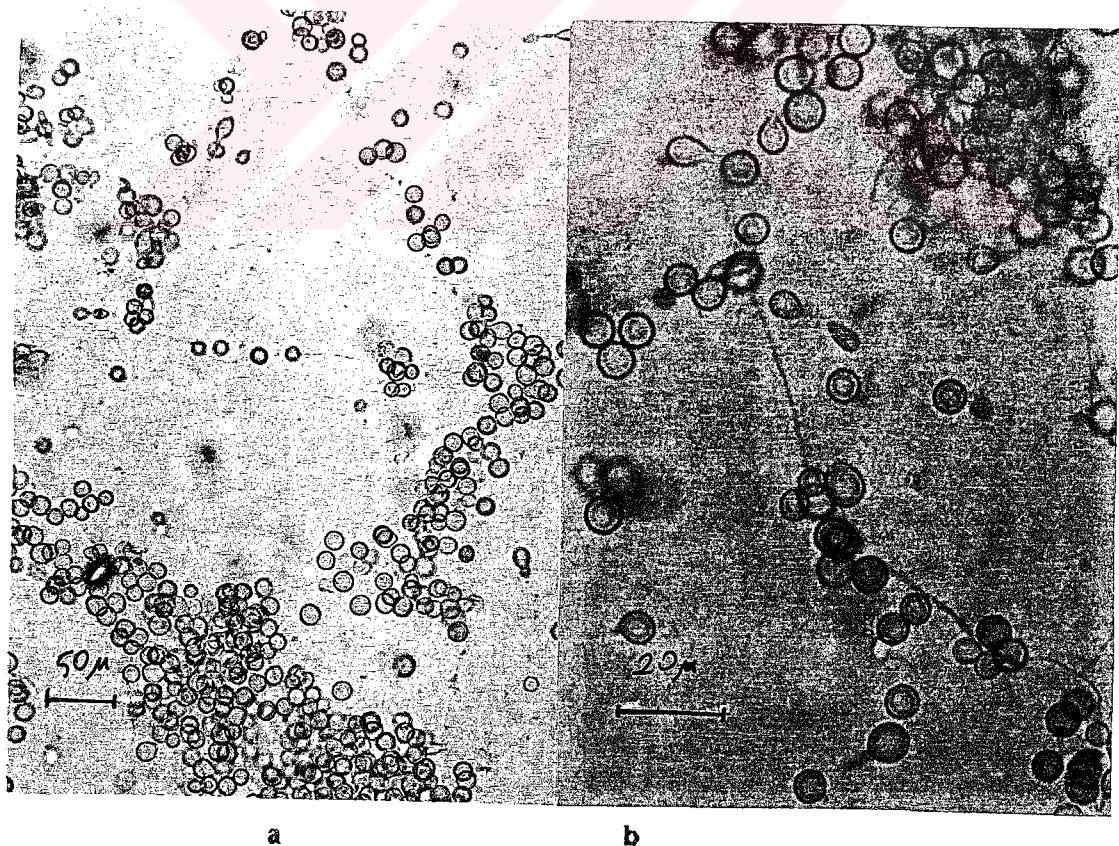
**Şekil 4.32** *Humicola grisea* Traaen var. *thermoidea* Cooney & Emerson a. ve  
b. Allerikonidiler



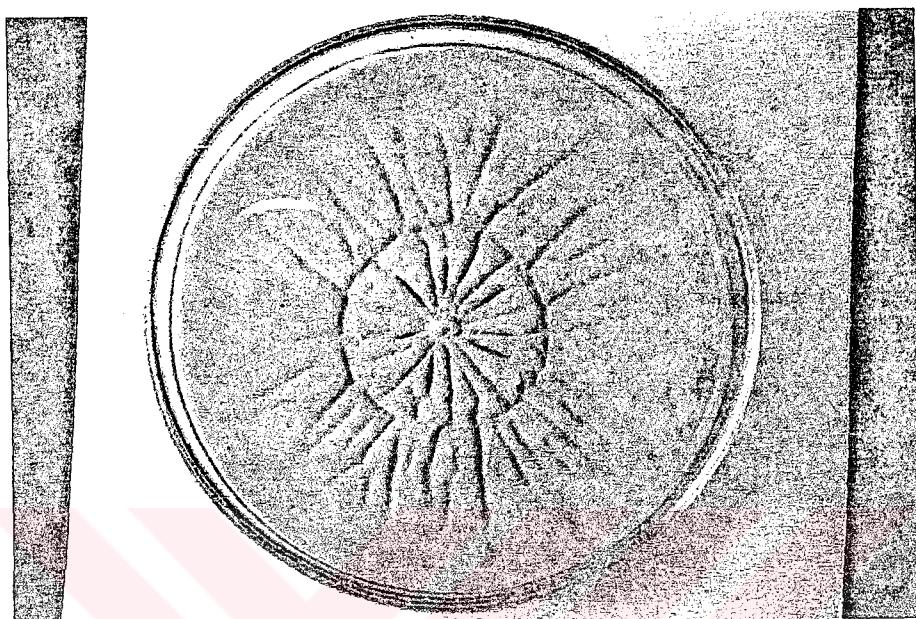
**Şekil 4.33** MEA Besiyerinde *Humicola grisea* Traaen var. *thermoidea* Cooney &  
Emerson 'nin 6 Günlük Kolonisi



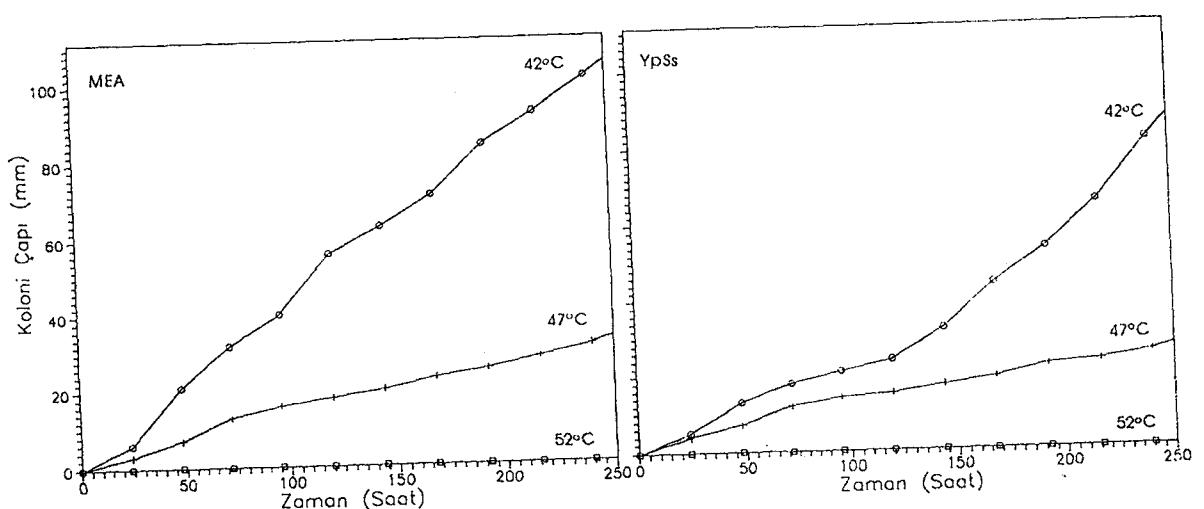
**Şekil 4.34** MEA ve YpSs Agar Besiyerinde *Humicola grisea* Traaen var. *thermoidea* Cooney & Emerson 'un 42, 47 ve 52 °C 'deki Gelişme eğrileri



**Şekil 4.35** *Humicola insolens* Cooney & Emerson a. Aleurokonidiler b.  
Hiflerin Görünümü



**Şekil 4.36** MEA Besiyerinde *Humicola insolens* Cooney & Emerson 'un Yaşlanmış Kolonisi



**Şekil 4.37** MEA ve YpSs Ağar Besiyerindek *Humicola insolens* Cooney & Emerson 'in 42, 47 ve 52 °C 'deki Gelişme Eğrileri

*Thermomyces lanuginosus* Tsiklinsky, 1899

Syn: *Sepe Denium lanuginosus* (Miehe) Griffon & Maubl, 1911

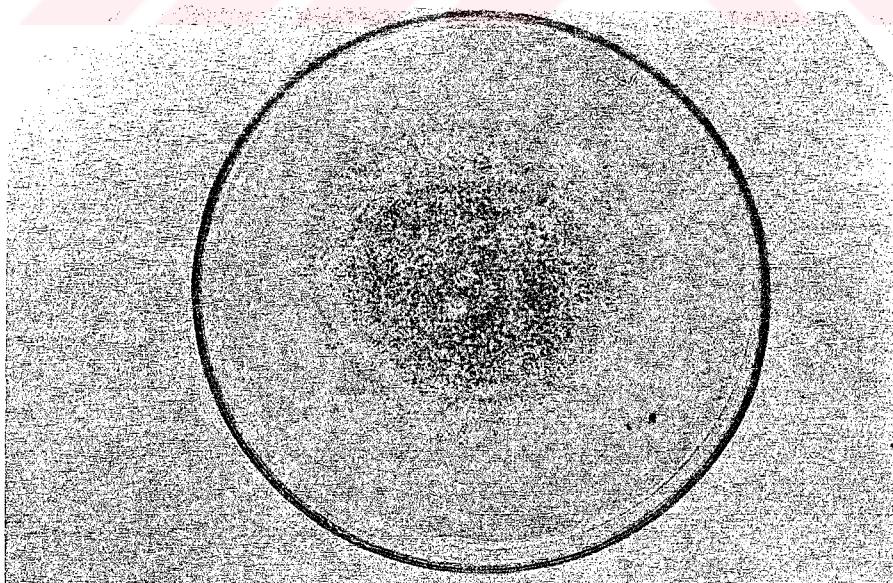
*Monotospora lanuginosa* (Griffon & Maubl) Mason, 1933

*Hunicola lanuginosa* (Griffon & Maubl) Bunce, 1961

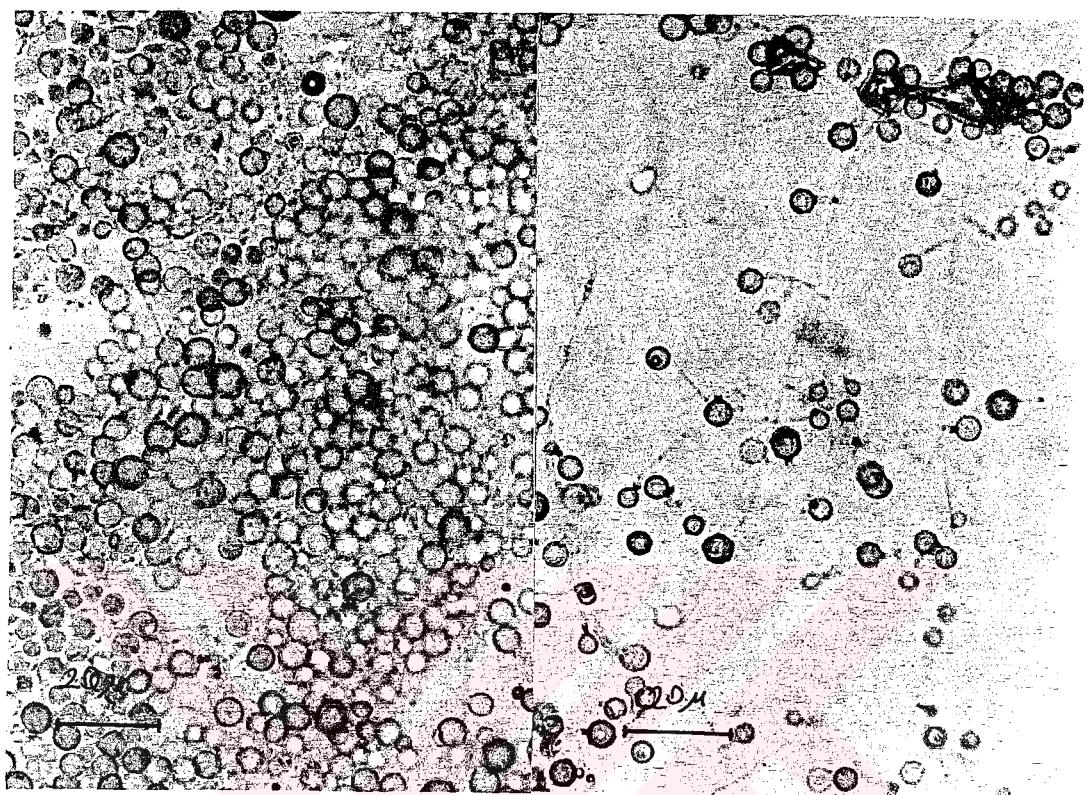
*Acromonilla thermophila* Curzi, 1929

MEA besiyerinde 37 °C 'de 5 günde Petri kabını dolduracak şekilde koloni yapmakta, önce beyaz keçemsi, daha sonra aleurikonidilerin gelişmesi ve olgunlaşması sonucu yeşilimsi gri, morumsu siyah olmaktadır, besiyerine pembe-şarabımsı renkte pigment geçiş olmaktadır, koloni yüzeyinde bol miktarda küçük ve renksiz eksudat bulunmaktadır, koloni altı koyu şarap renginde, aleurikonidiler 10-14  $\mu$  uzunlugundaki konidiyojen hücrelerden gelişmekte, bu hücreler 1.5-2.5  $\mu$  eninde, aleurikonidiler 10-14 $\mu$  uzunlugundaki küresel veya yarı küresel, kalın çeperli, siyahımsı kahverengi, kaba şekilde verrikoz, 6-9  $\mu$  çapında (Şekil 4.38, 4.39).

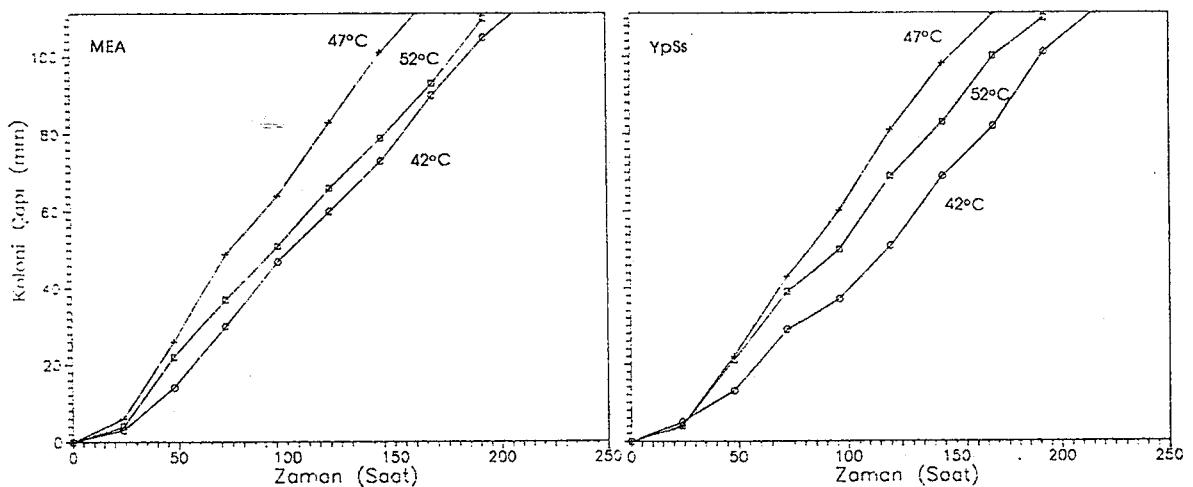
MEA besiyerinde 42 °C 'de 200 saatte, 47 °C 'de 156 saatte 52°C 'de ise 190 saatte Petri kabını doldurmaktadır, YpSs agar besiyerinde 42 °C'de 210 saatte petri kabını doldurmaktadır, 47 °C'de 170 saatte petri kabını doldururken, 52°C'de ise 195 saatte petri kabını dolduracak şekilde koloni oluşturmaktadır (Şekil 4.40).



Şekil 4.38 MEA Besiyerinde Tsiklinsky 'un *Thermomyces lanuginosus* 5 Günlük Genç Kolonisi



**Şekil 4.39** *Thermomyces lanuginosus* Tsiklinsky a. ve b. Çeşitli Büyütmelerde Aleirokonidiler



**Şekil 4.40** MEA ve YpSs Agar Besiyerinde *Thermomyces lanuginosus* Tsiklinsky 'un 42, 47 ve 52 °C 'deki Gelişme Eğrileri

## TARTIŞMA

Çalışma alanından alınan örneklerin analizinde toplam on takson ve üç steril mikrofungus elde edilmiştir. Bunlar *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus speluneus*, *Aspergillus carneus*, *Gliomastix sp*; *Thermomyces lanuginosus*, *Malbranchea sulfurea*, *Humicola grisea*, *Humicola insolens*, *Mycelophthora thermophila* ve *Scytalidium thermophilum* taksonlarıdır. Bunlardan üç tanesi *Aspergillus*, iki tanesi *Humicola* genüslerine aittir.

Cooney ve Emerson (1964) 'de maksimum, minimum ve optimum sıcaklık gelişmeleri esas olarak şu şekilde tanımlama yapmışlardır; a. bir kültürün normal veya anomal gelişip gelişmediğine her zaman kolaylıkla karar verilemez. b. maksimum ve minimum gelişme sıcaklıklarını optimuma göre kolay tespit edilir c. 20 °C 'nin altında gelişme gösteren bazı funguslar 40 °C 'nin üstünde dahi gelişme gösterebilmektedir.

Yine Cooney ve Emerson (1964) termotolerant fungusların gelişmesi için minimum 20 °C 'nin altında, maksimum ise 50 °C 'ye yakın funguslar , termofil fungusları; minimum 20 °C, maksimum ise 50°C veya üstündeki sıcaklığı gerek duyan funguslar olarak tasnif etmişlerdir.

*Aspergillus fumigatus* araştırmamızda en fazla rastlanan türdür. Bu türün sıcaklık isteği çeşitli yazarlar tarafından farklı şekilde tanımladığını görmekteyiz. Crisan (1959) termofil olarak kabul ederken, Cooney ve Emerson (1964) ise termotolerant olarak kabul etmektedir. Fakat (Fergus,1971; Tansey1971; 1973; Satyanaryana et al .,1977; Jain, et al., 1979; Sandhu et al., 1980; Min, et al 1987) bu türün termotolerant olduğunu savunmuşlardır.

Fergus (1971), bu tür için kardinal sıcaklıklarını 12-40 ve 52 °C olarak verirken ;Ward ve Cowley (1972), 20, 40-43 ve 49 °C Satyanaryana et al ., (1972) ve Vandamme, et al., (1982) 45 °C olarak vermektedir.

Yaptığımız temperatür araştırmalarında *Aspergillus fumigatus* YpSs ve PepDA agar besiyerinde ve her üç sıcaklıkta gelişme göstermiştir. En iyi gelişmeyi 42 °C 'de heriki besiyerinde göstermiştir. MEA besiyerinde 42 °C 'de 130 saatte petri kabını doldurmaktı, 47 °C'de 240 saatte 70 mm çapında koloni yaptığı, 52 °C 'de ise 240 saatte 30 mm çapında koloni yapmaktadır. YpSs agar besiyerinde 42 °C 'de 160 saatte petri kabını , 47 °C 'de 240 saatte 61

mm çapında koloni yaptığı, 52 °C 'de ise 240 saatte 14 mm çapında koloni yaptığı görülmüştür. Böylece bu türün optimum gelişme sıcaklığı 42 °C civarında olduğu söylenebilir.

*Aspergillus carneus* doğrudan ekimlerde 42 ve 47 °C 'de PepDA ve YpSs agar besiyerinde toplam on petri kabında görülmüştür. Dilüsyon Ekimlerde 42 ve 47 °C 'de gelişme görülürken 52 °C 'de hiçbir gelişmeye rastlanılmamıştır. PepDA ve YpSs agar besiyerinde temperatür araştırmalarında 47 ve 52 °C 'de hiç bir gelişme göstermemesi termotoleranslı bir fungus olduğunu göstermektedir "mesofil" "termotolerant" ve "termofil" terimleri yazarlara göre farklı tanımlanmaktadır.

Singh ve Sandhu (1986) 'da *Aspergillus carnaus* türü için kardinal sıcaklığın 15-37 ve 47 °C göstererek mikrofil olarak kabul etmişlerdir.

Apinis (1963) 48 °C 'den yukarı sıcaklıklarda gelişme gösterme ancak optimum sıcaklık isteğinin 25-35 ve 40 °C 'yi aşan mikrofungusları mikrotermofil olarak tanımlamaktadır.

Yaptığımız temperatür çalışmasında *Aspergillus carneus* MEA besiyerinde 42 °C 'de 240 saatte 47 mm çapında koloni oluştururken, 47 ve 52 °C 'de hiçbir gelişme yoktur. YpSs agar besiyerinde ise 42 °C 240 saatte 42 mm çapında koloni oluştururken 47 ve 52 °C 'de hiçbir gelişme olmamakta. Teşhis amacıyla yapılan 37 °C 'lik ekimlerde 42 °C 'ye oranla daha iyi gelişme göstermiş olması bu türün optimum gelişme sıcaklığının 42 °C 'den aşağı olduğu sonucunu vermektedir. Böylece denilebilirki, bu türün optimum gelişme sıcaklığı 37°C dir. Bu sonuç ise Singh ve Sandhu (1986) sonucunu doğrulamaktadır.

*Aspergillus speluneus* dilüsyon ekimlerinde PepDA ve YpSs agar besiyerinde 42 ve 47 °C 'de beş farklı örnekte görülmüş olup 52 °C 'de ve hiçbir gelişmeye rastlanılmamıştır. Bunun yanında doğrudan ekimlerde 42 ve 47 °C 'de sekiz farklı örnekte görülmüş olup 52 °C 'de hiçbir gelişmeye rastlanılamamıştır.

Yaptığımız temperatür çalışmalarında *Aspergillus speluneus* MEA besiyerinde 42 °C 'de 240 saatte 75 mm çapında koloni oluştururken 47 °C 'de 17 mm çapında koloni oluşturmakta ve 52 °C 'de ise hiçbir gelişme olmamaktadır. YpSs agar besiyerinde 42 °C 'de 240 saatte 70 mm çapında, 47 °C 'de 240 saatte 12 mm çapında koloni oluştururken 52 °C 'de hiçbir gelişme olmamaktadır.

*Aspergillus spelaneus* için daha önceki çalışmalara bakıldığından fazla bir bilgiye rastlanılmamakla birlikte bu fungus için termotolerant ifadesini kullanmak yerinde olacaktır.

*Humicola grisea* var. *thermoidea* PepDA ve YpSs agar besiyerlerinde dilüsyon ve doğrudan ekimlerinde her üç sıcaklıkta izole edilememiştir. Ancak doğrudan ekimlerde 42 °C 'de YpSs agar besiyerinde sadece bir petride görülmüşken PepDA besiyerinde üç petri kabında toplam 22 koloni olarak izole edilmiştir. 47 ve 52 °C 'de 42 °C 'de oranla daha fazla miktarda fungus görülmüştür

*Humicola grisea* gerçek termofil bir tür olup Cooney ve Emerson (1964) kardinal sıcaklık olarak 24, 38-46 ve 56; Fergus (1971) ise bu türün 68 °C sıcaklığı dayanabildiğini bildirmekle beraber Satyanaryana et al., (1977) türün optimum gelişme sıcaklığını 45 °C olarak vermiştir.

Yaptığımız temperatür çalışmada doğrudan ekim metodunda MEA besiyerinde 42 °C 'de 96 saatte petri kabını doldurmaktı, 47 °C 'de 100 saatte petri kabını doldurmaktı ve 52 °C 'de ise 240 saatte 104 mm çapında koloni yaptığı gözlenmiştir. YpSs agar besiyerinde 42°C 'de 105 saatte petri kabını doldururken 47 °C 'de 96 saatte ve 52 °C 'de ise 160 saatte petri kabını doldurmaktadır. Bu sonuçlardan sonra türün optimum gelişme sıcaklığı olarak 42-47 °C 'yi göstermek mümkün olacaktır.

*Humicola insolens* dilüsyon ekimlerinde hiçbir sıcaklıkta ve besiyerinde görülmemiştir. Doğrudan ekimlerde PepDA ve YpSs agar besiyeri ve her üç sıcaklıkta izole edildiği görülmektedir. Bu tür için araştırmacılar arasında farklı yorumlarla karşılaşmaktadır; Crisan (1959) tür için kardinal sıcaklığı 13, 35-45 ve 55 °C olarak gösterirken Coonney ve Emerson ise minimum gelişmenin 23 °C, maksimum gelişmenin ise 55 °C olduğunu vermektedir.

Yaptığımız temperatür çalışmalarında *Humicola insolens* MEA besi yerinde 42 °C de 240 saatte 101 mm çapında koloni yapmakta 47 °C 'de 240 saatte 31 mm çapında koloni yaparken 52 °C 'de ise hiç bir gelişme olmamaktadır. YpSs agar besiyerinde 42 °C 'de 240 saatte 81 mm çapında koloni yapmakta, 47 °C 'de 25 mm çapında koloni yaparken 52 °C 'de hiç bir gelişme olmamaktadır.

Yapılan temperatür çalışmalarında 52 °C 'de hiç bir gelişme olmasada araştırmacılar *Humicole insolens* türünü termofil funguslar sınıfına dahil etmektedirler; Coney ve Emerson

(1964), Emerson (1968), diğer bazı araştırmacılar Fergus ve Amelug (1971) ise *Humicola insolens*'in 65 °C 'ye kısa bir süre bırakıldığı halde yaşamını sürdürdüğünü ifade etmektedirler.

*Scytalidium thermophyllum* doğrudan ekimlerde sadece PepDA besiyerinde 47 °C de bir örnekte iki koloni olarak görülmüş olup, diğer hiç bir besiyeri ve sıcaklıkta gözlenmemiştir. Aynı şekilde dilüsyon ekimlerinde PepDA, YpSs agar besiyeri ve her üç sıcaklıkta gözlenmemiştir.

Yapılan çalışmalarda bu mikrofungus için kardinal sıcaklık olarak Crisan (1959), 23, 35-45 ve 58 °C olarak vermiştir.

Temperatür çalışmalarında *Scytalidium thermophyllum* MEA besiyerinde 42 °C 'de 96 saatte petri kabını doldurmaktır, 47 °C 'de 144 saatte petri kabını doldururken, 52 °C 'de 240 saatte 49 mm çapında koloni yapmaktadır. YpSs agar besiyerinde 42 °C 'de 144 saatte petri kabını doldurmaktır, 47 °C 'de 150 saatte petriyi doldururken 52 °C 'de ise 240 saatte 16 mm çapında koloni yapmaktadır. Açıklamalara dayanarak bu fungus için optimum gelişmenin 42-47 °C olduğunu söyleyebiliriz.

*Myceliophthora thermophila* doğrudan ekimlerde PepDA agar besiyerinde 52 °C'de sadece iki örnekte toplam oniki koloni görülmüş olup bunun yanında 42 ve 47 °C 'de hiçbir besiyerinde görülmemiştir. Ayrıca dilüsyon ekimlerinde hiç bir sıcaklık ve besiyerinde rastlanmamıştır.

Daha önce yapılan çalışmalarda *Myceliophthora thermophila* termofil bir tür olarak bildirilmekle birlikte Apinis (1963) soğuğa dayanıklı olma özelliğinden dolayı psikrotermofil olarak sınırlandırılmışlardır. (Tansey, 1971; Simith & Ofosu-Asiedo, 1972; Chapman, 1974; Tahakur 1977; Satyanaryana et al., 1977)

Yaptığımız araştırmada *Myceliophthora thermophila* sadece 52 °C 'de görülmüş olsada temperatür çalışmalarında 42 ve 47 °C de MEA ve YpSs agar besiyerinde oldukça iyi bir gelişme göstermiştir. MEA besiyerinde 42 °C de 96 saatte petri kabını doldururken 47 °C de 200 saatte 52 °C de ise 240 saatte 24 mm çapında koloni oluşturmaktadır. YpSs agar besiyerinde 42 °C de 120 saatte petri kabını doldurmaktır, 47 °C 'de 210 saatte, 52 °C de ise 240 saatte 15 mm çapında koloni oluşturmaktadır. *Myceliophthora thermophila*'nın optimum gelişme sıcaklığı olarak; Satyanaryana et al., (1977) 45 °C olarak verirken Singh ve Sandhu (1986) 15, 37-52 °C

sıcaklık aralığını vermektedir. Bu bilgiler ışığı doğrultusunda mikrofungusun optimum gelişme sıcaklığı olarak 42-47 °C verilebilir.

*Gliomastix sp.* doğrudan ve dilüsyon ekimlerinde PepDA ve YpSs agar besiyerlerinde toplam yedi örnekte görülmüştür. Doğrudan ekimlerde 42 ve 47 °C 'de normal bir gelişme görülürken 52 °C 'de hiçbir gelişme olmamakta. Dilüsyon ekimlerde 47 °C 'de sadece PepDA besiyerinde yirmiiki koloni görülürken 42 ve 52 °C 'de hiçbir gelişme olmamakta.

Laboratuvar çalışmalarında her ne kadar 42 °C 'de bir örnekte bulunmuş ise de temperatür çalışmalarında orta derecede bir gelişme görülmüştür. MEA besi yerinde 42 °C 'de 240 saatte 98 mm çapında, 47 °C 'de 240 saatte 23 mm çapında koloni yaparken, 52 °C 'de hiç bir gelişmeye rastlanamamıştır. YpSs agar besi yerinde 42 °C 'de 240 saatte 56 mm çapında 47 °C 'de 240 saatte 22 mm çapında koloni yaparken 52 °C 'de hiçbir gelişmeye rastlanılamamıştır. Bu sonuçlara dayanılarak türün termotolerant olduğunu söyleyebiliriz.

*Thermonyces lanuginosus* araştırmada en çok rastlanan diğer bir türdür. *Thermonyces lanuginosus* termofil olarak tanımlanan ilk tür olup bugüne kadar yapılan çalışmalarda bu türün gerçek termofil fungus olduğu gösterilmiştir. Hiç bir araştırmacı arasında termofil olup olmadığına dair itirazlara rastlanılmamıştır. Coney ve Emerson 1964; Löhr & Olsen 1969; Hashimoto et al., 1977 ise optimum sıcaklığı 45 °C olarak ifade etmektedirler.

*Thermonyces lanuginosus* doğrudan ekimlerde, dilüsyon ekimlere oranla oldukça fazla miktarda görülmüştür. Doğrudan ekimlerde 42 °C 'de sadece PepDA besiyerinde gelişmeye rastlanmamıştır. 47 ve 52 °C 'de oldukça fazla mikrofungus kolonisi görülmüştür. Dilüsyon ekimlerde 47 ve 52 °C 'de normal bir gelişme görülürken, 42 °C 'de hiçbir gelişme olmamıştır.

Temperatür araştırmasında MEA ve YpSs agar besiyerinde ve her üç sıcaklıkta oldukça iyi bir şekilde gelişme gözlenmiştir. MEA besiyerinde 42 °C 'de 200 saatte petri kabını doldurmakta, 47 °C 'de 156 saatte petri kabın doldururken 52 °C 'de ise 190 saatte petri kabını doldurmaktadır. YpSs agar besiyerinde 42 °C 'de 210 saatte petri kabını 47 °C 'de 170 saatte petri kabını doldururken 52 °C 'de ise 196 saatte petri kabını doldurmaktadır.

*Thermonyces lanuginosus* 'un gerçek termofil tür olduğu ve optimum gelişme sıcaklığının 47 °C olduğunu söylemek mümkün olacaktır.

Araştırmamızda yaygın olarak rastlanan bir diğeri ise *Malbranchea sulfurea* 'dır. Daha evvel yapılan araştırmalarda yine yaygın olarak rastlanan bir türdür. (Eiçker 1972; Eudson 1973; Kuthubuthen, 1979; Elis & Keane 1981; Abdel-Hafez, et al., 1983; Singhi & Sandhu 1986)

Dogrudan ekimlerde PepDA ve YpSs agar besiyerinde ve her üç sıcaklıkta gelişme görülmüştür. Dilüsyon ekimlerde YpSs agar besiyeri dışında tüm sıcaklık ve besiyerinde görülmüştür.

Bu tür için Crisan (1959), kardinal sıcaklık olarak 29-30, 45-46 ve 53 °C olarak verirken Cooney ve Emerson (1964) ise 26-28 °C 'de gelişme gösterdiğini optimum gelişme olarak da 45 °C 'yi bulmuşlardır. Bunun yanısıra en üst sınırları 55-57 °C olarak kaydetmiştir. Yazalar *Malbranchea sulfurea* 'nın termofil bir mikrofungus olduğunu fakat *Thermomyces lanuginosus* kadar termofiliklik göstermediğinde hemfikirdirler.

Yaptığımız temperatur araştırmalarında MEA ve YpSs agar besiyerlerinde ve tüm sıcaklıkta rastlanmıştır. MEA besiyerinde 42 °C 'de 240 saatte 70 mm çapında koloni yapmakta, 47 °C 'de 240 saatte 78 mm çapında koloni, 52 °C 'de ise 56 mm çapında koloni yaptığı görülmüştür. YpSs agar besiyerinde 42 °C 'de 240 saatte 60 mm çapında, 47 °C 'de 54 mm çapında koloni yapmakta iken, 52 °C ise 240 saatte 37 mm çapında koloni yapmaktadır. Diğer araştırmacıların da gösterdiği gibi optimum gelişme sıcaklığı 47 °C olduğunu söyleyebiliriz.

Steril I olarak adlandırılan mikrofungus PepDA ve YpSs agar besiyerinde doğrudan, dilüsyon ekimlerde ve her üç sıcaklıkta oldukça fazla miktarda gelişmiştir.

Steril II olarak adlandırılan mikrofungus PepDA ve YpSs agar besiyerinde doğrudan ekimlerde ve her üç sıcaklıkta oldukça fazla miktarda gelişmiş olmasına rağmen, dilüsyon ekimlerinde 42 ve 47 °C 'de fazla miktarda gelişmesine rağmen 52 °C'de gelişme olmamıştır.

Steril III olarak adlandırılan mikrofungus PepDA ve YpSs agar besiyerinde doğrudan ekimlerde ve her üç sıcaklıkta oldukça fazla miktarda gelişmiş olmasına rağmen, dilüsyon ekimlerde YpSs agar besiyerinde, 42 °C 'de sadece üç koloni oluştururken 47 °C 'de PepDA besiyerinde gelişme göstermiş, 52 °C 'de ise hiçbir koloniye rastlanılmamıştır.

Yapılan tüm çalışmalara rağmen kültürlerde spor veya fruktifikasyon oluşturmamıştır. Bundan dolayı taksonomik durumları hakkında fazla bir bilgi edinilememiştir. Muhtemelen

topraklarda bulunan Ascomycetes veya Basidiomycetes sınıfı mikrofunguslarından biridir. Teşhisleri yapılamadığından dolayı temperatür araştırmasının da bir anlamı olmayacağıdır.

Sonuç olarak çalışmada termotolerant olarak *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus spluneus*, *Aspergillus carneus* ve *Gliomastix sp.* termofil olarak ise *Thermomyces lanuginosus* *Malbranchea sulfurea*, *Humicola grisea*, *Humicola insolens*, *Mycelophthora thermophila* ve *Scyhalidium thermophilum* taksonları bulunmuştur.

Tokat civarındaki topraklar termofil mikroorganizmaların gelişmesi için uygun şartlar teşkil etmektedir. Elde edilen 10 tür ve varyete ve 3 steril fungus bu substratların oldukça zengin bir floraya sahip olduğunu göstermiştir.

## KAYNAKLAR

- Abdel-Fattah,H.M., Moubasher, A.H. & Abdel-Hafez, S.I.I.,1977, Mycoflora of salt marshes in Egypt, 3.Thermophilic fungi. Bull. Fac.Sci. Assiut. Univ.,6(2) 225-236.
- Abdel- Gafoure, SE., 1986, Cairo Univ., Egypt, Agricultural Research Review .59: 2, 179-196
- Abdel-Hafez, S.I.I., Abdel-Hafez, A.I.I. & Abdel-Kader, M.I.A., 1983, Composition of the fungal flora of Syrian soils 4.Thermophilic fungi. *Mycopathologia*, 81 (3) 177-181
- Apinis , A.e., 1963, Occurrence of Thermophilic microfungi in certain alluvial soils near Nothingham Nova Hedwigia, 5, 57-78
- Arx.J.A.VON(1981) The general of fungi sporulating in pure culture. 3rd Ed. J.Cramer. Vaduz. 424pp
- Awao, T. & Mitsugy, K., 1973, Notes on thermophilic fungi in Japan(1). Trans. Mycol. Soc. Jap., 14 (2) 145-160.
- Barton, C.F.1948, Photometric analysis of Phosphate rock. Ind and Eng. Chem. Anal.Ed. 20:1068-73.
- Bennett, E.A. & Fergus, C.L., 1971, The relation of extracellular amylase, mycelium ,and time, in some thermophilic and mesophilic *Humicola* species. *Mycopatol. et Mycol. appl.*, 44 (2)131-141.
- Bokhary, H.A., Sabek, A.M., Abu-Zinada, A.H. & Jow Fallatah, M.O., 1984, Thermophilic and thermotolerant fungi of arid regions of Suudi Arabia, Occurrence seasonal variation and temperatura relationships. *J.Arid Environ.*, 7 (3) 263-274.
- Butler, E.E. & Mann, M.P., 1959 Use of cellophane tape for mounting and photographing photopathogenic fungi. *Phytopath.*, 49,231-232.
- Chapman, E.S., 1974., Effect of temperature on growth rate of seven termophilic fungi. *Myocologia*, 66 (3) 542-546.

Collins, SH(1906). Sheibler's apparatus for the determination of carbonic acid in carbonates; an improved construction and use for accurate analysis. J.Soc.Chem. Ind. 25: 518-522

Cooney, D.G., & Emerson, R., 1964, Thermophilic Fungi, An account of their biology, activities and classification. W.H. Freeman an Co., San Francisco and London, p 188.

Crisan, E.V., 1959, The isolation and identification of thermophilic fungi. Unpublished M. S. thesis, purdue University, Lafayette, Ind., p 107.

Crisan, E.V., 1964, Isolation and culture of thermophilic fungi. Contrib. Boyce Thompson Inst., 22,291-301

Eicker, A., 1972, Occurrence and isolation of South African thermophilic fungi. S.Afr. J. Sci., 68, (6) 150-155.

El-Sehedi, A.A. Abdel Gafeure, S.E. 1986, Agricultural research reviev Egypt 1981 59: 2, 219-240.

El-Tobsoy Z.M. Abdel Gafeure 1981, Agricultural research reviev Egypt. 59:2,192-212

Emerson, R., 1968, Thermophiles In G.C. Ainsworth and A.S. Sussman (ed.), The Fungi Academic Press, Inc., New York, 3, p 105-128.

Evans, H.C., 1972, Thermophilous fungi isolated from the air. Trans. Br. mycol. Soc. 59 (3) 516-519.

Fergus, C.L., 1969, The cellulolytic activity of thermophilic fungi and Actinomycetes. Mycologia, 61, 1171-1175.

Fergus, C.L, & Amelung, R.M., 1971, The heat resistance of some thermophilic fungi on mushroom compost. Mycologia, 63, 426-431.

Games.W., Vander, H.A. Vander Plaast-Niterink, A.J., Samson, R.A.& Stalpers, J.A., 1987 CBS Course of mycology. Centraalbureau Voor Schimmelcultures Baarn, p137

- Griffon, H. D. et al., 1911, The genus *Cratocystis* in Ontario. Can. J. Bot. 46:689-718
- Gochermann, S. E., 1975, Distributional patterns of mesophilous and thermophilous microfungi in two Bahamian soils. Mycopathologia 57 (3) 155-164.
- Haliki, A., 1992, İzmir İli Bergama İlçesi Çevresindeki Kültürvasyon Topraklarında Bulunan Funguslar Üzerine Araştırma, Doktora Tezi, Ege Ünv., İzmir.
- Hasenekoğlu, İ., 1980, Sarkameş Çivarı Orman, Çayır ve Tarla Topraklarının Mikrofungus Florası. Doktora Tezi. Ata. Ünv. T. Bil. ve Yab. Dil. Yük. Ok., Erzurum, s., 242.
- Hasenekoğlu, İ., 1991, Toprak Mikrofungusları. Ata. Ünv. K. K. Eğt. Fak. Yay., Erzurum, 1, 2, 3,... 7.cilt.
- Hashimoto, H., Iwasa, T. & Yokotsuka, T., 1972, thermostable acid protease produced by *Penicillium dupontii* K 1014, a true thermophilic fungi newly isolated from compost, Appt. Microbial., 24 (6) 986-992.
- Hudson H. J., 1973, Thermophilous and thermotolerant fungi in the air-spora at Cambridge. Trans. Br. Mycol. Soc., 60 (3), 596-598.
- Jackson, M. (1958). Soil chemical analysis. p. 1-498. Prentice-Hall, Inc. Englewood Cliffs, New Jersey, USA.
- Jain, M. K., Kapoor, K. K. & Mishra, M. M., 1979, Cellulase activity, degradation of cellulase and lignin, and humus formation by thermophilic fungi. Trans. Br. mycol. Soc., 73 (1) 85-89.
- Kane, B. E. & Mullins, J. T., 1973, Thermophilic fungi in a municipal waste compost system. Mycologia, 65 (5) 1087-1100.
- Kuthubutheen, A. J., 1979, Thermophilic fungi associated with freshly harvested rice seeds. Trans. Br. Mycol. Soc., 73 (2) 357-359.

- Kuthubutheen, A. J., 1982a, Occurance and growt of mesophilic and thermophilic fungi in palm oil mill effluent. Trans. Br. Mycol. Soc., 77 (2) 420-423.
- Kuthubutheen, A. J., 1982b, Thermophilic fungi from Malaysia. Trans. Br. Mycol. Soc., 79 (3) 548-552.
- Löhr, E. & Olsen, J., 1969. The thermophilic fungus *Humicola lanuginosa*., Friesia, 9 (1/2) 140/141.
- Martin, J. P., 1950, Use of acid, rose bengal and streptomycin in the plate method for estimating soil fungi. Soil Sci., 69, 215-232.
- Meteoroloji Bülteni, 1984, Ortalama ekstrem sıcaklık ve yağış değerleri. Devlet Meteoroloji İşleri Genel Müdürlüğü Yay., Ankara.
- Min, K. H , Ito, T & Yokoyama, 1987, Fungal floral of paddy field in Korea, IV. Filamentous fungi isolated bay heat treatmen. Korean J. Mycol., 15 (8) 187-195.
- Minoura, K., Yakce, M., Kizima, T., & Nehira, T., 1973, Thermophilic filamentous fungi in Japan, 1. Trans. Mycol. Soc. Jpn., 14 (4) 352/361.
- Moubasher, A,H., Abdel-Hafez, S. I., Abdel-Fettah, H. M., 1982, Fungi of wheat an broad-bean straw composts ii. Thermophilic fungi Mycopathologia. 78 (3) 169-176.
- Ogundera, V. W., 1981, Degradation of Nigerian palm (*Elaeis guinensis*) products by thermophilic fungl. Trans. Br. Mycol. Soc., 77 (2) 31-36.
- Ogundera. v. W., 1981, Thermophilic fungi and fermenting cacao bianis in Nigeria. Mycopathologia, 82 (3) 159-165.
- Papavizas, G. C. & Davey, C. B., 1959, Evalutaion of various media and antimicrobial agents for isolation of soil fungi. Soil Sci., 88, 112-117.

Raper K. B. and Fennel. D. I., 1965, The genus Aspergillus-Williams Wilkins Co., Baltimore, 686 pp.

Sandhu, D. K. & Singh, S., 1981, Distribution of thermophilous microfungi in forest of Darjeeling, India (Eastern Himalayas). *Mycopathologia*, 74 (2) 79-86.

Sandhu, D. K. & Singh, S., 1985, Airborne thermophilous fungi at Amritsar, India. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 84 (19) 41-45.

Sandhu, D. K., Singh, S. & Waraich, M. K., 1980, Thermophilous fungi of decomposing sugarcane bagasse. *Can. J. Bot.*, 58, 2015-2016.

Satyanarayana, T., Tahri, B. N. & Saksena, S. B., 1977, Seasonal variation mycoflora of nesting materials of birds with special reference to thermophilic fungi. *Trans Br. Mycol. Soc.*, 68 (2).

Sethi, J. K. and Rawia, G. S., 1987, Proceeding of the India Academy of Science, Plant Sciences. 97:1, 63-73.

Singh, S. & Sandhu, D. K., 1986, Thermophilous fungi in Port Blair Sails. *Can. J. Bot.*, 64, 1018-1026.

Smith, R. S. & Ofosu-Asiedu, A., 1972, Distribution of thermophilic and thermotolerant fungi in a spruce-pinechipile. *Can. J. For. Res.*, 2 (1) 16-26.

Tansey, M. R., 1972, Effect of temperature on growth rate and development of the thermophilic fungus *Chaetomium thermophile*. *Mycologia*, 64, 1290-1299.

Tansey, M. R., 1973, Isolation of thermophilic fungi alligator nesting material. *Mycologia*, 65 (3) 594-601.

Tansey, M. R. & Jack, M. A., 1975, *Thielavia australiensis* sp. nov. a new thermophilic fungus from incubator-bird (mallee fowl) nestin material. *On. J. Bot.*, 53, 81-83.

Tansey, M. R. & Jack, M. A., 1976, Thermophilic fungi in sun-heated soils. *Mycologia*, 68 (59) 1061-1075.

Thakur, s. b., 1977, Occurrence of spores of thermophilic fungi in the air at Bombay, *Mycologia*, 69 (1) 197-199.

Vandamme, E. T., Lagghe, J. M. & Geeraerts, H. A. M., 1982, Cellulase activity of a thermophilic *Aspergillus fumigatus* (Fresenius) strain. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 32 (10) 968-974.

Walkley, A., and Black, L. A., 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Sci.* 37: 29-38.

Waksman, S. A., 1944. Three dicates with soil fungi. *Soil Sci.*, 58, 89-114.

Warcup, J. H., 1950, The soil plate method for isolation of fungi from soil. *Nature*, London, 166, 117.

Ward, J. E. & Cowley, G. T., 1972, Thermophilic fungi of some Central South Carolina forest soils. *Mycologia*, 64, 200-205.

West, P. W., and Ramachadran, T. P., 1966, Spectrophotometric determination of nitrate using chromotropic acid, *Analytical Chimica Acta* 350: 317-324.

Yeşilyurt, S., 1993, Erzurum ili sınırları içerisindeki bazı ilce ve köylerdeki ahırılarda bulunan termofil ve termotolerant funguslar Üzerine bir araştırma. Yüksek lisans tezi, Atatürk Üniversitesi, Erzurum

## **ÖZGEÇMİŞ**

1964 Keskin-Kırıkkale 'de doğdu. İlk öğrenimini Hacı Ömer Solaklısı Köyünde, Ortaokulu yurdun çeşitli illerinde, Lise öğrenimimi ise Kırıkkale Lisesi 'nde tamamladı. Daha sonra Atatürk Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünü kazandı. 1992 yılında aynı Üniversiteyi bitirdi. Eylül 1992 'de Atatürk Üniversitesi Fenbilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisansa başladı. Haziran 1993 'de Gaziosmanpaşa Üniversitesi 'nde Genel Biyoloji Anabilim Dalında Arş. Gör. olarak göreve başladı. Halen Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde görev yapmaktadır. Evli olup bir çocuk babasıdır.

**15 / 08 / 1995**

**Ibrahim TÜRKEKUL**