

T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÇEKİRDEKSİZ KURU ÜZÜMLERDEN POTANSİYEL
OKRATOKSİJENİK KÜFLERİN İZOLASYONU VE İDENTİFİKASYONU
İLE BAZI OKRATOKSİJENİK TÜRLERDE OKRATOKSİN-A
OLUŞUMUNUN ZAMANA BAĞLI OLARAK DEĞİŞİMİNİN
İNCELENMESİ

123494

DOKTORA TEZİ

TÜLİN AŞKUN

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

123494

Balıkesir, Temmuz-2002

T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ÇEKİRDEKSİZ KURU ÜZÜMLERDEN POTANSİYEL OKRATOKSİJENİK
KÜFLERİN İZOLASYONU VE İDENTİFİKASYONU İLE BAZI
OKRATOKSİJENİK TÜRLERDE OKRATOKSİN-A OLUŞUMUNUN ZAMANA
BAĞLI OLARAK DEĞİŞİMİNİN İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

TÜLİN AŞKUN

ULUSAL YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Rengin Eltem

Sınav tarihi : 30/07/2002

Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Sanver Ekmekçi (EÜ)

Prof. Dr. Rengin Eltem (Danışman-EÜ)

Prof. Dr. Gülendam Tümen (BAÜ)

Prof. Dr. İsmail Karaboz (EÜ)

Yrd. Doç.Dr. Dilek Azaz (BAÜ)

Balıkesir, Temmuz-2002

ÖZET

Çalışmamızın yapıldığı 1999-2002 yılları arasında İzmir ve Manisa yöresinde bulunan 11 farklı bölgedeki 23 bağdan toplanan, 1999 sezonuna ait, 20'si kuru üzüm, 35'i yaş üzüm olmak üzere toplam 55 üzüm örneği incelenmiştir. 55 örneğin dökme plaka yöntemi ile küf yükleri belirlendikten sonra izole edilen küflerin tanılamaları yapılmıştır. Üzümlerin küf florası belirlendikten sonra bu flora içinde yer alan potansiyel okratoksin-A üreticisi küflerden bazılarının okratoksin-A üretilip üretilmediği de incelenmiştir. Ayrıca okratoksin-A ürettiği bilinen *A. ochraceus* suşu kullanılarak okratoksin-A üretiminin zamana bağlı olarak değişimi saptanmıştır.

Laboratuvar çalışmaları sonucu 323 mikrofungus izolatu tanımlanmıştır. Tanımlanan izolatların 178'i, *Aspergillus* genusuna, 92'si *Penicillium* genusuna, 53'ü Fungi Imperfecti'nin diğer genuslarına ait olmak üzere 70 tür belirlenmiştir. Türlerin 23'ü *Aspergillus* genusuna, 39'u *Penicillium* genusuna ve 8'i Fungi Imperfecti'nin diğer genuslarına aittir. Tanımlanan 70 türün 17'si potansiyel okratoksijeniktir. Potansiyel okratoksijenik 22 suş okratoksin-A üretimi bakımından araştırılmış ve bunlardan 12'sinin 0.2-5.0 ppb arasında okratoksin-A ürettiği belirlenmiştir. *Aspergillus ochraceus* ile yapılan denemelerde okratoksin-A üretiminin 17. günde maksimum seviyeye ulaştığı saptanmıştır.

ANAHTAR SÖZCÜKLER: *Aspergillus*, *Penicillium*, Taxonomi, Okratoksin-A, Üzüm.

ABSTRACT

The period of between 1999 and 2002, totally 55 samples, 35 of fresh Sultana and 20 of raisins, from 23 vineyards in 11 different regions from Manisa and Izmir were examined in our research. After colony forming units of 55 samples were determined using Pour Plate Methods, all the isolated strains were identified. After determining microfungus flora of the vineyards, the ochratoxin-A producing capability of some of the ochratoxigenic moulds were examined. In addition, Ochratoxin-A producing capability of the strain of *Aspergillus ochraceus* depending on time factor was shown.

As a results of our research, 232 isolates were identified. It was determined that 178 of isolates belonged to the genus *Aspergillus*, 92 of isolates belonged to the genus *Penicillium* and 53 of isolates belonged to the other genera of Fungi Imperfecti. In total, 70 species were identified and 23 of which were *Aspergilli*, 39 of which were *Penicilli* and 8 of which were the other genera of Fungi Imperfecti. 17 out of 70 species were potential ochratoxigenic. 22 potential ochratoxigenic strain were studied in aspect of Ochratoxin-A producing capability and 12 out of 22 were determined as having Ochratoxin-A producing capability strains with the range of 0.2-5.0 ppb. It was also revealed that the Ochratoxin-A production level was maximum on the 17th day by *Aspergillus ochraceus*.

KEY WORDS: *Aspergillus*, *Penicillium*, Taxonomy, Ochratoxin-A, Raisin.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET, ANAHTAR SÖZCÜKLER	ii
ABSTRACT, KEY WORDS	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SEMBOL LİSTESİ	viii
ŞEKİL LİSTESİ	ix
ÇİZELGE LİSTESİ	xi
ÖNSÖZ	xii
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	5
2.1 Tarihçe	5
2.1.1 Okratoksin-A Üreticisi Küfler	5
2.1.2 Değişik Yöntemlerle Okratoksin-A 'nın Saptanması Üzerine Yapılan Çalışmalar	8
2.1.3 Tahullar Üzerinde Yapılan Çalışmalar	8
2.1.4 Kuru Üzümde Okratoksin	9
2.1.5 İnsanlarda Okratoksin-A' nın Araştırılmasına Yönelik Çalışmalar	9
2.1.6 Besinlerin Korunmasına Yönelik Çalışmalar	11
2.1.7 Okratoksin-A Toksisitesi Üzerine Yapılan Çalışmalar	12
2.2 Okratoksinin Yapısı	12
2.3 Biyokimyasal Etkileri	13
2.4 İnsanlar Üzerindeki Etkileri	13
2.5 Hayvanlar üzerindeki etkileri	15
2.6 Besinlerde okratoksin	17
2.7 Maruz Kalma	19
2.8 Tolere Edilebilir Alım Limitleri	20
2.9 Düzenleme	20
2.10 Mikotoksinlerin Kontrolü	20
2.11 Hububat ve Hububat Ürünlerinde Muhafaza Yöntemleri	21
3. MATERYAL METOT	24
3.1 MATERYAL	24
3.1.1 Üzüm Örnekleri	24
3.1.2 Yurt Dışından Getirilen Küf Suşu	29
3.1.3 Kullanılan Besi Yerleri	29
3.1.3.1 Kloramfenikol Rose-Bengal Agar	29
3.1.3.2 Malt Extract Agar	30
3.1.3.3 Czapek-Dox Agar	30
3.1.3.4 Malt Extract Broth	30
3.1.3.5 Skim Milk Besiyeri	30
3.1.3.6 Yeast Extract Sucrose Broth	31
3.1.4 Boya Çözeltisi	31

3.1.4.1	Laktofenol Pamuk Mavisini çözeltisi	31
3.1.5	<i>Kimyasal Malzemeler</i>	31
3.1.6	<i>HPLC koşulları</i>	32
3.1.7	<i>HPLC Mobil Fazı</i>	32
3.1.8	<i>Standartlar</i>	32
3.1.7.1	Okratoksin-A Stok Standardı	32
3.1.7.2	Okratoksin-A ara standardı	32
3.1.7.3	Okratoksin-A çalışma standardı-1	32
3.1.7.4	Okratoksin-A çalışma standardı-2	33
3.1.7.5	Okratoksin-A çalışma standardı-3	33
3.1.7.6	Okratoksin-A Spike Solusyonu	33
3.1.9	<i>Ekstraksiyon Solventleri</i>	33
3.1.8.1	Sodyum Bikarbonat	33
3.1.8.2	Fosfat Tuzu (PBS)	33
3.1.8.3	Metanol Çözeltisi	33
3.1.8.4	Elusyon Solventi	34
3.1.10	<i>Okratoksin-A'nın Kantitatif Saptanmasında Kullanılan Ekipman</i>	34
3.2	<i>METOT</i>	34
3.2.1	<i>Yaş Üzüm Örneklerinin Toplanması</i>	34
3.2.1.1	Yaş Üzüm Örneklerinden Küf İzolasyonu	34
3.2.2	<i>Kuru Üzüm Örneklerinin Toplanması</i>	35
4.2.2.1	Kuru Üzüm Örneklerinden Küf İzolasyonu	35
3.2.3	<i>İzole Edilen Türlerin Tanınması</i>	36
3.2.3.1	Seloteyp-Bant Metodu	37
3.2.3.2	Lam-Lamel arası inceleme Yöntemi	37
3.2.3.3	Slayt Kültür Yöntemi	37
3.2.4	<i>Kültürlerin Muhafazasında Kullanılan Yöntemler</i>	38
3.2.4.1	Derin Dondurucuda muhafaza	38
3.2.4.2	Liyofilizasyon	38
3.2.5	<i>Mikroorganizmaların Hazırlanması</i>	38
3.2.6	<i>Okratoksin-A Üretiminin Kantitatif olarak Saptanması</i>	39
3.2.6.1	Büyüme Eğrisinin Çıkarılması	39
3.2.6.2	Pirinç Üzerinde Okratoksin-A Üretiminin İncelenmesi	39
3.2.6.3	Sıvı Kültürde Okratoksin-A'nın Zamana Göre Değişiminin İncelenmesi	40
3.2.6.4	Toksin Çözeltisinin Absorbansının tayini	40
3.2.6.5	Okratoksin-A'nın Ekstraksiyonu	41
3.2.6.6	Örneğin Temizlenmesi	42
3.2.6.7	Okratoksin-A'nın Elusyonu	43
3.2.6.8	OA Spike Solusyonunun Numuneye Uygulanması	43
3.2.6.9	HPLC Miktar Tayini için Çözeltilerin Kullanıma Hazırlanması	43
3.2.7	<i>Hesaplamalar</i>	43
3.2.7.1	Ekstraksiyon Metodunun Geri Kazanım Yüzdesinin (%R) Saptanması	43

3.2.7.2	Katı Örneklerdeki Okratoksin-A miktarının hesaplanması	44
3.2.8	<i>Cam Eşyaların Temizlenmesi</i>	45
4.	BULGULAR	46
4.1	Genel Bulgular	46
4.2	<i>Araştırma Sonucunda Tanımlanan Türler</i>	61
4.2.1	<i>Aspergillus aculeatus</i> Iizuka (1953)	61
4.2.2	<i>Aspergillus auricomus</i> (Guéguen) Saito, (1939)	61
4.2.3	<i>Aspergillus awamori</i> Nakaz. (1915)	64
4.2.4	<i>Aspergillus carbonarius</i> (Bainier) Thom (1916)	66
4.2.5	<i>Aspergillus carneus</i> (V.Tiegh.) Blochwitz (1945).....	68
4.2.6	<i>Aspergillus ficuum</i> (Reich.) Hennings (1895)	70
4.2.7	<i>Aspergillus flavo-furcatis</i> Batista and Maia (1955)	71
4.2.8	<i>Aspergillus flavus</i> Link (1809)	73
4.2.9	<i>Aspergillus foetidus</i> (Naka.) Thom and Raper (1945)	75
4.2.10	<i>Aspergillus foetidus</i> var. <i>pallidus</i> Naka., Simo and Wat	78
4.2.11	<i>Aspergillus foetidus</i> var. <i>acidus</i> Naka, Simo and Wat	78
4.2.12	<i>Aspergillus heteromorphus</i> Batista veMaia (1957).....	81
4.2.13	<i>Aspergillus japonicus</i> Saito (1906).....	84
4.2.14	<i>Aspergillus niger</i> Van Tieghem (1867).....	84
4.2.15	<i>Aspergillus ochraceus</i> Wilhelm (1877)	87
4.2.16	<i>Aspergillus olivaceo-fuscus</i> , Mosseray	89
4.2.17	<i>Aspergillus parasiticus</i> Speare (1912)	92
4.2.18	<i>Aspergillus petrakii</i> Vörös (1957)	92
4.2.19	<i>Aspergillus phoenicis</i> Thom (1926).....	94
4.2.20	<i>Aspergillus pulverulantis</i> (Mc Alpine) Thom (1926)	96
4.2.21	<i>Aspergillus sclerotiorum</i> Huber (1933)	97
4.2.22	<i>Aspergillus tubingensis</i> (Schöiber) Mosseray (1934)	99
4.2.23	<i>Aspergillus versicolor</i> (Vuill.) Tiraboschi (1926).....	101
4.2.24	<i>Penicillium brevi-compactum</i> Dierckx (1901).....	103
4.2.25	<i>Penicillium camemberti</i> Thom (1906).....	106
4.2.26	<i>Penicillium canescens</i> Sopp (1912).....	106
4.2.27	<i>Penicillium carneo-lutescens</i> Smith (1939)	109
4.2.28	<i>Penicillium casei</i> Staub. (1930).....	109
4.2.29	<i>Penicillium commune</i> Thom (1930)	112
4.2.30	<i>Penicillium charlesii</i> Smith (1933).....	112
4.2.31	<i>Penicillium chrysogenum</i> Thom (1930).....	114
4.2.32	<i>Penicillium citrinum</i> Thom (1910)	115
4.2.33	<i>Penicillium corimbiferum</i> Westling (1911).....	117
4.2.34	<i>Penicillium crustosum</i> Thom (1930)	120
4.2.35	<i>Penicillium cyaneo-fulvum</i> Biourge (1921).....	121
4.2.36	<i>Penicillium cyclopium</i> Westling (1930).....	123
4.2.37	<i>Penicillium decumbens</i> Thom (1910)	124
4.2.38	<i>Penicillium duclauxi</i> Delacroix (1891).....	125
4.2.39	<i>Penicillium expansum</i> Link (1809).....	126
4.2.40	<i>Penicillium fagi</i> Martinez ve Ramirez (1978)	129
4.2.41	<i>Penicillium funiculosum</i> Thom (1910)	129
4.2.42	<i>Penicillium granulatum</i> Bainier (1905)	131
4.2.43	<i>Penicillium islandicum</i> Sopp (1912).....	134
4.2.44	<i>Penicillium janthinellum</i> Biourge (1923).....	134
4.2.45	<i>Penicillium lanoso-griseum</i> Thom (1930)	137
4.2.46	<i>Penicillium martensii</i> Biourge (1930).....	137
4.2.47	<i>Penicillium melanigrum</i> Biourge (1923).....	140
4.2.48	<i>Penicillium notatum</i> Westling (1923).....	140
4.2.49	<i>Penicillium olivino-viride</i> Biourge (1923).....	143
4.2.50	<i>Penicillium oxalicum</i> Currie ve Thom (1915).....	143
4.2.51	<i>Penicillium palitans</i> Westling (1930).....	146

4.2.52	<i>Penicillium puberulum</i> Bainier (1907).....	146
4.2.53	<i>Penicillium roseo-purpureum</i> Dierckx (1901)	151
4.2.54	<i>Penicillium rubrum</i> Stoll (1904).....	151
4.2.55	<i>Penicillium rugulosum</i> Thom (1910).....	154
4.2.56	<i>Penicillium solitum</i> Westling (1911)	157
4.2.57	<i>Penicillium soppii</i> Zaleski (1927).....	157
4.2.58	<i>Penicillium stoloniferum</i> Thom (1910).....	160
4.2.59	<i>Penicillium tardum</i> Thom (1930)	160
4.2.60	<i>Penicillium variabile</i> Sopp (1933).....	163
4.2.61	<i>Penicillium varians</i> Smith (1933).....	163
4.2.62	<i>Penicillium viridicatum</i> Thom (1911).....	166
4.2.63	<i>Acremonium tubakii</i> Gams (1971).....	167
4.2.64	<i>Alternaria alternata</i> (Fr) Keissler (1912).....	168
4.2.65	<i>Alternaria pluriseptata</i> (Karst. veHar.)Jorstad.....	171
4.2.66	<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fres.) de Viries (1952).....	171
4.2.67	<i>Cladosporium herbarium</i> (Pers) Link ex S.F. Gray (1821).....	172
4.2.68	<i>Fusarium javanicum</i> Koord	175
4.2.69	<i>Mucor circinelloides f. circinelloides</i> van Tieg.....	175
4.2.70	<i>Rhizopus stolonifer var. stolonifer</i> (Ehrenb. : Fr.) Vuill.	176
4.3	Küf Büyüme Eğrisinin Belirlenmesi	176
4.4	HPLC ile Okratoksin-A üretiminin Belirlenmesi.....	178
4.4.1	Katı Kültürde Okratoksin Üretiminin Saptanması.....	178
4.4.2	Sıvı Kültürde Okratoksin-A Üretiminin Saptanması	180
4.4.3	Ekstraksiyon Metodunun Geri Kazanım Yüzdesi (%R).....	181
4.4.4	HPLC ile Okratoksin-A üretiminin Saptanması	181
5.	TARTIŞMA.....	175
EKLER		
EK-A	Örnek 10-7 HPLC Grafiği.....	182
EK-B	Örnek 12-2 HPLC Grafiği.....	183
EK-C	Örnek 18-2 HPLC Grafiği.....	184
EK-D	Örnek 23-4 HPLC Grafiği.....	185
EK-E	Örnek 35-1 HPLC Grafiği.....	186
EK-F	Örnek 42-7 HPLC Grafiği.....	187
EK-G	Örnek 44-4 HPLC Grafiği.....	188
EK-I	Örnek 51-6 HPLC Grafiği.....	189
EK-J	Örnek 53-3 HPLC Grafiği.....	190
EK K	<i>Aspergillus ochraceus</i> (37-10) OA Üretimi 15. Gün.....	191
EK L	<i>Aspergillus ochraceus</i> (37-10) OA Üretimi 17. Gün.....	192
EK M	<i>Aspergillus ochraceus</i> (37-10) OA Üretimi 21. Gün.....	193
EK N	<i>Aspergillus ochraceus</i> (37-10) OA Üretimi 23. Gün.....	194
EK O	<i>Aspergillus ochraceus</i> (37-10) OA Üretimi 25. Gün.....	195
EK P	HPLC Analizi Standart Ölçim Grafiği I.....	196
EK R	HPLC Analizi Kalibrasyon Tablosu I.....	197
EK S	Kalibrasyon Eğrisi-I.....	198
EK T	HPLC Analizi Standart Ölçim Grafiği II.....	199
EK U	HPLC Analizi Kalibrasyon Tablosu II.....	200
EK V	Kalibrasyon Eğrisi-I.....	201
KAYNAKÇA.....		202

SEMBOL LİSTESİ

<u>Simge</u>	<u>Adı</u>	<u>Tanımı/Değer</u>
μm	Mikrometre	10^{-3} mm
ng	Nanogram	10^{-6} mg
ppm		10^{-3} ml
ppb		10^{-6} ml
OA	Okratoksin-A	Siklik pentaketidlerdir (L-fenilalanine bağlı dihidroksi izokumarin).
1 Mikro Mol		10^{-6} Mol
1 M	Mol	1 litre çözümlüde çözünen mol sayısı
HPLC		Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi
LC		Sıvı Kromatografisi
kob/g		1 g'daki koloni oluşturan birim

ŞEKİL LİSTESİ

Sekil Numarası	Adı	Sayfa No
2.2	Okratoksin-A'nın Kimyasal Yapısı.....	11
3.1	Çalışma Bölgesi Haritası.....	23
3.2.6.4	Okratoksin-A Ekstraksiyonu.....	41
3.2.7	Çalışma Bölgesi Haritası.....	25
4.1.1	Bağlardan Alınan Yaş ve Kuru Üzüm Örneklerinin Küf Yüğü.....	49
4.2.1	<i>Aspergillus aculeatus</i> Iizuka (1953).....	59
4.2.2	<i>Aspergillus auricomus</i> (Guéguen) Saito, (1939).....	60
4.2.3	<i>Aspergillus awamori</i> Nakaz. (1915).....	62
4.2.4	<i>Aspergillus carbonarius</i> (Bainier) Thom (1916).....	64
4.2.5	<i>Aspergillus carneus</i> (V.Tiegh.) Blochwitz (1945).....	66
4.2.6	<i>Aspergillus ficuum</i> (Reich.) Hennings (1895).....	68
4.2.7	<i>Aspergillus flavo-furcatis</i> Batista and Maia (1955).....	69
4.2.8	<i>Aspergillus flavus</i> Link (1809).....	71
4.2.9	<i>Aspergillus foetidus</i> (Naka.) Thom and Raper (1945).....	73
4.2.10	<i>Aspergillus foetidus</i> var. <i>pallidus</i> Naka., Simo and Wat.....	75
4.2.11	<i>Aspergillus foetidus</i> var. <i>acidus</i> Naka, Simo and Wat.....	76
4.2.12	<i>Aspergillus heteromorphus</i> Batista veMaia (1957).....	78
4.2.13	<i>Aspergillus japonicus</i> Saito (1906).....	80
4.2.14	<i>Aspergillus niger</i> Van Tieghem (1867).....	81
4.2.15	<i>Aspergillus ochraceus</i> Wilhelm (1877).....	83
4.2.16	<i>Aspergillus olivaceo-fuscus</i> Mosseray.....	85
4.2.17	<i>Aspergillus parasiticus</i> Speare (1912).....	86
4.2.18	<i>Aspergillus petrakii</i> Vörös (1957).....	88
4.2.19	<i>Aspergillus phoenicis</i> Thom (1926).....	90
4.2.20	<i>Aspergillus pulverulantis</i> (Mc Alpine) Thom (1926).....	92
4.2.21	<i>Aspergillus sclerotiorum</i> Huber (1933).....	93
4.2.22	<i>Aspergillus tubingensis</i> (Schöiber) Mosseray (1934).....	95
4.2.23	<i>Aspergillus versicolor</i> (Vuill.) Tiraboschi (1926).....	97
4.2.24	<i>Penicillium brevi-compactum</i> Dierckx (1901).....	99
4.2.25	<i>Penicillium camemberti</i> Thom (1906).....	100
4.2.26	<i>Penicillium canescens</i> Sopp (1912).....	102
4.2.27	<i>Penicillium carneo-lutescens</i> Smith (1939).....	103
4.2.28	<i>Penicillium casei</i> Staub. (1930).....	105
4.2.29	<i>Penicillium commune</i> Thom (1930).....	106
4.2.30	<i>Penicillium charlesii</i> Smith (1933).....	108
4.2.31	<i>Penicillium chrysogenum</i> Thom (1930).....	110
4.2.32	<i>Penicillium citrinum</i> Thom (1910).....	111
4.2.33	<i>Penicillium corimbiferum</i> Westling (1911).....	113
4.2.34	<i>Penicillium crustosum</i> Thom (1930).....	114
4.2.35	<i>Penicillium cyaneo-fulvum</i> Biourge (1921).....	116
4.2.36	<i>Penicillium cyclopium</i> Westling (1930).....	117
4.2.37	<i>Penicillium decumbens</i> Thom (1910).....	119
4.2.38	<i>Penicillium duclauxi</i> Delacroix (1891).....	121
4.2.39	<i>Penicillium expansum</i> Link (1809).....	122
4.2.40	<i>Penicillium fagi</i> Martinez ve Ramirez (1978).....	124
4.2.41	<i>Penicillium funiculosum</i> Thom (1910).....	125
4.2.42	<i>Penicillium granulatum</i> Bainier (1905).....	127
4.2.43	<i>Penicillium islandicum</i> Sopp (1912).....	129
4.2.44	<i>Penicillium janthinellum</i> Biourge (1923).....	130
4.2.45	<i>Penicillium lanoso-griseum</i> Thom (1930).....	132
4.2.46	<i>Penicillium martensii</i> Biourge (1930).....	133
4.2.47	<i>Penicillium melanigrum</i> Biourge (1923).....	135
4.2.48	<i>Penicillium notatum</i> Westling (1923).....	136

4.2.49	<i>Penicillium olivino-viride</i> Biourge (1923)	138
4.2.50	<i>Penicillium oxalicum</i> Currie ve Thom (1915)	139
4.2.51	<i>Penicillium palitans</i> Westling (1930)	141
4.2.52	<i>Penicillium puberulum</i> Bainier (1907)	142
4.2.53	<i>Penicillium roseo-purpureum</i> Dierckx (1901)	143
4.2.54	<i>Penicillium rubrum</i> Stoll (1904)	144
4.2.55	<i>Penicillium rugulosum</i> Thom (1910)	146
4.2.56	<i>Penicillium solitum</i> Westling (1911)	147
4.2.57	<i>Penicillium soppii</i> Zaleski (1927)	149
4.2.58	<i>Penicillium stoloniferum</i> Thom (1910)	150
4.2.59	<i>Penicillium tardum</i> Thom (1930)	152
4.2.60	<i>Penicillium variabile</i> Sopp (1933)	153
4.2.61	<i>Penicillium varians</i> Smith (1933)	155
4.2.62	<i>Penicillium viridicatum</i> Thom (1911)	156
4.2.63	<i>Acremonium tubakii</i> Gams (1971)	158
4.2.64	<i>Alternaria alternata</i> (Fr) Keissler (1912)	159
4.2.65	<i>Alternaria pluriseptata</i> (Karst.veHar.)Jorstad	161
4.2.66	<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fres.) de Viries (1952)	163
4.2.67	<i>Cladosporium herbarium</i> (Pers) Link ex S.F. Gray (1821)	164
4.2.68	<i>Fusarium javanicum</i> Koord.	166
4.2.69	<i>Mucor circinelloides</i> f. <i>circinelloides</i> van Tiegh.	167
4.2.70	<i>Rhizopus stolonifer</i> var. <i>stolonifer</i> (Ehrenb. : Fr.) Vuill.	168
4.4.2	<i>Aspergillus ochraceus</i> 37-10'un Okratoksin-A Üretimini Zamana Bağlı Olarak Değişimi	173

Tablo 2.1.1 Okratoksin-A üreticisi bazı küfler.....	6
Tablo 2.1.4 Dünyada ve Türkiye’de Çekirdeksiz Kuru Üzüm Üretimi	9
Tablo 2.5 OA nın diğer mikotoksinlerle etkileşimi	17
Tablo 2.6 Okratoksin-A yönünden analiz edilen gıda maddelerindeki sonuçlar	18
Tablo 2.11 Tahullar için tavsiye edilen minimum ve maksimum nem miktarları	22
Tablo 3.1.1.1 Örneklerin Toplandığı Bağların Bölge ve Sayısı.....	24
Tablo 3.1.1.2 Örneklerin Toplandığı Bağlar ve Bu Bağların Genel Özellikleri.....	26
Tablo 3.1.1.3 Alınan Örneklerin Numarası, Cinsi ve Örneğin Özelliği.....	28
Tablo 4.1.1 Bağlardan alınan Üzümlerin Genel Küf Yüğü.....	47
Tablo 4.1.2 Tanımlanan Küf Türlerine Ait Suş Sayısı.....	51
Tablo 4.1.3 Tanımlanan <i>Aspergillus</i> ve <i>Penicillium</i> genusuna ait türlerin Ordo ve Gruplarına göre Dağılımı ..	54
Tablo 4.1.4 Tanımlanan Diğer Mikrofungus Türlerinin Ordolarına göre Dağılımı.....	56
Tablo 4.1.5 İdentifiye edilen Potansiyel Okratoksin-A Üreticisi küflerin Bağlara ve Yaş/Kuru Üzüm Örneklerine Göre Dağılımı.....	57
Tablo 4.1.6 Potansiyel okratoksijenik küfleri içeren ve içermeyen bağlar.....	59
Tablo 4.3 <i>Aspergillus alutaceus</i> MUCL 39539 misel ağırlığı/zaman çizelgesi.....	176
Tablo 4.4.1 Katı Ortamda Okratoksin-A Üreten ve Üretmeyen Suşlar	179
Tablo 4.4.2 <i>Aspergillus ochraceus</i> 37-10’un Zamana Bağlı Olarak Okratoksin-A miktarı değişimi çizelgesi	180

ÖNSÖZ

1999-2002 yılları arasında yapılan bu araştırmanın Türkiye mikrofungus florasının zenginliğini bir kere daha ortaya koymakla beraber ülkemiz Kültür Koleksiyonlarının oluşturulmasına da katkı sağlayacağı inancındayım.

Bu çalışmada danışmanlığımı üstlenen E.Ü. Doç.Dr. Rengin ELTEM 'e tezin hazırlanması sırasında yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Gülendam TÜMEN, Prof. Dr. Sanver EKMEKÇİ, ve Yrd. Doç. Dr. Dilek AZAZ'a, teknik yardımlarından dolayı Tarih AR-GE'de Kim. Müh. Hülya TURGUT ve arkadaşım E.Ü Fen-Fak. Biyoloji Böl. Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Ana Bilim dalında görevli Tekin GEZER'e bilgisayar konusundaki problemlerimde yardımcı olan Yrd. Doç.Dr. Hilmi NAMLI 'ya beni her zaman destekleyen, anlayış gösteren eşim Dr. Bülent AŞKUN ve kızım Şebnem AŞKUN'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Balıkesir, 2002

Tülin AŞKUN

ÖNSÖZ

1999-2002 yılları arasında yapılan bu araştırmanın Türkiye mikrofungus florasının zenginliğini bir kere daha ortaya koymakla beraber ülkemiz Kültür Koleksiyonlarının oluşturulmasına da katkı sağlayacağı inancındayım.

Bu çalışmada danışmanlığımı üstlenen E.Ü. Doç.Dr. Rengin ELTEM 'e tezin hazırlanması sırasında yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Gülendam TÜMEN, Prof. Dr. Sanver EKMEKÇİ, ve Yrd. Doç. Dr. Dilek AZAZ'a, teknik yardımlarından dolayı Tariş AR-GE'de Kim. Müh. Hülya TURGUT ve arkadaşım E.Ü Fen-Fak. Biyoloji Böl. Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Ana Bilim dalında görevli Tekin GEZER'e bilgisayar konusundaki problemlerimde yardımcı olan Yrd. Doç.Dr. Hilmi NAMLI 'ya beni her zaman destekleyen, anlayış gösteren eşim Dr. Bülent AŞKUN ve kızım Şebnem AŞKUN'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Balıkesir, 2002

Tülin AŞKUN

1. GİRİŞ

Mikotoksinler, küflerin salgıladığı, insan ve hayvanlarda hastalık oluşturan, antijenik özellikler göstermeyen sekonder metabolik ürünlerdir. Mikotoksinlere duyulan ilgi ilk defa 1960 yılında 100.000 hindinin İngilterede ölümüyle başlamıştır. Bu ölümler *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* tarafından üretilen aflatoksinin neden olduğu yerfıstığı unu ile bağdaştırılmıştır. Daha sonraki çalışmalarda hepatoksik aflatoksinlerin keşfi mikotoksinlerin araştırılmasına olan ilgiyi arttırmıştır.

Mikotoksinlerle kontamine olmuş gıda ve yemlerin tüketilmesi canlılarda “mikotoksikozis” adı verilen intoksikasyona neden olmaktadır. Mikotoksinlerin en az 14 tanesinin karsinojenik etkisi olduğu ve çeşitli hastalıklara neden oldukları bilinmektedir. Bunların içinde *Fusarium* türlerinin neden olduğu toksik lökopeni, *Claviceps* türlerinin neden olduğu ergotizm, *Penicillium* türlerinin neden olduğu sarı pirinç zehirlenmesi gibi mikotoksikozlar en bilinenleridir. Günümüzde 300’den fazla mikotoksin bilinmekte olup mikotoksin üreten cinslerin en önemlileri içerisinde *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* ve *Alternaria* yer almaktadır.

Okratoksin-A *Aspergillus* ve *Penicillium* genusuna ait türler tarafından üretilen bir mikotoksindir. Aflatoksin üreten küf türü sayısı iki ile sınırlı iken, okratoksin-A üreten pek çok küf türü belirlenmiştir ve okratoksin-A üreticisi küflerin listesi giderek artmaktadır.

1960’larda Balkan Endemik Nefropatisinin patlamasından sonra okratoksin-A geniş olarak araştırılmaya başlanmıştır (1). Okratoksin-A’nın dünya çapında ilgi çekmesinin nedeni nefrotoksik özelliğe olması bunun yanı sıra immunosupresyon, teratojenik, genotoksik, mutajenik v.b. gibi çeşitli biyolojik etkilerinin de gösterilmiş olmasıdır. (2).

İnsanlarda ise “Balkan Endemik Nefropatisi” adı verilen böbrek hastalığının gıdalardaki Okratoksin-A varlığı ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Okratoksin-A

üreticisi saprofit nitelikteki küflerin konidyumlarının danenin üzerine yerleşmesi ve uygun koşullar bulunduğunda çimlenmesi ürünün dış yüzeyinin kontamine olmasına neden olmaktadır. Küfün gıda içinde gelişimi ve mikotoksin üretimi ise büyüme sürecindeki sıcaklık, nem, mahsulün hasadı, kurutulması ve depolanması gibi çeşitli faktörlere bağlıdır. *Aspergillus ochraceus* ve diğer okratoksin-A üreticisi küfler; buğday, mısır, arpa, çavdar gibi tahıllarda, pamuk tohumu, baklagiller(fasulye, bezelye, soya fasulyesi), kakao tanesi, kahve tanesi, kuru incir, fındık, üzüm, soğan, seftali, biber ve yüzeyi zedelenmiş elmalarda bulunabilmektedir (3,4,5). Okratoksin-A, farklı iklim koşullarına sahip birçok ülkede arpa mısır ve diğer hububat ürünlerinden izole edilmiştir.

Okratoksinlerin domuzlar, kümes hayvanları ve balıklar gibi kontamineli yemle beslenen hayvanlarda da nefrotoksik olduğu ve etlerinde Okratoksin-A'nın varlığı belirlenmiştir. Okratoksin-A ile kontamine olmuş bitkisel ve hayvansal gıdalarla beslenen insanların kanlarında da okratoksin-A'nın varlığı gösterilmiştir(6,7,8).

Son yıllarda yapılan araştırmalar sonucu tahıllardan gelen bu toksinin değişik gıdalarda varlığını koruduğu ortaya çıkarılmış, bunun yanı sıra toksinlerin sıcaklığa karşı dayanıklı olmaları nedeniyle gıda sanayiinde kullanılan fiziksel uygulamalarla yok edilemedikleri de yapılan analizlerle saptanmıştır. İnsan ve diğer canlılar üzerindeki zararlı etkilerinin anlaşılması ile bu konunun ne denli büyük boyutlara sahip olduğu gözler önüne serilmiştir. Bu nedenle Okratoksin-A'nın zararlarının azaltılması için çeşitli çözüm yolları araştırılmaya başlanmıştır.

Türkiye açısından önemli bir ihraç ürünü olan çekirdeksiz kuru üzümler 1996-1997 yılı ürünlerinde İngiltere'de yapılan analizlerde ortaya çıkan okratoksin-A kontaminasyonundan dolayı önemli bir problemle karşı karşıya kalmıştır. 1997 yılında ihraç edilen çekirdeksiz kuru üzümlerde büyük bir Okratoksin-A krizi yaşanmıştır. Bu sebeple bölgemizin en önemli ihraç ürünlerinden biri olan çekirdeksiz kuru üzümlerde Okratoksin-A oluşumunun hangi aşamada ve hangi küf türleri tarafından yapıldığının saptanması gerekliliği ortaya çıkarılmıştır (5).

Çekirdeksiz kuru üzümlerde Okratoksin-A oluşumu ve etkili faktörlerin belirlenmesi üzerinde yapılan araştırmalar sonucunda araştırmacılar Okratoksin-A

oluşumunun sadece kuru üzümün depolanması sırasında değil üzümün gelişme dönemi boyunca bağlarda başlayan bir sorun olduğunu tespit edilmiştir(5). Okratoksin-A'nın insan sağlığına yaptığı etkiler nedeniyle, bu toksini üreten küflerin gelişiminin kontrol edilmesi veya toksin miktarının kontrol edilerek insan sağlığının korunması büyük önem taşımaktadır.

Bu çalışmada 11 farklı bölgedeki bağdan alınacak yaş ve kuru üzüm örneklerinden izole edilen küflerin identifikasyonu ile bağların küf florasının ortaya çıkarılması ile potansiyel okratoksin-A üreticisi olan küflerin oranının belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca çeşitli bağlarda hem bir asmanın farklı bölgeleri hemde hastalıklı üzüm salkımları; küf yükü ve okratoksijenik küflerin varlığı açısından daha ayrıntılı bir şekilde incelenerek okratoksin-A oluşumu üzerindeki etkilerinin ortaya konması da çalışmanın amaçları arasındadır. Bu çalışmadan elde edilebilecek sonuçlar ise yaş ve kuru üzümlerde bulunan küf yükünün, hakim küf florasının tespiti ile potansiyel okratoksijenik küf türlerinin belirlenerek üzümlerde en yaygın rastlanan potansiyel okratoksijenik tür veya türlerin ortaya konması ve zaman faktörüne bağlı olarak Okratoksin-A'nın ortaya çıkış zamanının belirlenmesidir.

Ayrıca çeşitli bağlarda hem bir asmanın farklı bölgeleri hem de hastalıklı üzüm salkımları; küf yükü ve okratoksijenik küflerin varlığı açısından daha ayrıntılı bir şekilde incelenerek Okratoksin-A oluşumu üzerindeki etkilerinin ortaya konması da çalışmanın amaçları arasındadır

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 Tarihçe

2.1.1 Okratoksin-A Üreticisi Küfler

İlk olarak Van der Merwe ve arkadaşları(9) tarafından *Aspergillus ochraceus* kültüründen izole edilen Okratoksin-A daha sonraki yıllarda, Pitt(1987) ve Iarc(1993) ün belirttiği çeşitli *Aspergillus* ve *Penicillium* türlerinin kültür ortamlarında da bulunmuştur (10) Bilinen başlıca okratoksin-A üreticisi olan *Aspergillus* genusuna ait suşlar *A.ochraceus*, *A. alliance A .ostianus*, *A. sulphures*, *A. helleus*, *A. petrakii*, *A. mycotoxin* ve *Penicillium* genusuna ait *P. viridicatum*, *P. glandicola*, *P. palitans*, *P. chrysogenum*' dur. Bu listeye son zamanlarda bazı siyah *Aspergillus* türlerinin de (*A. foetidus*, *A. niger*, ve *A. carbonarius*, *A. albertensis*, *A. wentii* ve *A. auricormus*) eklenmiştir. (11,12,13). Günümüzde okratoksin-A üreticisi olarak belirlenmiş türlerin bazıları Tablo 2.1.1'de gösterilmiştir.

Jozsef Teren ve arkadaşları (1997) *Aspergillus* suşlarını yeşil kahve fasulyelerinden izole etmişler ve okratoksin-A üretme kapasitesini incelemişlerdir. En yaygın olarak *A.niger* türünü izole etmişlerdir. Bu türün bazı izolatları okratoksin-A (OA) ve okratoksin-B (OB) üretmektedir. Yeşil kahve tanesinden izole edilen diğer *Aspergillus* türleri ise *A.flavus*, *A.tenarii*, *A.oryzae* ve *A.parasiticus*' tur ancak bunların okratoksin-A üretmediklerini belirtilmektedir (14).

Ülkemizde yapılan çeşitli araştırmalarda okratoksijenik küf üreticisi türler gerek topraktan (15,16) gerekse toprak dışındaki ortamlardan izole edilmişlerdir (17, 18, 19).

Ev tozları üzerinde ilk defa yapılan bir çalışmanın sonuçları, ev tozlarında çeşitli *Penicillium spp.* ve *Aspergillus ochraceus* türleri identifiye edilmiş ve bunların

HPLC analizleri sonucunda okratoksin-A içerdikleri ve özellikle ısıtma borularından izole edilenlerde miktarın daha fazla olduğu saptanmıştır (20).

Tablo 2.1.1 Okratoksin-A üreticisi bazı küfler

<i>Aspergillus</i> Türleri	Referans	<i>Penicillium</i> Türleri	Referans
<i>A. tamarii</i> Kita	Abarca et al., 1997 (21)	<i>Penicillium funiculosum</i> Thom	H.K.Frank, 1991b (26)
<i>Aspergillus albertensis</i>	Varga et al.,1997 (22)	<i>Penicillium verrucosum</i> Dierck	Jorgansen, 1995 (27) Marquard and Frochlich, 1992 (28) Skrinjar et al., 1992 (29)
<i>Aspergillus alliaceus</i> Thom & Church	Abarca et al., 1997 (21) Varga et al.,1996 (13)	<i>Penicillium palitans</i> Westling	Krough, 1978 (25)
<i>Aspergillus alutaceus</i> var <i>alutaceus</i>	Chelack et al.,1991 (23)	<i>Penicillium purpurescens</i> Sopp	Krough, 1978 (25)
<i>Aspergillus auricomus</i> (Gueguen) Saito	Varga et al.,1996 (13)	<i>Penicillium verricosum</i> var <i>cyclopium</i>	Škrinjar and Dimic, 1992 (29)
<i>Aspergillus awamori</i> Nakazawa	Varga et al., 1996 (13)	<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	Krivobok et al., 1995 (30)
<i>Aspergillus candidus</i> Link ex Link		<i>Penicillium crustosum</i> Thom	H.K. Frank, 1991b (26)
<i>Aspergillus carbonarius</i> Bainier	Teren 1996 (12)	<i>Penicillium chrysogenum</i> Thom	Škrinjar and Dimic,1992, (29) Krivobok et al., 1995 (30)
<i>Aspergillus foetidus</i> (Naka.) Thom & Raper	Abarca et al., 1997 (21)	<i>Penicillium variable</i> Sopp	Krivobok et al., 1995 (30)
<i>Aspergillus fumigatus</i> Fresenius	Abarca et al.,1997 (21)	<i>Penicillium funiculosum</i> Thom	H.K.Frank, 1991b (26)
<i>Aspergillus glaucus</i> Link (<i>Eurotium herbariorum</i>)	Chelkowski 1987 24	<i>Penicillium glandicola</i> (Corem.) Oudemans	H.K. Frank, 1991b (26)
<i>Aspergillus versicolor</i> (Vuill.) Tiraboschi	Abarca et all 1997 (21)	<i>P. commune</i> Thom	Krough, 1978 (25)

Tablo 2.1. (Devam)

<i>Aspergillus melleus</i> Yuwaka	Krough, 1978 25	<i>Penicillium viridicatum</i> Westling	Krough, 1978 (25)
<i>Aspergillus niger</i>	Abarca et al., 1994 (11)	<i>Penicillium cyclopium</i> Westling	Krough, 1978 (25)
<i>Aspergillus niger var niger</i>	Abarca et al., 1994 (11)		
<i>Aspergillus wentii</i>	Varga et al., 1996 (13)		
<i>Aspergillus ostinus</i> Wehner	Krough, 1978 (25)		
<i>Aspergillus ochraceus</i> Wilhelm	Krough, 1978, (25)Škrinjar and Dimic 1992 (29), Madhyastha et al., 1993 (31) Varga et al., 1996 (13)		
<i>Aspergillus petrakii</i> Vörös	Krough, 1978 (25)		
<i>Aspergillus sclerotiorum</i> Huber	Varga et al., 1996 (13)		
<i>Aspergillus sulphureus</i> (Fr.) Thom & Church	Krough, 1978 (25) Škrinjar and Dimić, 1996) (29) Varga et al., 1996 (13)		
<i>Aspergillus sydowi</i> (Bain & Sart. Thom & Church)	Ueno et al., 1991 (32)		
<i>Aspergillus terreus</i> Thom	Ueno et al., 1991 (32)		
<i>Emericella amsteldami</i> (Mangin) Thom & Church	Abarca et al., 1997 (21)		
<i>Emericella chevalieri</i> (Mangin) Thom & Church	Abarca et al., 1997 (21)		
<i>Emericella rubrum</i> König Spieckerman & Bremer	Abarca et al., 1997 (21)		

2.1.2 Değişik Yöntemlerle Okratoksin-A 'nın Saptanması Üzerine Yapılan Çalışmalar

Okratoksinin kimyasal olarak saptanmasında, ince tabaka kromatografisi (TLC) esnasında sınırlı sayıda diğer metabolitlerde mevcuttur fakat bunların genellikle iyi ayrıldıkları ve diğer mikotoksinlerle karışmadıkları gözlenmiştir. Çeşitli protein-lipit ayırt edici solvent sistemleri ekstraksiyon işleminde denenmiştir. Kloroform-Metanol (2:1) sistemi toksin ekstraksiyonu için uygun bulunmaktadır (33).

Yine Jozsef Teren ve arkadaşları (1996) *Aspergillus* genusu *Nigri* grubuna ait 157 suşu 3 değişik metot kullanarak test etmişlerdir. Bunlar enzim bağlı immuno absorbent deneme metodu, (ELİSA), ince tabaka kromatografisi (TLC) ve yüksek basınç sıvı kromatografisi (HPLC) dir. Okratoksin-A, 12 *A. carbonarius* suşunun 5' inde saptanırken 45 *A.japonicus* suşunda görülmemiş ve 100 *A.niger* izolatından 3' ünde saptanmıştır (12).

Janos Varga ve ark(1996) *Aspergillus* genusunun *Fumigati*, *Circumdati*, *Candidi*, ve *Wentii* gruplarının 172 suşunda okratoksin üretimini okratoksin-A ya karşı monoklonal antikor preparasyonları kullanılarak test edilmiştir. Okratoksin-A , *A.ochraceus*, *A.alliaceus*, *A. sclerotium*, *A.sulphureus*, *A. albertensis*, *A.auricomus* ve *A.wentii* suşlarında saptanmıştır. Okratoksin-A üretimi ince tabaka kromatografisi ve HPLC ile saptanmıştır (13).

2.1.3 Tahıllar Üzerinde Yapılan Çalışmalar

OA kontaminantları farklı bitki ürünlerinde (depolanan tahıllarda, kahve tanelerinde, fıstık, bira ve baharatlarda) gösterilmiştir Kahve çekirdeklerinin kirlenmesi özellikle önemlidir. Çünkü OA fırınlama ile tamamen azaltılamamaktadır İngiltere'de analizi yapılan bir çok besin maddesinde Okratoksin-A konsantrasyonu 0.2 µg/kg dan az bulunmasına rağmen bazı fasulye, kuru üzüm örneklerinde 50 kat ve daha fazla konsantrasyona rastlanmıştır (34).

Mısır'da bazı kurutulmuş meyveler (kuru kayısı, kuru erik ve kuru üzüm) üzerinde yapılan çalışmada, sitrinin, okratoksin-A, patulin, sterigmatosistin diasetoksifenol, T-2 toksini ve zearalenon ince tabaka kromatografi analizi ile

incelenmiş ve okratoksin-A bütün örneklerde saptanırken kuru üzümde rastlanmamıştır (35).

2.1.4 Kuru Üzümde Okratoksin

Tablo 2.1.4 Dünyada ve Türkiye’de Çekirdeksiz Kuru Üzüm Üretimi (Bin Ton) (36)

Yıllar	Türkiye	Avusturya	İran	Yunanistan	Amerika	G.Afrika Cum.	Afganistan	Şili	Toplam
1988-99	129.0	71.7	80.0	75.0	33.0	60.0	-----	723.7	723.7
1989-90	147.0	57.3	26.0	78.0	315.0	20.0	50.0	-----	693.0
1990-91	160.0	54.8	75.0	40.0	302.7	33.0	60.0	32.0	741.6
1991-92	150.0	80.6	81.0	35.0	273.0	30.0	60.0	32.0	741.6
1992-93	153.0	92.2	83.6	40.6	295.0	39.0	55.0	22.0	780.4
1993-94	212.3	41.4	90.0	34.5	285.4	27.0	60.0	28.0	778.6
1994-95	150.0	43.2	90.0	29.5	321.0	31.4	26.0	22.0	713.1
1995-96	179.0	55.0	92.0	34.0	210.0	38.0	30.0	26.0	664.0
1996-97	185.0	40.0	95.0	38.5	232.0	35.0	-----	27.0	652.5
1997-98	210.0	40.0	95.0	40.0	301.5	32.0	-----	28.0	746.5
1998-99	250.0	40.0	102.0	40.0	218.3	34.0	-----	28.0	712.3

1996 yılına kadar kuru üzümde tespit edilemeyen okratoksin-A, 1996 ve daha sonraki yıllarda ihraç partilerinde yapılan analizlerde değişik miktarlarda tespit edilmiştir. İngiltere’de 1997 yılında, çoğunluğu Türkiye’den temin edilen, 120 Sultani çekirdeksiz kuru üzüm örneğinde yapılan analizler sonucu; 25 örnekte Okratoksin-A’ya rastlanmazken geri kalan 95 örneğin 50’sinde 0.5-2 ppm, 25’inde 2.1-5.0 ppb, 15’inde 5.1-10.0 ppb ve 5 örnekte 10 ppb’den fazla okratoksin-A tespit edilmiştir (37).

2.1.5 İnsanlarda Okratoksin-A’ nın Araştırılmasına Yönelik Çalışmalar

Kuzey Amerika ve Avrupa’da Okratoksin-A’ya gıdalarda, yemlerde, hayvan dokuları ile insan kanında saptanmıştır(28).

Balkan endemik nefropatisi (BEN) olan hastalarda idrar yollarında tümörlerin artması nedeniyle OA’nın toksisitesi, insan endotelial hücreleri

kullanılarak DNA onarımı induklenerek araştırılmış ve insan ürettelial hücrelerinin kültüründe genotoksik etkilerinin olduğu gösterilmiştir (38).

Hırvatistan'da yapılan (1997) kanda okratoksin-A'nın araştırılması ile ilgili bir çalışmada, 5 şehirde (Split, Rijeka, Varazdin, Osijek, ve Zagreb) genel popülasyonun maruz kaldığı OA araştırılmıştır Her bir şehirdeki donörlerden 3 ml plazma olmak üzere 50 örnek alınmış ve HPLS kullanılarak OA konsantrasyonu plasmada 0.39 ng/ml olarak hesaplanmıştır. En yüksek OA frekansı >0.2 ng/ml plasma olarak bulunmuş, konsantrasyonu 1.0 ng/ml yi aşan en yüksek örnek sayısı Osijek'te bulunmuştur. Bu farklılık taze ve kurutulmuş domuz etinin bu şehirde yüksek konsantrasyonda tüketilmesinden kaynaklanmıştır. Bütün örneklerde OA alımı 0.24 to 0.91 ng/kg/vücut ağırlığı arasında tespit edilmiştir. Bu değerler FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (1995) in tavsiye ettiği tolere edilebilen günlük alım değerlerinden (16.0 ng OA/kg/vücut ağırlığı) daha düşük olarak bulunmuştur (39).

Kevin Jørgensen ve arkadaşları 1986 ve 1992 araştırma periyodu içinde 143 tahıl örneğini vücuda alım verileri ile birlikte incelemiştir. Özellikle havanın nemli geçtiği yıllardaki hasat boyunca Danimarka popülasyonundaki bazı bireylerde okratoksin-A alımının tolere edilebilen günlük seviye olan 5 ng/kg'ın çok üstünde olduğunu gösterilmiştir. Tahılda kilo başına düşen maksimum limit olan 5 µg okratoksin-A limitinin, ancak 5 ng/kg günlük alımının muhafaza edilmesi yolu ile korunabileceğini belirtilmektedir (27).

Yine Macaristan'da yapılan bir çalışmada insan serumundaki okratoksin-A içeriği Elisa testi ile hassas olarak ölçülmüştür. İnsan serumundaki Okratoksinin kantitatif olarak saptanması için monoklonal antikolar kullanılmıştır. 355 serum örneğinden yapılan analizler 0.2–2.0 ng/ml aralığında değişmektedir. Limit değer 0.2 ng/ml olarak bulunmuştur fakat örneklerin % 75 inde OA konsantrasyonu 0.2–1.0 ng/ml olarak bulunmuştur. Bu miktar toksinin günlük tolere edilebilir alım değerini (TDI) yansıtmaktadır. Bazı durumlarda (%6.8) OA konsantrasyonu 1.0 ng/ml' dan daha fazla bulunmuştur. Yüksek miktarda OA alımı, emniyet dozunun aşımının bir sonucudur. Bu sonuçlar da diğer ülkelerde olduğu gibi ürünlerde ve gıda maddelerinde OA nın mevcut olduğunu ve tüketicilerin sağlığının korunması için düzenli kontrollerin yapılması gerektiğini göstermektedir (40).

2.1.6 Besinlerin Korunmasına Yönelik Çalışmalar

M.K.Refai ve arkadaşları (1996) hayvan besinlerinin korunması amacıyla gama ışınlarını önermektedir. Küçük baş hayvan besininin 295 örneği üzerinde yapılan araştırmada *A.ochraceus* yüksek oranda bulunmuştur. Okratoksin-A, 295 örneğin 98'inde saptanmıştır. 4 k Gy radyasyon dozunun *A.ochraceus*' un büyümesi ve bunun sonucu oluşan okratoksin-A üretimini tamamen inhibe ettiğini belirtmişlerdir M.K.Refai ve ark(1996). 1 Gray, iyonize radyasyon etkisinde kalan homojen bir maddenin 1 kg'ına verilen 1 Joule enerji miktarıdır(41).

Küf ile fermente edilen et ve peynir ürünleri de okratoksinler ve siklopiazonik asit gibi mikotoksin problemleri taşımaktadır. Et ürünlerinde bu kontaminasyon problemini azaltmak için bazı çalışmalar mevcuttur. Almanya ve Fransa'da bu amaçla salamları olgunlaştırmada non-toksik *P.nalgiovense* suşları kullanılmaktadır (Leistner, L., 1984). Yine peynir endüstrisinde *P. camembertii* izolatları siklopiazonik asit ürettiklerinden dolayı, *P. camembertii* mutantları kullanılmaktadır (42).

Yapılan diğer bir çalışmada da, kekik (*Origanum vulgare*), nane (*Menta arvensis*), fesleğen (*Ocimum basilicum*), adaçayı (*salvia officinalis*) ve kişniş (*Coriandrum sativum*)'daki uçucu yağların miselial büyüme ve okratoksin oluşturma üzerindeki inhibitör etkisi incelenmiştir Bu çalışmada *Aspergillus ochraceus* NRRL 3174 suşu kullanılmıştır. Kültürler Yeast Extract-Sucrose (YES) Broth'ta 7, 14, 21 gün, 25 ° C de inkübe edilmiş, 0, 500, 750 ve 1000 ppm' lik uçucu yağ konsantrasyonu kullanılmıştır. Küf büyümesi ve okratoksin-A üretimi 21. güne kadar kekik ve nane tarafından tamamiyle inhibe edilirken fesleğen ise sadece 7. güne kadar etkili olmuştur. 750 ppm kekik 14. güne kadar tamamiyle etkili iken nane fungal büyümeyi engelleyememiş fakat 14. güne kadar okratoksin-A üretimi görülmemiştir. 500 ppm de hiç bir uçucu yağ ile inhibisyona rastlanmamıştır. Adaçayı ve kişniş bu çalışmada önemli bir etki göstermemiştir. Bu çalışmada bu inhibe edici etkilerden besinlerin korunmasında antifungal ajan olarak kullanılabileceğinden bahsedilmektedir (43).

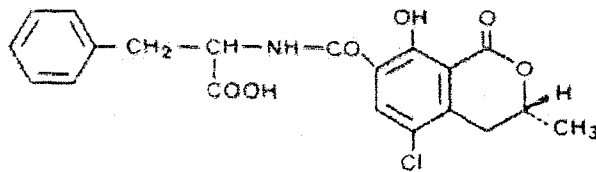
2.1.7 Okratoksin-A Toksikitesi Üzerine Yapılan Çalışmalar

Okratoksin-A'nın birçok hayvan üzerinde karsinojenik, nefrotoksik, teratojenik ve immunotoksik etkileri vardır. hücre düzeyinde protein sentezi inhibisyonunu engelleyerek böbreklerde periglomerular ve intersitisiyal fibrosise yol açarak glomerular atrofiye neden oldukları ve aynı zamanda kanamalara yol açtıkları bilinmektedir (25).

Okratoksin-A için, fenilalanin analogu olan aspartam'ın farelerde OA'nın toksik etkilerini önlediği gösterilmiştir (44,45).

Yapılan bir çalışmada farklı beyin bölgelerinde primer kültürlerde OA'nın selektif toksisitesini araştırmışlardır. OA'nın seçici toksisitesini kanıtlamak için yapılan çalışma da sıçan beyinde ventral mesencephalon ve serebellumda OA sitotoksitesini araştırılmış ve toksine karşı hassasiyeti karşılaştırılmıştır. OA varlığında seçilen yapılarıdaki astrosit ve nöronlarda protein, DNA sentetaz, laktat dehidrogenaz (LDH) salınımı ve malondialdehit (MDA) üretimi denenmiştir. 48 h inkübasyondan sonra OA (10-150 micro M) protein ve DNA sentezinin inhibisyonunu indüklemiş, ventral mesencephalon hücrelerinde %50 inhibe edici konsantrasyonda (IC50) DNA sentezi nöronlarda 14 +/- 2 microM, astrositlerde 40 +/- 5 microM bulunmuştur. Cerebellum hücreleri ile karşılaştırıldığında nöronlarda 24 +/- 7 microM, astrositlerde 69 +/- 9 microM bulunmuştur. MDA ve LDA salımında paralel olarak artış görülmüştür. Bu sonuçlar OA'nın nefrotoksik olmasının yanısıra nörotoksik olduğunu da göstermiştir (46).

2.2 Okratoksinin Yapısı



Şekil 2.2 Okratoksin-A'nın Kimyasal Yapısı (Marquardt ve ark, 1990 48)

Okratoksin Penicillium ve Aspergillus genusuna ait küfler tarafından üretilen sekonder metabolitlerdir. Okratoksinler siklik pentaketidlerdir. L-fenilalanine bağlı dihidroksiizokumarin türevleridir. Renksiz, kristal yapılıdır. Polar organik

solventlerde erir. Karboksi grup boyunca L-β-fenilalanine bağlı 7-karboksi-5 kloro-8 hidroksi-3,4 dihidro-3 R-metil izokumarin içerir. Erime noktası 169 °C dir. Birkaç çeşit okratoksin türü bilinmekle birlikte en çok bilinen A ve B türleridir. Formülü C₂₀H₈ClNO₆ dır. Kristal formları asit çözeltilerde yeşil, alkali çözeltilerde mavi floresan verir. Sodyum tuzları suda çözülebilir. Işık ve havada dayanıksızdır. Işığa kısa süreli maruz kalma sonucunda özellikle nemli ortamlarda parçalanır ve solar. Etanol çözeltileri karanlıkta ve soğukta saklanırsa 1 yıldan daha fazla bir süre stabil olarak kalmaktadır (47,48).

Yapılan çalışmalarda 3 yeni okratoksin-A analogu bulunmuştur. Bunlar fenil alanin molekülü ile yer değiştiren serin, hidroksiprolin ve lisindir. Bu bileşiklerin daha önce identifiye edilememesinin nedeni, kullanılan ekstraksiyon yöntemi sırasında floresans materyalinin büyük kısmının uzaklaştırılması ve ortamın protein içeriğinin yani substratın amino asit kompozisyonunun, analogların yapısını etkilemiş olabileceği belirtilmektedir. Ayrıca okratoksin analoglarının birlikte etkisi Okratoksin-A ve sitrinin örneğinde olduğu gibi sinerjistik etki gösterebilmektedir (49).

2.3 Biyokimyasal Etkileri

Okratoksin-A'nın çeşitli proteinlere bağlanma yeteneğinde olduğu, ancak spesifik bağlanmanın farklı bir durum olduğu ve çok spesifik OA bağlanmasının bazı proteinleri OA toksisitesi yönünden hedef haline getirdiği belirtilmektedir. Bu bağlanma OA'nın hücre içi yığılmasına yol açmakta ve böylece memeli hücrelerinde yarı ömrünün uzamasına ve toksik potansiyelinin artmasına neden olmaktadır (50). Okratoksin-A'nın teratojenik, karsinojenik, genotoksik, immunosupresyon, mutajenik, v.b. gibi çeşitli biyolojik etkileri bilinmektedir (51,2,45).

2.4 İnsanlar Üzerindeki Etkileri

Okratoksin A memelilerde birçok toksik etkisi olan bir mikotoksindir. Bu toksinin önemlisi etkisi nefrotoksik olmasıdır. (45). İnsanlarda ise "Balkan Endemik Nefropatisi" adı verilen bir böbrek hastalığının gıdalardaki okratoksin-A varlığı ile ilişkili olduğu bulunmuştur (52,4).

İnsanlarda Balkan Endemik Nefropati hastalığının yanı sıra böbrek fonksiyonlarını bozarak üriner kanallarda tümörlere de neden olmaktadır (25).

İnsanlarda da özellikle Bulgaristan Romanya ve Yugoslavya 'daki kronik ilerleyici böbrek rahatsızlığı (Balkan endemik Nefropatisi) ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bu konuda çalışan komiteler (COT) The committee on the Toxicity of chemicals , Consumer Products and the Environment ve JECFA- Joint Expert Committee on Food Additives gıdalardaki toksin seviyesinin teknoloji kullanılarak minimum seviyeye indirilmesini önermişlerdir. Bu nedenle JEFCA bu konu üzerinde önemle durmakta ve günlük tolere edilebilir vücuda alım limitleri üzerinde çalışmaktadır (53).

Günümüzde insanlardan alınan kan örneklerinde yapılan çalışmalar insanların da bu toksinden etkilendiklerini ve bu etkilenmenin yaş cinsiyet ve donörün kan grubuna bağlı olmadığı gösterilmiştir (40,54,39).

Besinlerde yüksek düzeyde OA bulunan Bulgaristan ve Yugoslavya' da üriner sisteminde tümör olan hastaların kanında bulunan OA, sağlıklı hastaların kanındaki OA dan daha fazla bulunmuştur. (1).

İnsanın maruz kaldığı okratoksin-A seviyesini tespit etmek amacıyla İngilterede başlatılmış olan çalışmada bir bölgede yaşayan 50 gönüllüden haftalık plazma ve idrar örnekleri toplanmıştır. Hassas yöntemler kullanılarak yapılan kantitatif analizler sonucunda insanlarda maruz kalınan okratoksin seviyesi araştırılmıştır. Bütün diyetler, plazma örneklerinin hepsi ve idrar örneklerinin % 92' si OA içermektedir. Haftalık idrar örnekleri analiz edildiğinde gelen bazı örneklerin OA içermesinin kaçınılmaz olduğu görülmüştür. Toksinin sık bulunduğu bir popülasyonda bu durum şaşırtıcı değildir. Ancak maruz kalınan OA düzeyi hesaplandığında, EC's Scientific Committee for Food (SCF) tarafından tolere edilebilen alım 5 ng/kg vücut ağırlığı/gün olarak tavsiye edilmiştir (55).

Bitki materyali, organik toz ve konidiaya sıklıkla maruz kalan çiftçilerin solunum yoluyla aldıkları organik toz ve konidia ile gelen Okratoksin-A miktarının belirlenmesi üzerine yapılan bir çalışmada ise havada ve tozlarda bulunan konidyanın tarım alanları için önemli okratoksin A kaynağı olabileceği gösterilmiştir (56).

OA ile ilgili olarak Kuiper-Goodman ve Scott, (57) yeni bir risk değerlendirme çalışması yayınlamıştır. Bu hayvanlarla yapılan deneysel çalışmada

insanlar için tolere edilebilir günlük doz alımı 0,2-4,2 ng/kg/vücut ağırlığı olarak belirlenmiştir. Buna karşılık The Joint FAO/WHO Expert Committae on Food Additives haftalık tolere edilebilir Okratoksin-A alımını 112 ng/kg/vücut ağırlığı olarak belirlemiştir (53).

2.5 Hayvanlar üzerindeki etkileri

Farelerin dalak, böbrek ve karaciğerin hücre kültürlerinde in-vitro yapılan çalışmalarda, OA'nın rekabet edici inhibisyon yoluyla fenil alanin'in yerini alarak fenilalanin-tRNA kompleksini sentezleyen enzimi inhibe ettiği gösterilmiştir(45).

Okratoksin-A kontamine yemle beslenmiş olan domuzların midesinden izole edilmiştir (26). Domuzlarda böbrek hasarlarına (nefropati) neden olduğu bilinmektedir (7). Domuz böbrekleri en fazla kontamine olan dokulardır ve kandaki oranı, böbrektekinin 5 katı fazladır. Okratoksin-A artıkları ön midede bakterial enzimlerle hidrolize edilmekte ve dolayısı ile dokulara çok az geçmektedir. Hayvanlarla yapılan çalışmalarda OA'nın potansiyel nefrotoksik, immun baskılayıcı, teratojen karsinojen olduğu gösterilmiştir (51,45).

Yapılan çalışmalar sonucu bu mikotoksinin hayvanların kanında ve sütünde de bulunduğu saptanmıştır. Okratoksin-A'nın nın geviş getiren hayvanların midesinde ve barsaklarında hidrolizlenmesi non-toksik okratoksin alfa (O-alfa) formunu oluşturmaktadır. Ancak yapılan yeni çalışmalar önemli miktardaki okratoksinin geviş getiren hayvanların mide barsaklarında çok fazla parçalanmadığını göstermiştir (58).

Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar, (Tablo 2.6) Okratoksin-A'nın diğer mikotoksinlerle de etkileşiminin olduğunu göstermiştir (59). Biyokimyasal düzeyde OA, fenilalaninin yerini alarak t-RNA kompleksine bağlanmakta ve fenilalanin-tRNA kompleksinin sentezini içeren enzimi inhibe etmek suretiyle fenilalaninin peptidlere bağlanmasını engellemektedir (45). Ayrıca siklapiazonik asitle birleştiğinde kümes hayvanlarının dalak, karaciğer ve pankreasının büyümesine, serum albumini ve total protein konsantrasyonunun azalmasına, trigliserit ve ürik asit konsantrasyonunun artmasına yol açarak kümes hayvanlarını etkilediği gösterilmiştir (60).

Tablo 2.5 OA nın diğer mikotoksinlerle etkileşimi (59)

Mikotoksin	Test Sistemi	Ölçüm	Etki
Aflatoksin	Kümes hayvanları	Karaciğer yağlanması ve büyüme ağırlığı	Yağlanma için zayıf aflatoksin etki, nefropati için sinerjistik etki
Deoksinivalenol	Broiler tavukları	Genel toksisite	Antagonistik etki
Sitrinin	Hepatoloma hücreleri	RNA, DNA, Protein sentezi	Sinerjistik etki
	Renal korikal hücreleri	Organik iyon transportu	Additid yada çok az sinerjistik
	Beyaz Leghorn piliçleri	Böbrek fonksiyonu	İndirgenmiş sitrinin etkisi
	Fare	Hepatorenal karsinogenesis	Sinerjistik etki
	Broiler tavukları	Büyüme depresyonu, su tüketimi artışı	Antagonistik etki
	Fare	Letal etki	Sinerjistik etki
	Kobay	Letal etki	Dişilerde sinerjistik, erkeklerde additif
Okratoksin B	Fare Karaciğer	Protein sentezi	Etki yok
	Rat	Renal tübler morfolojisi	Oldukça indirgenmiş
Penicillik asit	Fare	Letal etki ve protein sentezi	Sinerjistik etki
		Tübüler morfoloji	Sinerjistik etki
Zearalenon	Fetal fare	Teratogenesis	Antagonistik etki

2.6 Besinlerde okratoksin

Aspergillus ochraceus ve diğer okratoksin-A üreticisi küfler; buğday, mısır, arpa, çavdar gibi tahıllarda, pamuk tohumu, baklagiller (fasulye, bezelye, soya fasulyesi), kakao tanesi, kahve tanesi, kuru incir, fındık, soğan, şeftali, biber ve yüzeyi zedelenmiş elmalarda bulunabilmektedir (51, 61, 62).

Bazı tip besinlerde yüksek düzeyde okratoksin rapor edilmiştir. Nefropatinin endemik olduğu Bulgaristan gibi Balkan ülkelerinde mısırdaki kontaminasyon %27 olarak bildirilmiştir. Okratoksin-A, ham zirai ürünlerde ve OA içeren besinle kontamine olmuş hayvanların sıvıları ve dokularında bulunmaktadır.

Tablo 2.6 Okratoksin-A yönünden analiz edilen gıda maddelerindeki sonuçlar (62).

Örnek Tipi	Örnek Sayısı		Belli aralıktaki örneklerin sayısı (µg/kg)				Bulunan maksimum OA düzeyi (µg/kg)
	Analiz edilen	Saptana mayan	00.2-0.4	4.1-10.0	10.1-30.0	>30.0	
Kayısı	20	20	---	---	---	---	<0.2
Arpa	37	34	2	1	---	---	6.4
Bira	20	20	---	---	---	---	<0.2
Kakao	20	3	17	---	---	---	1.1
Taze Hindistan Cevizi	10	10	---	---	---	---	<0.2
Kuş üzümü	20	1	6	8	3	2	53.6
Hurma (Ksuru)	20	19	1	---	---	---	0.2
Yeşil mercimek	10	10	---	---	---	---	<0.2
Kırmızı mercimek	11	11	---	---	---	---	<0.2
Yulaf	18	17	---	1	---	---	5.9
Domuz Karaciğeri	10	9	1	---	---	---	0.2
Domuz salamı	9	9	---	---	---	---	0.2
Çavdar	22	21	1	---	---	---	---
Buğday	76	74	2	---	---	---	2.4
Kırmızı şarap	10	6	4	---	---	---	1.1
Beyaz şarap	10	10	---	---	---	---	<0.2
Kuru Üzüm	20	3	9	4	4	---	18.1

*Okratoksin-A metodunun saptama limiti 0.2 µg/kg' dir

Aspergillus türleri tarafından oluşturulan OA yüksek, sıcaklık ve nemlilik bakımından belirli koşullarda ortaya çıkar. *P. viridicatum* ve *P. cyclopium*, optimum su aktivitesinde 4-21 °C sıcaklıkta okratoksin üretir. Bunlar soğuk iklim koşullarının başlıca OA üreticisidirler. Halbuki *A. ochraceus* 12 °C' nin üzerinde OA

üretir. Avrupa’da çiftlik hayvanlarında ortaya çıkan Okratoksikosis, bir önceki hasat döneminin nemli iklimik koşullarından kaynaklanmaktadır (1).

Amerika’da 200’ den fazla gıda ve besin örneğinde (Beyaz un, kurutulmuş fasulye, bezelye, yulaf, mısır, arpa, pirinç) yapılan çalışma halen devam etmekte olup FDA tarafından yürütülmektedir ve henüz sonuçlar açıklanmamıştır. Her ne kadar küfler gıda ve yemler üzerinde okratoksin üretse de ham ürünlerdeki kontaminasyonun ürünün yetiştiği bölgeye bağlı olduğu gösterilmiştir. Amerika Birleşik Devletleri’ de seçilen ham ürünlerdeki kontaminasyon oranı %3 bulunurken Kuzey Avrupa ve Balkanlarda daha yüksek kontaminasyon oranı gözlenmiştir (Edlefsen, M., Brewer, S., 2000). Gıdalarda okratoksin-A oranı ve düzeyi ham zirai ürünlerden daha düşüktür (Tablo 2.6).

2.7 Maruz Kalma

OA doğal olarak oluşan bir mikotoksindir. Gıdalarda ve hayvan besinlerinde yaygın olarak bulunması sonucunda insanlarda maruz kalmaktadır (1). Mikotoksinler dünyanın en önemli besin kontaminantları arasındadır Okratoksin üreten funguslar genellikle *Penicillium* ve *Aspergillus* genuslarıdır. Soğuk iklimlerde OA *Penicillium* türleri tarafından oluşturulurken tropik ve subtropik alanlarda *Aspergillus*’lar tarafından oluşturulur. Okratoksin-A , mısır, yarfıstığı depolanan taneler, pamuk tohumu ve çürüyen vegetasyonun doğal bir kontaminantıdır. Küflü tahıllarda (buğday, mısır, arpa, yulaf, yer elması, kahve fasulyesi, ekmek, un, pirinç ve fasulyede) saptanmıştır. Tahıllarda saptanan kontaminasyon düzeyi 0.03 ppm – 27.5 ppm arasında değişmektedir. ABD’de 130 birahane yapılan bir çalışmada, arpadan biraya taşınması muhtemel olmasına karşın bira ve malta 10 µg/kg üzerinde saptanmamıştır. Malt işleme orta derecede kontamine olmuş arpadaki toksini tamamen parçalamaktadır fakat fazla kontamine olan kısımlardan % 2-7 arasında toksin son ürüne taşınmaktadır (63;64)

2.8 Tolere Edilebilir Alım Limitleri

JECFA tarafından yapılan değerlendirmelerde öngörülen haftalık tolere edilebilir okratoksin-A alım miktarı 100 ng/kg/vücut ağırlığı'dır. Bu da günlük 14 ng/kg/vücut ağırlığına tekabül etmektedir (65,52).

2.9 Düzenleme

Meslek Güvenliği ve Sağlık Yönetimi (Occupational Safety and Health Administration) okratoksin-A' yı Risk Bildirme Standardı ve Laboratuvarlardaki Kimyasal Riskler bölümü altında grup 2B de sınıflandırılmaktadır (Occupational Safety and Health Administration). Uluslar Arası Kanser Araştırma Dairesi'nin (International Agency for Research on Cancer) son monografında OA potansiyel kanserojen olarak kabul etmiş ve (66,67,68). 17 Eylül 1998 de Gıda Bilim Komite'si tarafından kanserojen, nefrotoksik, teraojen, immunotoksik ve muhtemel nörotoksik olarak yayınlanmıştır(51).

2.10 Mikotoksinlerin Kontrolü

Mikotoksikoloji yeni bir alan olmasına karşılık devam eden çalışmalar toksik etkilerin, toksin oluşumu esnasında önlenemesinin muhtemel olduğunu göstermektedir.

Gıdalarda oluşan mikotoksinlerin detoksifikasyonu ile ilgili çok sayıda çalışma bulunmakla birlikte, tam olarak etkili ve güvenilir bir yöntem henüz yoktur. Bu nedenle mikotoksinlerin oluşumlarının önlenmesi kontrolde en önemli noktayı oluşturur. Bu bakımdan küf gelişimi ve mikotoksin üretimi açısından riskli gıda ürünlerinin uygun koşullar altında hasat edilmesi, taşınması depolanması ve işlenmesi üzerinde önemle durulmalıdır. Küflerin üremesine ve mikotoksin üretimlerine etkili olan sıcaklık, nem, ışık gibi faktörlerin ürünlerin hasat ve depolanması sırasında dikkatli bir şekilde kontrolü, bulaşmanın olduğu kısımların ayrılarak uzaklaştırılması kontrol için alınacak önlemler arasında yer alır. Bir çok ürünün depolanması sırasında sıcaklığı düşük tutmak her ne kadar yararlıysa da hububatlarda çok düşük sıcaklıklarda sentezlenen mikotoksinler mevcuttur. Bununla beraber mikotoksinlerin 8°C'nin altında sentezlenemedikleri kabul edilmektedir (69,70).

Mikotoksin kontrolünde nem de önemli bir faktördür. Mikotoksinlerin üretilmediği optimum su aktivitesi 0.93-0.98 arasında değişmekle birlikte küf cinsine bağlı olarak 0.71-0.94 arasındaki su aktivitesi değerlerinde mikotoksin sentezlenebilir. pH mikotoksin sentezi kontrolünde etkili bir faktör değildir. Toksin üretimi genellikle 3.4-5.5 pH arasında değişmekle birlikte pH 2.0-10 arasında mikotoksin üreten türler mevcuttur. Bir kontrol yöntemi olmamakla birlikte, mikotoksin içeren tahıl ürünlerinin, toksin içermeyen ürün ile karıştırılması ve böylece paçal edilmiş ürünlerdeki mikotoksin miktarının izin verilen seviyelere düşürülmesi de ekonomik kayıpların azaltılması için uygulanan bir yöntemdir. Ancak bu uygulama tam homojenizasyonun sağlanmadığı durumlarda tehlikeli olmaktadır(69).

Devam eden çalışmalar önemli mikotoksinlerin biyosentezinin ortaya çıkarılması, okratoksin-A'nın ekonomik olarak önemli olan hayvanlar ve bitkiler üzerindeki patojenitesinin ortaya konması ve çevreye zararı olmayan yöntemler kullanılarak zirai ürünlerdeki mikotoksin düzeyinin minimuma indirilmesi yönündedir (71).

2.11 Hububat ve Hububat Ürünlerinde Muhafaza Yöntemleri

Hasat öncesi hububatta oluşmuş mikotoksinler genellikle kimyasal açıdan stabil olup depolama ve işleme sırasında aktivitelerini korurlar. Depolama sırasında OA aktif halde kalarak diğer hububatlara ve hububat unlarına geçebilmektedir. OA'nın inaktif hale getirilmesi çok zor olduğundan OA oluşumunun önlenmesi daha önemlidir. Bu amaçla bazı fungusitler kullanılmakla birlikte oluşumunun tamamen önlenmesi zordur. OA oluşumunda hasat öncesi ve hasat sırasındaki iklim koşulları büyük önem taşımaktadır. Hasatta kırık bozuk, küflenmiş tanelerin ayrılması küf yükünü azaltmak açısından önem taşır. Mikotoksin içeren hububatlarda kontamine ürünün ayrılarak oluşan toksinin detoksifikasyonu gerekmektedir. İnsan sağlığı açısından henüz güvenilir, etkili bir detoksifikasyon yöntemi saptanamamıştır. Hububat tanelerinde mikrobial gelişmenin önlenmesi için en etkili yöntem su aktivitesinin düşük tutulmasıdır. Uygun şekilde kurutulan danelerin depolanması sırasında havalandırma ile nemin uzaklaştırılması ve yoğunlaşmanın önlenmesi, sıcaklığın düşük ve sabit tutulması mikrobial gelişmenin önlenmesinde önemlidir. Bir yıl depolanacak hububat taneleri için önerilen maksimum nem miktarları aşağıda

(Tablo 2.10.1) görülmektedir. Hasat sonrası tanelerde farklı bir mikrobiyal flora dominant hale gelir. Tanelerdeki nem miktarı %15'i geçmeyecek şekilde depolanırsa depo küflerinin mikotoksin üretimi engellenebilir. Toksin üretme sıcaklığı ise küf cinsine göre farklılık gösterir ve küfün üreme sıcaklığından farklı olabilir (69).

Tablo 2.11 Tahıllar için tavsiye edilen minimum ve maksimum nem miktarları (69)

Ürün	Maksimum nem (1 yıl için)	Maksimum nem (5 yıl için)
Buğday	%13-14	%11-12
Pirinç	%14	%12
Mısır, Arpa	%13	%11
Yulaf, Soya fasulyesi	%11	%10

Hasat veya saklama esnasında danelerin renklerinin bozulması ve mavi yeşil renk almasına, “mavi göz” olarak ta adlandırılan, özellikle *Aspergillus glaucus* ve *Penicillium* türlerine ait sporların, tahılın saklanması esnasında çimlenmesinin neden olduğu bilinmektedir. “Mavi-göz”den sorumlu olan fungusun identifikasyonu, muhafaza safhasındaki problemlerin çözümüne yardımcı olabilir. *Penicillium* özellikle *P. oxalicum*'un gelişmesi için yüksek düzeyde nem gerekir. Nem düzeyi %17-18'in altında gelişemez Fungusun sporları muhafaza edilen bütün danelerin etrafında bulunur. Böylece kurutma, muhafaza ve bütün safhalarında enfeksiyon mevcuttur (72). *Aspergillus glaucus* grubun birçok ülkede sıklıkla görüldüğü ve saklanan tahıllarda nem oranı %14-15 gibi düşük değerlerde bile osmofilik organizma olarak ürettiği ve bu nedenle *A. glaucus* grubun muhafaza edilen tahıllarda okratoksin-A oluşturmada büyük önem taşıdığı belirtilmektedir. (24).

Hububat tanelerinin depolanması sırasında nem oranının %15' in üzerinde olması halinde depo küflerinin mikotoksin oluşturma olasılığı bulunmaktadır. Depolama sırasında hububat çeşitlerinde mikotoksin oluşturan iki cins *Aspergillus* ve *Penicillium*'dur. Bu cinslere ait pek çok tür OA yanında aflatoksin, sitrinin, patulin ve diğer birçok toksik metaboliti üretebilmektedir. *A. ochraceus* ve *P. viridicatum* ve diğer türlerin oluşturdukları OA birçok gıdadan izole edilmekle birlikte en yaygın

olarak depolanmış hububatlardan izole edilmiştir. Burada bir çok faktör, sıcaklık nem, gelişme, hasat ve sonrasındaki kurutma ve saklama dönemi gibi iş görmektedir. İngiltere tarafından ekinlerimiz üzerinde yapılan çalışmada 1995 yılı yağışlarının Yunanistan ve Türkiye’de ekinleri etkilediği belirtilmektedir (73).

Avrupa Birliği, Scientific Committee on Food (SCF) tarafından gıdalardaki toksikolojik gelişmelere dayalı bazı mikotoksin standartları üzerinde çalışmaktadır. Bu standartlarda OA ve diğer toksinler için makul olan en düşük ulaşılabilecek seviye esas alınmaktadır (74).

Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives tarafından yayınlanan teknik raporun 2. Kısımında günlük OA alım miktarlarına yer verilmektedir. Ayrıca JECFA tarafından, toksikolojik yönden standart belirlememiş ülkelere yardımcı olmak, tüketici sağlığını korumak ve gıda ürünlerinin uluslararası ticaretini sağlayabilmek amacıyla bu konudaki tüm gelişmeler sunulmaktadır (75).

3. MATERYAL METOT

3.1 MATERYAL

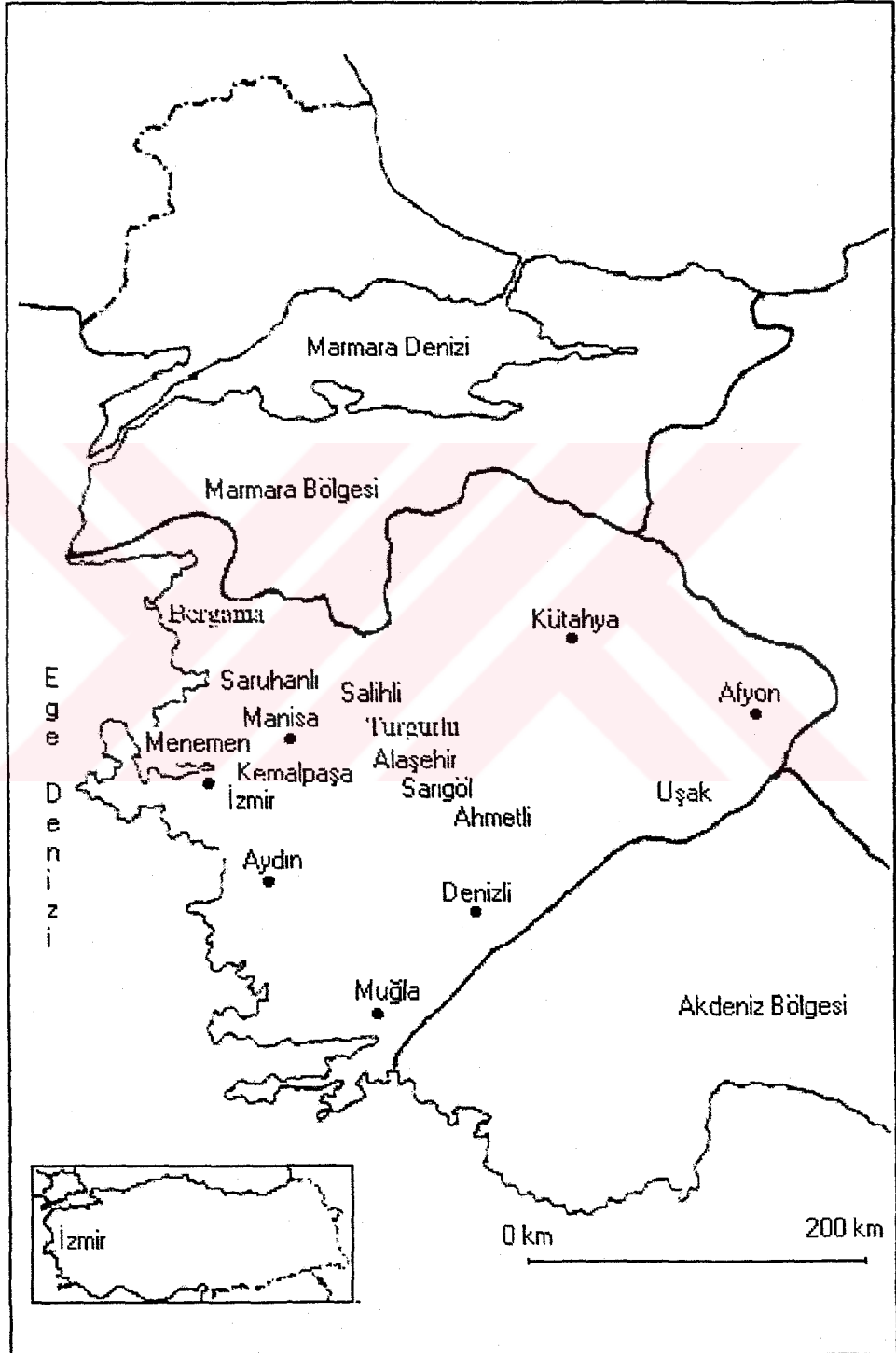
3.1.1 Üzüm Örnekleri

Çalışmamızda İzmir ve Manisa illerindeki 11 farklı bölge ve 23 bağdan 20'si kuru 35'i yaş olmak üzere toplam 55 üzüm örneği toplanmış ve kullanılmıştır.

Bu bağlara ait bölge haritası Şekil 3.1.1' de ve alınan örnek sayısı ve alındığı bölgelere göre dağılımı Tablo 3.1.1.1 de görülmektedir. Tablo 3.1.1.2 de örneklerin toplandığı bağlar ve bu bağların genel özellikleri, Tablo 3.1.1.3 te ise alınan örneklerin numara sırası ile cinsi ve örneğin özelliği verilmektedir.

Tablo 3.1.1.1 Örneklerin Toplandığı Bağların Bölge ve Sayısı

Bağ Bölgesi	Örnek Sayısı
Alaşehir	4
Kavaklıdere	11
Sarıgöl	4
Salihli	11
Saruhanlı	7
Turgutlu	4
Manisa	3
Menemen	5
Ahmetli	3
Kemalpaşa	2
Yeşilyurt	1



Şekil 3.1.1 Çalışma Bölgesi Haritası

Tablo 3.1.1.2 Örneklerin Toplandığı Bağlar ve Bu Bağların Genel Özellikleri

Bağ Kodu	Alındığı Yer-Kod	Bağların Özellikleri
1A/3	Belenyaka köyü, ALAŞEHİR	5 dönüm, organik, susuz, beton sergi bakımsız,goble, mücadele az, kurutmalık
1A/4	Elemli Köyü, Barayeri Mevkii Kırbağ ALAŞEHİR	19 dönüm, sulu, beton sergi, bakımlı, T-sistem, mücadele var, kurutmalık
1K/1	KAVAKLIDERE	5 dönüm, susuz, beton sergi, bakımlı, T-sistem, mücadele var, kurutmalık
1K/4	Köy Cıvarı Mevkii KAVAKLIDERE	10 dönüm, sulu (Şubat-Temmuz), beton sergi, bakımlı, t-sistem mücadele var, kurutmalık, 1 kez hormon
1K/6	Govukdere Mevkii, KAVAKLIDERE	10 dönüm, sulu, kanaviçe sergi, bakımlı, V sistem, mücadele var, kurutmalık
1Y/1	YEŞİLYURT	10 dönüm, sulu, beton sergi, organik değil, bakımlı, T-sistem, mücadele var, kurutmalık, 2 kez hormon
2/1	Aşağı Kavaklar Mah. Ömerli Çukuru SARIGÖL	10 dönüm, sulu, beton, bakımlı, T-sistem, mücadele var, kurutmalık
2/5	Bağlıca Köyü, Trafo Yanı SARIGÖL	4.5 dönüm, sulu (1 Mayıs, 1 Haziran, 20 Haziran, 20 Temmuz, 20 Ağustos), Tel + beton sergi, bakımlı, 4 kez hormon (yıkama, sulama), T-sistem, mücadele var, kurutmalık, sofralık
3/2	Eldelek Köyü, Seydibaba Mevkii, Salihli SALİHLİ	12 dönüm, sulu, beton sergi, bakımlı, T-sistem, mücadele var, kurutmalık
3/3	Çavlu Köyü, Köy Cıvarı Mevkii, SALİHLİ	13 dönüm, sulu, beton sergi, bakımlı, T-sistem, mücadele var, kurutmalık
3/4	SALİHLİ	10 dönüm, sulu, beton sergi, bakımlı, T-sistem, mücadele var, kurutmalık
4/3	SARUHANLI	10 dönüm, sulu, beton sergi, bakımlı, T-sistem, mücadele var, kurutmalık

Tablo 3.1.1.2 (devam)

4/4	Hacırahmanlı Köyü, SARUHANLI	18 dönüm, sulu, beton sergi, bakımlı, T-sistem, mücadele var, kurutmalık
4/5	SARUHANLI	10 dönüm, sulu, kaneviçe sergi, bakımlı, T-sistem, mücadele var, kurutmalık
4/6	Naili Kırı Mevkii, SARUHANLI	9 dönüm, sulu, kaneviçe sergi, bakımlı, T-sistem, mücadele var, kurutmalık
5/2	TURGUTLU	10 dönüm, susuz, kaneviçe sergi, bakımlı, duvar sistem, mücadele var, kurutmalık
5/3	Akçapınar Köyü, Kerezli Mevkii, TURGUTLU	11 dönüm, susuz, kaneviçe sergi, bakımlı, duvar sistem, mücadele var, kurutmalık
6/3	Harmandalı, Doğanca Mevkii MANİSA	20 dönüm, susuz, beton sergi, duvar sistem, kurutmalık
7/3	Haykıran Köyü, Belenaltı Mevkii MENEMEN	5 dönüm, sulu, beton sergi, bakımlı, duvar sistem, mücadele var, kurutmalık
7/4	Haykıran Köyü, Kurbağlık Mevkii, MENEMEN	6 dönüm, sulu, kaneviçe sergi , bakımlı, T-sistem, mücadele var, kurutmalık
8/1	Köy Civarı Mevkii AHMETLİ	8 dönüm, sulu, kaneviçe sergi, bakımlı, T-sistem, mücadele var,
8/2	Karaköy, Geribaşı Mevkii AHMETLİ	2 Dönüm, sulu, <kaneviçe sergi, bakımlı, duvar sistem, mücadele var, kurutmalık, 1 kez hormon
9/2	Yuklarıkızılca, Çukurbağlar Mevkii KEMALPAŞA	15 dönüm, susuz, Kaneviçe sergi, bakımlı, organik, goble, kurutmalık, mücadele yok

Tablo 3.1.1.3 Alınan Örneklerin Numarası, Cinsi ve Örneğin Özelliği

Örnek No	Örneğin Alındığı Bağ Kodu	Örneğin Cinsi	Örneğin Özelliği
1.	1A/3	Yaş	Bağı temsil edecek şekilde toplandı
2.	1A/4	Yaş	Bağı temsil edecek şekilde toplandı
3.	1K/1	Yaş	Bağı temsil edecek şekilde toplandı
4.	1K/4	Yaş	Bağı temsil edecek şekilde toplandı
5.	1K/4	Balgamlı-Yaş	Tek bir asmayı temsil edecek şekilde toplandı
6.	1K/4	Yaş	Bağı temsil edecek şekilde toplandı
7.	1K/6	Sık Salkım-Yaş	Tek bir asmayı temsil edecek şekilde toplandı
8.	1K/6	Balgamlı-Yaş	Tek bir asmayı temsil edecek şekilde toplandı
9.	1K/6	Seyrek Salkım-Yaş	Tek bir asmayı temsil edecek şekilde toplandı
10.	1Y/1	Yaş	Bağı temsil edecek şekilde toplandı
11.	2/1	Yaş	Bağı temsil edecek şekilde toplandı
12.	2/5	Yaş	Bağı temsil edecek şekilde toplandı
13.	3/2	Asmanın Doğusu-Yaş	Tek bir asmayı temsil edecek şekilde toplandı
14.	3/2	Asmanın Batısından-Yaş	Tek bir asmayı temsil edecek şekilde toplandı
15.	3/2	Asmanın kuzeyinden-Yaş	Tek bir asmayı temsil edecek şekilde toplandı
16.	3/2	Asmanın Tepesi-Yaş	Tek bir asmayı temsil edecek şekilde toplandı
17.	3/2	Asmanın Altı-Yaş	Tek bir asmayı temsil edecek şekilde toplandı
18.	3/2	Asmanın Ortasından-Yaş	Tek bir asmayı temsil edecek şekilde toplandı
19.	3/2	Asmanın güneyi-Yaş	Tek bir asmayı temsil edecek şekilde toplandı
20.	3/3	Yaş	Bağı temsil edecek şekilde toplandı
21.	4/3	Yaş	Bağı temsil edecek şekilde toplandı
22.	4/5	Yaş	Bağı temsil edecek şekilde toplandı
23.	4/6	Yaş	Bağı temsil edecek şekilde toplandı
24.	5/2	Yaş	Bağı temsil edecek şekilde toplandı
25.	5/3	Yaş	Bağı temsil edecek şekilde toplandı
26.	6/3	Yaş	Bağı temsil edecek şekilde toplandı
27.	6/3	Balgamlı	Tek bir asmayı temsil edecek şekilde toplandı
28.	7/3	Yaş	Bağı temsil edecek şekilde toplandı
29.	7/3	Balgamlı-Yaş	Tek bir asmayı temsil edecek şekilde toplandı
30.	7/4	Yaş	Bağı temsil edecek şekilde toplandı
31.	8/2	Yaş	Bağı temsil edecek şekilde toplandı
32.	9/2	Yaş	Bağı temsil edecek şekilde toplandı
33.	1A/3	Kuru	Bağı temsil edecek şekilde toplandı

Tablo3.1.1.3 (devam)

34.	1A/4	Kuru	Bağı temsil edecek şekilde toplandı
35.	1K/1	Kuru	Bağı temsil edecek şekilde toplandı
36.	1K/4	Kuru	Bağı temsil edecek şekilde toplandı
37.	1K/6	Kuru	Bağı temsil edecek şekilde toplandı
38.	1Y/1	Kuru	Bağı temsil edecek şekilde toplandı
39.	2/1	Kuru	Bağı temsil edecek şekilde toplandı
40.	2/5	Kuru	Bağı temsil edecek şekilde toplandı
41.	3/2	Kuru	Bağı temsil edecek şekilde toplandı
42.	3/3	Kuru	Bağı temsil edecek şekilde toplandı
43.	4/3	Kuru	Bağı temsil edecek şekilde toplandı
44.	4/5	Kuru	Bağı temsil edecek şekilde toplandı
45.	4/6	Kuru	Bağı temsil edecek şekilde toplandı
46.	5/2	Kuru	Bağı temsil edecek şekilde toplandı
47.	5/3	Kuru	Bağı temsil edecek şekilde toplandı
48.	6/3	Kuru	Bağı temsil edecek şekilde toplandı
49.	7/3	Kuru	Bağı temsil edecek şekilde toplandı
50.	7/4	Kuru	Bağı temsil edecek şekilde toplandı
51.	8/2	Kuru	Bağı temsil edecek şekilde toplandı
52.	9/2	Kuru	Bağı temsil edecek şekilde toplandı
53.	3/4	Yaş	Bağı temsil edecek şekilde toplandı
54.	4/4	Yaş	Bağı temsil edecek şekilde toplandı
55.	8/1	Yaş	Bağı temsil edecek şekilde toplandı

3.1.2 Yurt Dışından Getirilen Küf Suşu

Çalışmamızda Belçika kültür Koleksiyonu Merkezinden getirtilen potansiyel okratoksijenik suş *Aspergillus alutaceus* (MUCL 39539) ve *Aspergillus alutaceus* (MUCL 39534) kullanılmıştır.

3.1.3 Kullanılan Besi Yerleri

3.1.3.1 Kloramfenikol Rose-Bengal Agar

Ticari olarak satılan (Oxoid) CM 549 Chloramphenicol Rose-Bengal Agar kullanılmıştır. 16 gr'ı tartılarak 500 ml distile suya ilave edilmiş ve 121 °C de 15 dakika steril edilerek sterilizasyon sonrası Selective Supplement SR 78 (0.05 gr) Chloramphenicol ilave edilmiştir (76).

3.1.3.2 Malt Extract Agar

Ticari olarak satılan Oxoid CM 59 Malt Extract Agar kullanılmıştır. 50 gr Malt Extract Agar 1000 ml distile su içerisinde ilave edilerek çözülmüş ve 121 °C de 15 dakika steril edilmiştir (76).

3.1.3.3 Czapek-Dox Agar

Ticari olarak satılan Oxoid marka CM 97 Czapek-Dox Agar kullanılmıştır. 45.5 gr'ı 100ml distile su içerisinde ilave edilerek kaynatılmak suretiyle çözülmüş ve 121 °C de 15 dakika steril edilmiştir(76).

3.1.3.4 Malt Extract Broth

Ticari olarak satılan (Merck VK 517997 019) marka Malt Extract Broth ve Pepton için Acuamedia Pancreatic Digest of Casein (Peptone C), Katalog No. 7179 kullanılmıştır (77).

Malt Extract.....	17.0 gr
Pepton.....	3.0 gr
Distile su.....	1000 ml

PH = 4.8 +/- 0.2

121 °C de 20 dakika otoklavda steril edilmiştir.

3.1.3.5 Skim Milk Besiyeri

Skim Milk (Oxoid 69571).....	10 gr
Tween 80.....	%0.2 ml
Distile su.....	100 ml

115 °C de 10 dakika steril edilmiştir(76).

3.1.3.6 Yeast Extract Sucrose Broth

Okratoksin –A üretimi amacıyla kullanılmıştır. Bacto Yeast Extract (Difco no.127838 JC) agara sakkaroz ilavesiyle hazırlanmıştır (78).

Bacto Yeast Extract.....%2

Sakkaroz (Merck).....%15

Su.....100 ml

pH 7 ye ayarlandı.

3.1.4 Boya Çözeltisi

3.1.4.1 Laktofenol Pamuk Mavisi çözeltisi

Önce Laktik Asit çözeltisi hazırlamak için önce

Fenol.....20.0 gr

Laktik asit.....10 ml

Gliserin.....10 ml

Distile su.....10 ml

olarak hazırlanmıştır. Daha sonra bu çözeltinin 100 ml içinde 1 g Pamuk mavisi çözülerek hazırlanmıştır (79).

3.1.5 Kimyasal Malzemeler

Çalışmamızda Metanol, Asetonitril, Asetik asit, Sodyum bikarbonat, Fosfat tuzu (PBS) kullanılmıştır.

3.1.6 HPLC koşulları

Ayırma oda temperaturünde yapılmıştır. Mobil fazda asetonitril: su: asetik asit (49:49:2 hacim/hacim/hacim). Mobil fazı dağıtmak için kullanılan PLC pompası akış hızı dakikada 1 ml'ye ve flouresans dedektörü eksitasyon için 333nm, emisyon için 443 nm ye ayarlanmıştır. HPLC cihazına injekte edilen hacim 20 µl, yaklaşık alıkonma zamanı 10 dakika, basınç 9,6 bar, saptama limiti 0.16 ppb'dir Denemelerin yapılmasında Ochraprep immunoaffinite kolonlar ve Okratoksin-A saptama yöntemi kullanılmıştır (77)

3.1.7 HPLC Mobil Fazı

Asetonitril:Su:Asetik asit (49:49:2, hacim/hacim/hacim) olarak hazırlanmıştır (80).

3.1.8 Standartlar

Okratoksin-A ekstraksiyonunda kullanılan standartlar TAMSOP 3'e göre hazırlanmıştır(81).

3.1.7.1 Okratoksin-A Stok Standardı

OA standardı 1000 ng/ml metanolde çözülmüş olarak temin edilmiştir. 0-5 °C arasında saklanmış ve kullanmadan önce oda sıcaklığına gelmesi beklenmiştir.

3.1.7.2 Okratoksin-A ara standardı

Pipetle stok OA standardından 0.1 ml çekilerek 1:10 oranında metanolle sulandırılarak 100 ng/ml'lik standart hazırlanmıştır.

3.1.7.3 Okratoksin-A çalışma standardı-1

OA ara standardından 0.1 ml çekilerek 10 ml elusyon solventi:su (1:1 hacim/hacim) ile tamamlanmıştır. Yaklaşık konsantrasyon (1 ng/ml) elde edilmiştir.

3.1.7.4 Okratoksin-A çalışma standardı-2

OA ara standardından 0.2 ml çekilerek 10 ml elusyon solventi:su (1:1 hacim/hacim) ile tamamlanmıştır. Yaklaşık konsantrasyon (2 ng/ml) elde edilmiştir.

3.1.7.5 Okratoksin-A çalışma standardı-3

OA ara standardından 0.4 ml çekilerek 10 ml elusyon solventi: su (1:1 hacim/hacim) ile tamamlanmıştır. Yaklaşık konsantrasyon (4 ng/ml) elde edilmiştir.

3.1.7.6 Okratoksin-A Spike Solusyonu

Okratoksin-A Stok standardı kullanılarak spike seviyesi kalibrasyon aralığı içinde ortalama bir değer olarak alınmıştır.

3.1.9 Ekstraksiyon Solventleri

Okratoksin-A ekstraksiyonunda kullanılan tüm çözeltiler TAMSOP 3'e göre hazırlanmıştır(81).

3.1.8.1 Sodyum Bikarbonat

100 ml için % 2 (ağırlık/hacim) olacak şekilde hazırlanmıştır. Ultrasonik banyoda 10 dakika tutularak çözülmenin tam olması sağlanmıştır (81).

3.1.8.2 Fosfat Tuzu (PBS)

Rhone Diagnostics Technologies Ltd. tarafından üretilen ve ticari olarak satılan Phosphate Buffered Saline (Lot: 104381-002) kullanılmıştır.

10 adet PBS tablet 1 lt distile su içerisinde çözülmüş ve pH'ı 7,4'e ayarlanmıştır(81).

3.1.8.3 Metanol Çözeltisi

Suda %20 Metanol (hacim/hacim) olacak şekilde hazırlanmıştır(81).

3.1.8.4 Elusyon Solventi

2 ml asetik asit 100 ml 'lik balon jöjeye konur ve 100 ml ye metanolla tamamlanır. Her analiz için 1.5 ml elusyon solventi desorpsiyon çözelitisi olarak da kullanılmıştır. Bu çözelti taze olarak hazırlanmıştır(81).

3.1.10 Okratoksin-A'nın Kantitatif Saptanmasında Kullanılan Ekipman

Bu çalışmada kullanılan malzemeler şunlardır: cam malzeme, blender, filtre kağıtları, huniler, ekstraksiyon çözeltisi, distile su, fosfat tamponu, asetik asit, şırınga tüpleri (10 ml'lik), pompa birimi ve adaptör, Okratoksin-A standardı, immunoaffinite kolonlar ve HPLC sistemi.

Okratoksin-A kantitatif analizinde HPLC cihazı Hewlet Packard Serie 1100, HPLC kolonu Agilent Technologies'e ait Hypersil ODS 5 µm, Vakum manifold aparey J.T. Baker spe-12G kullanılmıştır. Okraprep immunoaffinite kolonları ise Rhone Diagnostic Technologies 'den satın alınmıştır.

3.2 METOT

3.2.1 Yaş Üzüm Örneklerinin Toplanması

Temmuz Ağustos 1999 tarihleri arasında çalışma alanımız içinde yer alan 23 bağdan 35 yaş üzüm örneği tablo 3.1.1.3'te belirtildiği şekilde ya tüm bağı veya hastalıklı üzüm salkımlarını temsil edecek şekilde ve sayıda, ya da tek bir asmanın iç ve dış bölgelerinden veya değişik bölgelerinden alınarak 3-5 kg' lık kompozit örnekler halinde ağzı kilitli polietilen poşetlere konularak hemen laboratuara getirilerek küf izolasyonları yapılmıştır.

3.2.1.1 Yaş Üzüm Örneklerinden Küf İzolasyonu

Analiz edilecek örneklerin 1 kg' lık porsiyonu, steril blender (Waring Blender) ile 3 dakika süre ile parçalanarak homojenize edildi Yöntem olarak "Dökme Plaka Tekniği" kullanılmıştır (82). 50 gr homojenize edilmiş üzüm örneği, steril beher içinde tartılarak 450 ml distile su ile steril blender kullanılarak parçalanmıştır.

Çalkalayıcıda 25°C de 30 dakika çalkalanarak küflerin suya geçmesi sağlanmıştır ve bu elde edilen homojenat 10⁻¹ lik dilusyon olarak kabul edilmiştir. İçinde 9 ml distile su bulunan tüpler kullanılmak suretiyle 10⁻¹ den 10⁻⁵ e kadar dilusyonlar hazırlanmış ve her bir dilusyondan 9 cm çapındaki steril petrilere 1'er ml konularak üzerlerine 45 °C ye kadar soğutulmuş Rose-Bengal Kloramfenikol Agar dökülerek sekiz hareketi ile homojen karışması ve katılaşması sağlanmıştır (82).

Bütün dilusyonlardan paralelli çalışılmıştır. Katılaşılan petriler 25 °C de 5-7 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda petriler ters çevrilip asetat kalemiyle işaretlenmek suretiyle sayılmış ve sayım sonucu her petri için seyreltme faktörü ile çarpılarak iki petrinin ortalaması alınmak suretiyle sonuç kob/g (koloni oluşturan birim/g) cinsinden verildi. Birbirinden farklı koloniler gözle ve steromikroskopla incelenmek suretiyle farklılık gösterenler yatık olarak hazırlanmış Malt Ekstrakt Agar'a ekilmiş ve +4 °C de buzdolabında saklanmıştır.

3.2.2 Kuru Üzüm Örneklerinin Toplanması

Yaş üzümün alındığı bağlarda kurutulmuş olan kuru üzüm yığınının farklı bölgelerinden alınarak 1 kg'lık örnek oluşturulmuştur. Bu örnekler ağzı kilitli polietilen torbalar içerisinde laboratuara getirilerek analize alınmıştır. Yöntem olarak "Dökme Plaka Yöntemi" kullanılmıştır (82).

4.2.2.1 Kuru Üzüm Örneklerinden Küf İzolasyonu

500 g kuru üzüm örneği 3:5 (üzüm:su) oranında sulandırılarak Waring Blender ile parçalanarak homojenize edilmiştir. Daha sonra bundan 50 g alınarak 450 ml steril distile su konmuş ve çalkalayıcıda 25°C de 30 dakika çalkalanarak küflerin suya geçmesi sağlanmıştır ve bu elde edilen homojenat 10^{-1} lik dilusyon olarak kabul edilmiştir. İçinde 9 ml distile su bulunan tüpler kullanılmak suretiyle 10^{-1} den 10^{-5} e kadar dilusyonlar hazırlanmış ve her bir dilusyondan 9 cm lik steril 1'er ml konarak üzerlerine 45 °C ye kadar soğutulmuş Rose-Bengal Kloramfenikol Agar dökülerek sekiz hareketi ile homojen karışması ve katılaşması sağlanmıştır (82). Bütün dilusyonlardan paralelli çalışılmıştır. Katılaşılan petriler 25 °C de 5-7 gün inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyon sonunda petriler ters çevrilip asetat kalemiyle işaretlenmek suretiyle sayılmış ve sayım sonucu her petri için sulandırma katsayısı (10^{-1} den 10^{-5} e kadar olan dizi için) ve seyreltme faktörü (3/5) ile çarpılarak iki petrinin ortalaması alınmak suretiyle sonuç kob/g (koloni oluşturan birim/g) cinsinden verildi. Birbirinden farklı koloniler gözle ve steromikroskopla incelenmek suretiyle farklılık gösterenler yatık olarak hazırlanmış Malt Ekstrakt Agar'a ekilmiş ve +4 °C de buzdolabında saklanmıştır.

3.2.3 İzole Edilen Türlerin Tanılanması

İdentifikasyon amacıyla herbir izolat Czapek-Dox Agar ve Malt Extract Agar'a ekilerek 27 °C de 10-14 gün inkübasyon döneminin sonunda her bir petrideki saf kültür fotoğraflanmış, morfolojik incelemede petriyer çıplak göz ve steromikroskop kullanılmak suretiyle incelenerek morfolojik özellikleri kaydedilmiştir. Laktofenolle preparat hazırlanarak mikroskopta detaylı incelenip ölçüleri alınmış, ayrıca çizimler yapılmış, mikroskopik yapısı fotoğraflanarak ve teşhis için ilgili literatürlere başvurulmuştur.

Kültürlerin tanısında, koloni çapı, koloni yüzey rengi, tekstürü, koku, koloni alt yüzey rengi, zonasyon ve eksüda gibi morfolojik özellikleri gözle ve steromikroskop kullanılmak suretiyle incelenmiştir.

Aspergillus genusuna ait türlerin tanısında Raper et Fennell (83), Domsch et al. (84), Samson et al. (85), Von Arx (86), Samson and Pitt (87) ve Hasenekeoğlu (88)'den yararlanılmıştır. *Penicillium* genusuna ait türlerin tanısında ise Raper and Thom (89), Domsch et al. (84), Samson et al. (85), Fassatiova (90), Samson & Pitt (87), Von Arx (86), ve Hasenekeoğlu (91)'den yararlanılmıştır. *Penicillium* ve *Aspergillus* genusu dışında kalan *Deuteromycetes*' ler için Barnett (92), Domsch et al. (84), Samson et al. (85), Hasenekeoğlu (93)'den yararlanılmıştır.

Koloni karakteristiklerini belirlemek amacıyla yapılan ilk gözlemlerde düşük büyütme binoküler veya stereomikroskop kullanılmış, detaylı incelemeler Olympus (Bx50) marka mikroskop ve 1.30 N.A. değerine sahip immersiyon objektifi ile immersiyon yağı kullanılarak yapılmıştır.

Petri kaplarının fotoğraflanmasında büyük kısmında Canon EOS 50E (f=28mm-200mm, 1:3.8-5.6 Ø 72), diğerlerinde Sony Digital Mavica, 10 x optical 200m (Quick Access FD Drive 2x, f=4.2mm-42 mm 1:1.8 Ø37) kullanılmıştır. Fungusların mikroskopik detaylarının fotoğraflanmasında Olympus B x50 model fotoğraf makineli mikroskop kullanılmış, ölçeklendirme yapılarak mikrometre cinsinden fotoğraflar üzerinde gösterilmiştir. Fotoğrafların taranmasında Mustek, 600 II N scanner kullanılmıştır.

3.2.3.1 Seloteyp-Bant Metodu

Preparatların hazırlanmasında kullanılan diğer bir yöntemdir. Bu yöntem, lamı uzunluğuna örtecek ve kenarlarından 1 cm dönecek kadar seloteyp bantın kesilerek koloni kenarına üstten hafifçe bastırılması yoluyla alınan misel ve sporların lam üzerine damlatılan 1 damla laktofenol kotton mavisi üzerine kapatılarak incelenmesidir. Bu yöntem kullanıldığında bantın altında bulunan hava kabarcığı hafifçe bastırılarak çıkartılır. Ancak bu yöntemde kalan çok ince hava kabarcığı içeren alanların bulunması da mikroskopik incelemede misel ve sporların hücre duvarlarının görünümünü daha da belirgin hale getiren bir özelliktir(94).

3.2.3.2 Lam-Lamel arası inceleme Yöntemi

İncelenecek küf kültüründen alevde steril edilmiş iğne ya da öze yardımıyla alınan küçük parçanın bir damla Laktofenol Pamuk Mavisi lam üzerine alınarak lamel ile kapatılarak incelenmesi suretiyle yapılmıştır.

3.2.3.3 Slayt Kültür Yöntemi

Bu yöntem mikrofungusların mikroskopik incelenmesi amacıyla kullanılmıştır. Bu yöntemde her bir petri içine yerleştirilen cam çubuklar üzerine birer lam konarak pastör fırınında 170 °C'de 1 saat steril edilmiştir. Daha önceden hazırlanmış olan ve 121 °C de 15 dakika süreyle steril edilen Malt Extract Agar steril petri kabına dökülerek katılaştırıldıktan sonra steril baget ve pensler yardımıyla lamelin örteceği büyüklüğe yakın kesilen kare bir agar parçası petri içinde hazırlanmış olan steril lam üzerine alınarak dört tarafından steril iğne kullanılarak inkübe edilmiş ve steril lamel kapatılarak 3-5 gün inkübasyona bırakılarak incelenmiştir. Petri kabının içine kurumayı önlemek amacıyla gliserol ilave edilmiş ve büyüme uygun safhaya geldiğinde lamel alınarak 1 damla Laktofenol Pamuk mavisi damlatılmış lam üzerine kapatılarak mikroskopta incelenmiştir(95,96).

3.2.4 Kültürlerin Muhafazasında Kullanılan Yöntemler

İdentifikasyonu yapılan türler uzun süreli muhafaza amacıyla iki ayrı yöntemle saklanmıştır. Her iki yöntemde de kültürler önce aktive edilmişlerdir.

3.2.4.1 Derin Dondurucuda muhafaza

İzolatlar yatık Malt Extract Agar'a ekilmiş ve 5-7 günlük inkübasyondan sonra kültürler -20 °C de derin dondurucu da saklanmıştır

3.2.4.2 Liyofilizasyon

Her bir izolat Malt Extract Agar'da aktive edildikten sonra kültür tüplerine 4'er ml Skim Milk ilave edilerek ve pipet ucu ile yavaşça kazınarak ve iyice karıştırılarak toplanan sporların Skim Milk çözelti'sine geçmesi sağlanmıştır. Önceden tromel (kapaklı çelik kap) içinde 170 °C'de 1 saat Pastör fırınında steril edilmiş olan liyofilizasyon şişelerine 1'er ml konduktan sonra bir gece derin dondurucuda -20 °C'de bırakıldıktan sonra liyofilizasyon cihazında -55 °C'de 10⁻³ milibar basınçta liyofilize edilmiştir(95).

3.2.5 Mikroorganizmaların Hazırlanması

Okratoksin A üretimi için *Aspergillus alutaceus* (MUCL 39539), *Aspergillus alutaceus* (MUCL 39534) ile üzümlerden izole ettiğimiz ve tanıladığımız *Aspergillus ochraceus* suşu kullanılmıştır. Bütün mikroorganizmalar önce yatık Malt Agar'da 7 gün 25 °C aktive edildikten sonra ekim yapılarak kültür hazırlanmıştır.

3.2.6 Okratoksin-A Üretiminin Kantitatif olarak Saptanması

3.2.6.1 Büyüme Eğrisinin Çıkarılması

Okratoksin-A üretiminin zamana bağlı olarak değişiminin incelenmesinde . Malt Extract Broth besiyeri kullanılmıştır. Malt Extract Broth Besiyeri materyal metot bölümünde tarif edildiği gibi hazırlanarak 250 ml'lik erlenlere 100'er ml dağıtılmak suretiyle 121 °C 20 dakika steril edilerek hazırlanmıştır. İnokülasyon için *Aspergillus alutaceus* (MUCL 39539) suşu kullanılmıştır. Daha önceden Yatık Malt Extract Agar'a aşılarak aktive edilmiş *Aspergillus alutaceus* (MUCL 39539) suşundan 250 ml'lik erlenlerde bulunan Malt Extract Broth besiyerine Thoma Lamı ile mikroskopta sayım yapılarak hazırlanmış spor süspansiyonu ile 10⁶ spor/ml olacak şekilde aşılarak 25 °C de 20 gün 200 devir/dakika rotatif çalkalayıcı inkübe edilmiştir.

Örnekler çift seri çalışılmış, birinci günden yirminci güne kadar her bir erlen çifti sırayla alınarak 121 °C 15 dakika tutulmak suretiyle mikrofungusların gelişmesi durdurulmuştur. Önceden nemi giderilmiş (100 °C de 1 saat) ve darası alınmış Watman filtre kağıdı kullanılarak vakum pompası ile miselyumlar ayrıldıktan sonra miseller 105 °C de 8 saat kurutulmuş ve büyümeyi belirlemek amacıyla kuru tartıları alınarak birinci günden yirmi ikinci güne kadar her bir gün için misel ağırlığının ortalaması alınarak stasyonere fazın kaçınıcı günde başladığını saptamak amacıyla büyüme eğrisi çizilmiştir.

3.2.6.2 Pirinç Üzerinde Okratoksin-A Üretiminin İncelenmesi

İzole edilerek tanımlanmış potansiyel Okratoksin-A üreticisi olan ve olmayan 24 suş OA üretimi için uygun bir substrat olan pirinçte büyütülerek OA üretilip üretilmediği incelenmiştir.

Okratoksin-A üretimi, katı ortam olarak 50'şer gr Baldo pirinç içeren 300 ml'lik erlenlerde yapılmıştır. Erlenlerdeki 50 gr pirinçte 25 ml çeşme suyu ilave edildikten sonra bu karışım sık sık çalkalanarak 2 saat beklemeye bırakılmış ve daha sonra, 1,5 atmosferde 121 °C'de 15 dakika sterilize edilip soğutularak hazırlanmıştır.

İnokulum hazırlamak için, incelenecek küf suşlarının her biri tüpte yatık olarak hazırlanmış Malt besiyeri'ne ekilerek 25 °C'de 7-9 gün inkübe edilmiştir. Bu yatık agarların yüzeyi bir öze yardımıyla hafifçe kazınarak homojen bir süspansiyon oluşuncaya kadar iki el arasında çalkalandıktan sonra bu süspansiyonun 0.5 ml' si 50 gr' lık substratı aşılama için kullanılmıştır (100).

Hazırlanan, 50'şer g pirinç içeren bu erlenler *Aspergillus alutaceus* MUCL 39539 suşu ile ve izole edip tanıladığımız *Aspergillus ochraceus* suşu ile çift seri olarak aşılansak 28 °C' de 15 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon boyunca her bir erlene 24. ve 45. saatlerde 1 ml steril su ilave edilerek ve erlenler her gün 2-3 defa elle iyice çalkalanarak pirinç tanelerinin birbirine yapışık kümeler oluşturmasını engellenmiştir (97,98).

3.2.6.3 Sıvı Kültürde Okratoksin-A'nın Zamana Göre Değişiminin İncelenmesi

Pirinç ortamında OA ürettiği belirlenmiş olan *A.ochraceus* 37-10 suşunun OA üretiminin zamana göre değişimi sıvı kültürde incelenmiştir. Bunun için YES Broth'a ml'de 10^6 spor/ml olacak şekilde aşılama yapılmıştır.

OA üretim miktarının 11. günler ile 27. günler arasında birer gün ara ile belirlenmesi için 50 şer ml YES broth içeren erlenler kullanılmıştır. Deneme iki seri olmak üzere paralel yapılmış ve 27.'nci güne kadar 28 °C' de 200 rpm rotatif çalkalayıcıda inkübe edilmiştir.

Çalkalayıcıdan alınan erlenler 121 C' de 20 dakika otoklavlandıktan sonra Whatman No.1 filtreden geçirilerek miselyumları uzaklaştırılmış ve kalan filtrat steril renkli şişe içerisine alınarak ekstraksiyon için derin dondurucuda muhafaza edilmiştir. Bütün örnekler toplandıktan sonra aşağıda anlatıldığı şekilde OA ekstraksiyonu yapılmıştır.

3.2.6.4 Toksin Çözeltilisinin Absorbansının tayini

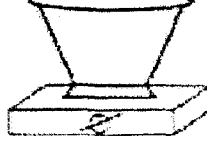
Toksin çözeltilisinin absorbansı, U.V Spektrometresinin benzen: asetik asit (99:1 hacim/hacim) kör değerine karşılık 333 nm ye ayarlanmak suretiyle tayin edilmiştir (80).

3.2.6.5 Okratoksin-A'nın Ekstraksiyonu

Rhone Diagnostic Tekniğine uygun olarak katı örneklerden Okratoksin-A ekstraksiyonu yapılırken örnek önce sulandırılıp homojenize (20 g katı örnek: 12 g su) edilmiştir. Bundan sonraki basamaklar hem katı hem de sıvı örneklerle aynen uygulanmıştır (80).

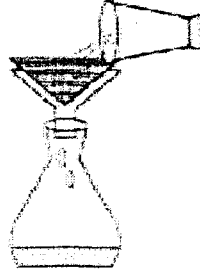
32 g sulandırılmış katı örnek (20 g katı örnek: 12 g su) 88 ml distile su ile 100 ml ye tamamlanmış ve 100 ml %2 lik sodyum bikarbonat ilave edilmiştir. Sıvı örnekler için ise bire bir oranında sodyum bikarbonat ilave edilmiştir. 2 dakika yüksek hızla blender kullanılarak homojenize edildikten sonra filtre kağıdından süzülerek 10 ml filtrata 10 ml PBS eklenerek sulandırılmıştır (80).

EKSTRAKSİYON

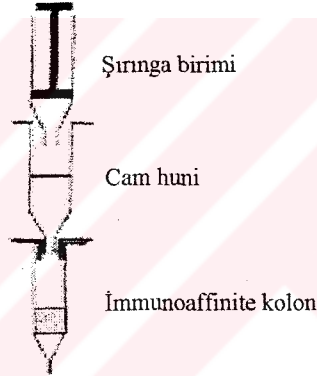


Blender

FİLTREASYON / DİLUSYON



ADSORBSİYON



Şekil 3.2.6.5 Okratoksin-A Ekstraksiyonu (80)

3.2.6.6 Örneğin Temizlenmesi

Oda sıcaklığına getirilen immunoaffinite kolonlar Vakum Manifold üzerine yerleştirilmiş ve bunların da üzerine 60 ml'lik şırıngalar yerleştirilmiştir. Ekstrakt dakikada 3 ml olacak şekilde okraprep immunoaffinite kolondan geçirilmiş ve kolon %20'lik metanolle yıkandıktan sonra son damlanın da çıkması şırınga ile hava verilerek sağlanmıştır.

3.2.6.7 Okratoksin-A'nın Elusyonu

Tüplerin içine yerleştirilen kolonlardan önce 1,5 ml elusyon solventi geçirilerek Okratoksin-A'nın kendiliğinden tüp içine akması sağlanmış ve bu işlem 1,5 ml distile su ile tekrarlanmak suretiyle kolondaki OA'nın tamamen tüplere alınması gerçekleştirilmiştir. Şırınga ile hava verilerek son damlanın da alınması temin edildikten sonra kolon tüp içinden çıkarılmış ve tüpün kapağı kapatılarak içinde kalan 3 ml'lik sıvı materyalin vorteks karıştırıcı ile karıştırılmıştır (80,81).

3.2.6.8 OA Spike Solusyonunun Numuneye Uygulanması

Kullanılan ekstraksiyon yöntemini test etmek için her 3 ekstraksiyonda bir kez olmak üzere 20 gr kurutulmuş örneğe 40 ng/ml'lik (40 ppb) Okratoksin-A standart çözeltisinden 5 ml (200 ng) eklenmiştir. Bu örnek 30 dakika bekletildikten sonra diğer örneklerde olduğu gibi sodyum bikarbonat ekstraksiyon işlemi buna da uygulanmıştır (81).

3.2.6.9 HPLC Miktar Tayini için Çözeltilerin Kullanıma Hazırlanması

Oda Sıcaklığına getirilmiş standart çözeltiler ve numune sırayla 20 µl olarak enjekte edilmiştir ve enjektör her enjeksiyon öncesinde ve sonrasında %2 asetik asit metanolde : su (1:1 hacim/hacim) ile yıkanmıştır (81).

3.2.7 Hesaplamalar

3.2.7.1 Ekstraksiyon Metodunun Geri Kazanım Yüzdesinin (%R) Saptanması

Spike edilen numunenin geri kazanım yüzdesi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır(81).

$$\%R = \frac{Q * 100}{Q' + C'}$$

Q: Spike edilen numunedeki OA konsantrasyonu (ng/g)

Q': Spike edilmemiş numunedeki OA konsantrasyonu (ng/g)

C': Spike edilen numuneye eklenen OA konsantrasyonu (ng/g)

3.2.7.2 Katı Örneklerdeki Okratoksin-A miktarının hesaplanması

Katı ortamda geliştirilen 24 suşun Okratoksin-A üretiminin hesaplanmasında katı ortam için kullanılan hesaplama yöntemi

$$\begin{aligned} \text{Numunedeki OA Konsantrasyonu: } & \frac{C_{\text{samp.}} * \text{Solvent} * \text{Elusyon}}{\text{Wt} * \text{F}} \\ & : \frac{\text{ng/ml} * \text{ml} * \text{ml}}{\text{gr} * \text{ml}} \\ & : \text{ppb} \end{aligned}$$

Burada, kullandığımız metoda göre;

C_{Samp} : HPLC 'de okunan değer (ng/ml),

Solvent : Ekstraksiyonda kullanılan solvent hacmi (200 ml),

Elusyon: Tüpte toplanan son hacim (3 ml),

Wt : Numune ağırlığı (20 g)

F : Kolondan geçen numune filtratının hacmi (10 ml)

Buradan elde edilen değerler yerine konduğunda;

Numunedeki OA Konsantrasyonu: $\frac{\text{ng/ml} * 3 * 200}{20 * 10}$

: ng/ml * 3

: ppb

olarak elde edilir.

3 katsayısı ile HPLC 'de okunan değerın çarpımı 20 gr katı materyalde bulunan OA miktarını ppb cinsinden vermektendir(80).

3.2.8 Cam Eşyaların Temizlenmesi

Analize başlamadan önce ve sonra tüm malzeme temizlendi. Okratoksin-A ekstraksiyonu için kullanılan her türlü malzeme (blender kabı, cam şırıngalar, pipetler, tüpler, hunile, filtreler) analiz sonrasında sodyum hipoklorit çözeltisi (%5 w/w) içine konularak 30 dakika dekontaminasyon için bekletilmiştir. Daha sonra çeşme suyu ile yıkanarak distile sudan geçirilmiştir (99).



4. BULGULAR

4.1 Genel Bulgular

Çalışmamızda İzmir ve Manisa'dan 11 farklı bölgedeki 23 bağdan alınan 20'si kuru üzüm, 35'i yaş üzüm olmak üzere toplam 55 üzüm örneğinin 1 gram'ındaki küf sayısı materyal metotta belirtilen şekilde tayin edilmiş, kuru ve yaş olma durumları ile birlikte küf sayısını (kob/gr) gösterir tablo (Tablo 4.1.1) aşağıda verilmiştir. Alınan 55 üzüm örneğine ait küf yükünü gösterir grafik aşağıda (Şekil 4.1.1) de görülmektedir.

İdentifikasyon sonucunda toplam 70 tür tanılanmıştır. Tanılanan türlerin 23'ü *Aspergillus* genusuna, 39'u *Penicillium* genusuna, 8'i Fungi Imperfecti 'ye aittir.

Tanılanan küf türlerinin sayısı ve bağlara göre dağılımı kuru üzüm ve yaş üzüm olma özellikleri de göz önünde bulundurularak tabloda gösterilmektedir(Tablo 4.1.2).

Tanılanan 70 tür içinde 17 tür (% 24) potansiyel okratoksijeniktir ve incelenen toplam 323 suştan 77'si (%23) potansiyel okratoksijenik suştur.

Tanılanan *Aspergillus* ve *Penicillium* türlerinin gruplara göre dağılımı ve diğer türlerin ordoları Tablo 4.1.3 ve Tablo 4.1.4 te verilmiştir.

Potansiyonel okratoksin-A üreticisi küflerin örnek numaralarına, bağ kodlarına ve yaş/kuru durumuna göre dağılımı belirlenmiştir (Tablo 4.1.5).

Çalışmamızda seçilen 23 bağdan potansiyel okratoksijenik küf içeren ve içermeyen bağlar tablo ile gösterilmiştir (Tablo 4.1.6).

Tablo 4.1.1 Başlardan alınan Üzümlerin Genel Küf Yüğü

Örnek no	Baş Kod No	Küf Sayısı (kob/g)
1	1A/3	$2,59 \cdot 10^4$
2	1A/4	$1,07 \cdot 10^5$
3	1K/1	$1,83 \cdot 10^4$
4	1K/4	$2,44 \cdot 10^4$
5	1K/4	$7,53 \cdot 10^4$
6	1K/4	$3,44 \cdot 10^4$
7	1K/6	$4,64 \cdot 10^5$
8	1K/6	$1,63 \cdot 10^5$
9	1K/6	$2,32 \cdot 10^4$
10	1Y/1	$9,54 \cdot 10^5$
11	2/1	$2,97 \cdot 10^3$
12	2/5	$9,00 \cdot 10^4$
13	3/2	$3,86 \cdot 10^5$
14	9/2	$5,00 \cdot 10^2$
15	3/2	$1,28 \cdot 10^4$
16	3/2	$7,40 \cdot 10^4$
17	3/2	$1,44 \cdot 10^4$
18	3/2	$1,58 \cdot 10^4$
19	3/2	$9,96 \cdot 10^3$
20	3/3	$2,26 \cdot 10^4$
21	4/3	$5,01 \cdot 10^4$
22	4/5	$2,27 \cdot 10^3$
23	4/6	$5,08 \cdot 10^4$
24	6/3	$2,58 \cdot 10^5$

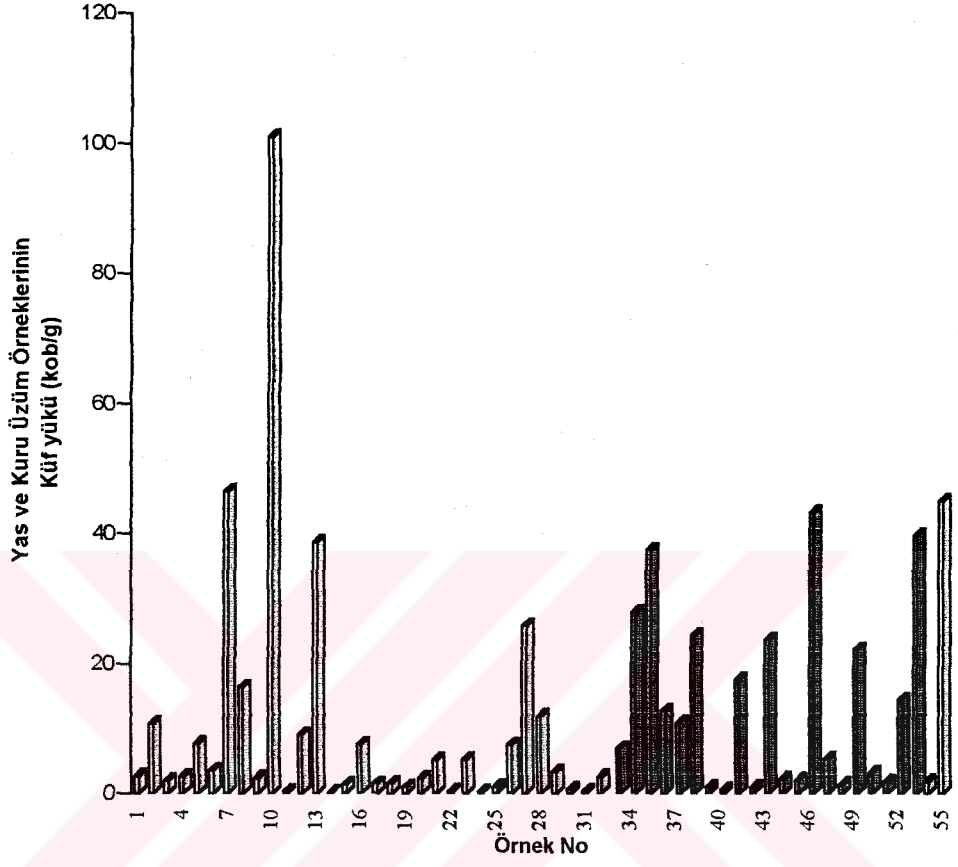
Tablo 4.1.1 (devam)

25	5/3	$9,1 \cdot 10^3$
26	6/3	$7,42 \cdot 10^4$
27	6/3	$2,58 \cdot 10^5$
28	7/3	$1,18 \cdot 10^5$
29	7/3	$3,27 \cdot 10^4$
30	7/4	$6,26 \cdot 10^3$
31	8/2	$2,77 \cdot 10^3$
32	9/2	$2,40 \cdot 10^4$
33	1A/3	$6,72 \cdot 10^4$
34	1A/4	$2,78 \cdot 10^5$
35	1K/1	$4,61 \cdot 10^5$
36	1K/4	$1,26 \cdot 10^5$
37	1K/6	$1,08 \cdot 10^5$
38	1K/1	$2,42 \cdot 10^5$
39	2/1	$8,65 \cdot 10^3$
40	8/2	$5,42 \cdot 10^3$
41	3/2	$1,70 \cdot 10^5$
42	3/3	$8,23 \cdot 10^3$
43	4/3	$2,35 \cdot 10^5$
44	4/5	$2,12 \cdot 10^4$
45	4/6	$1,90 \cdot 10^4$
46	5/2	$4,32 \cdot 10^5$
47	5/3	$5,21 \cdot 10^4$
48	6/3	$1,33 \cdot 10^4$
49	7/3	$2,20 \cdot 10^5$

Tablo 4.1.1 (devam)

50	7/4	2,99 . 10
51	8/2	1,68 . 10 ⁴
52	9/2	1,43 . 10 ⁵
53	3/4	3,96 . 10 ⁵
54	4/4	1,77 . 10 ⁴
55	8/1	4,50 . 10 ⁵





Şekil 4.1.1 Bağlardan alınan yas ve kuru üzüm örneklerinin küf yükü grafiği (kob/g)

Tablo 4.1.2 Tanımlanan Küf Türlerine Ait Suş Sayısı

Küfün Türü	Referanslar	Yaş Üzümdeki Suş Sayısı	Kuru Üzümdeki Suş Sayısı	Toplam Suş
1. <i>Aspergillus aculeatus</i>	Raper & Fennell	13	7	20
2. <i>Aspergillus auricomus</i>	Raper & Fennell		1	1
3. <i>Aspergillus awamori</i>	Raper & Fennell	1	11	12
4. <i>Aspergillus carbonarius</i>	Raper & Fennell	4	6	10
5. <i>Aspergillus carneus</i>	Raper & Fennell	1		1
6. <i>Aspergillus ficuum</i>	Raper & Fennell	6	8	14
7. <i>Aspergillus flavo-furcatis</i>	Raper & Fennell	1	3	4
8. <i>Aspergillus flavus</i>	Raper & Fennell	5	2	7
9. <i>Aspergillus foetidus</i>	Raper & Fennell	8	4	12
10. <i>Aspergillus foetidus var acidus</i>	Raper & Fennell	1	1	2
11. <i>Aspergillus foetidus var. pallidus</i>	Raper & Fennell	15	7	22
12. <i>Aspergillus heteromorphus</i>	Raper & Fennell	5	4	9
13. <i>Aspergillus japonicus</i>	Raper & Fennell	7	3	10
14. <i>Aspergillus niger</i>	Raper & Fennell	1	4	5
15. <i>Aspergillus ochraceus</i>	Raper & Fennell	1	1	2
16. <i>Aspergillus olivaceo-fuscus</i>	Raper & Fennell	1		1
17. <i>Aspergillus parasiticus</i>	Raper & Fennell		1	1
18. <i>Aspergillus petrakii</i>	Raper & Fennell		1	1
19. <i>Aspergillus phoenicis</i>	Raper & Fennell	1	2	3
20. <i>Aspergillus pulverulentus</i>	Raper & Fennell		1	1
21. <i>Aspergillus sclerotium</i>	Raper & Fennell		1	1
22. <i>Aspergillus tubingensis</i>	Raper & Fennell	20	17	37
23. <i>Aspergillus versicolor</i>	Raper & Fennell	2		2
24. <i>Penicillium brevi-compactum</i>	Raper & Thom		1	1
25. <i>Penicillium camemberti</i>	Raper & Thom		1	1

Tablo 4.1.2 (devam)

26. <i>Penicillium canescens</i>	Raper & Thom		2	2
27. <i>Penicillium carneo-lutescens</i>	Raper & Thom		1	1
28. <i>Penicillium casei</i>	Raper & Thom		1	1
29. <i>Penicillium commune</i>	Raper & Thom	2		2
30. <i>Penicillium charlesii</i>	Raper & Thom	1		1
31. <i>Penicillium chrysogenum</i>	Raper & Thom	1	8	9
32. <i>Penicillium citrinum</i>	Raper & Thom		1	1
33. <i>Penicillium corimbeferum</i>	Raper & Thom	2	2	4
34. <i>Penicillium crustosum</i>	Raper & Thom		1	1
35. <i>Penicillium cyaneo-fulvum</i>	Raper & Thom		2	2
36. <i>Penicillium cyclopium</i>	Raper & Thom		2	2
37. <i>Penicillium decumbens</i>	Raper & Thom		2	2
38. <i>Penicillium duclauxi</i>	Raper & Thom	2	1	3
39. <i>Penicillium expansum</i>	Raper & Thom	3	2	5
40. <i>Penicillium fagi</i>	Hasenekeoğlu	1		1
41. <i>Penicillium funiculosum</i>	Raper & Thom		1	1
42. <i>Penicillium granulatum</i>	Raper & Thom	3	2	5
43. <i>Penicillium islandicum</i>	Raper & Thom	1	1	2
44. <i>Penicillium janthinellum</i>	Raper & Thom		1	1
45. <i>Penicillium lanoso-griseum</i>	Raper & Thom	1		1
46. <i>Penicillium martensii</i>	Raper & Thom		1	1
47. <i>Penicillium melanigrum</i>	Raper & Thom	1		1
48. <i>Penicillium notatum</i>	Raper & Thom	2	1	3
49. <i>Penicillium olivino-viride</i>	Raper & Thom		2	2
50. <i>Penicillium oxalicum</i>	Raper & Thom		1	1
51. <i>Penicillium palitans</i>	Raper & Thom	1	2	3
52. <i>Penicillium pubeulum</i>	Raper & Thom	2	4	6
53. <i>Penicillium roseo-purpureum</i>	Raper & Thom		1	1

Tablo 4.1.2 (devam)

54. <i>Penicillium rubrum</i>	Raper & Thom	1		1
55. <i>Penicillium rugulosum</i>	Raper & Thom		1	1
56. <i>Penicillium solitum</i>	Raper & Thom	2		2
57. <i>Penicillium stoloniferum</i>	Raper & Thom		4	4
58. <i>Penicillium soppii</i>	Raper & Thom	3		3
59. <i>Penicillium tardum</i>	Raper & Thom	1	1	2
60. <i>Penicillium variabile</i>	Raper & Thom	2	1	3
61. <i>Penicillium varians</i>	Raper & Thom	1		1
62. <i>Penicillium viridicatum</i>	Raper & Thom	2	6	8
63. <i>Acremonium tubakii</i>	Domsch/Haseneke oğlu	2		2
64. <i>Alternaria alternata</i>	Domsch/Haseneke oğlu		2	2
65. <i>Alternaria pleuroseptata</i>	Domsch/Haseneke oğlu		1	1
66. <i>Cladosporium cladosporoides</i>	Domsch/Haseneke oğlu	16	8	24
67. <i>Cladosporium herbarium</i>	Domsch/Haseneke oğlu	8	12	20
68. <i>Fusarium javanicum</i>	Domsch		1	1
69. <i>Mucor circinelloides</i> f. <i>circinelloides</i>	Domsch		1	1
70. <i>Rhizopus stolonifer</i> var. <i>stolonifer</i>	Domsch/Haseneke oğlu	2		2
Toplam		156	167	323

Tablo 4.1.3 Tanımlanan *Aspergillus* ve *Penicillium* genusuna ait türlerin Ordo ve Gruplarına göre Dağılımı

Türü	Ordo	Grup
<i>A. aculeatus</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Aspergillus niger</i>
<i>A. auricomus</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Aspergillus ochraceus</i>
<i>A. awamori</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Aspergillus niger</i>
<i>A. carbonarius</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Aspergillus niger</i>
<i>A. carneus</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Aspergillus flavipes</i>
<i>A. ficuum</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Aspergillus niger</i>
<i>A. flavo-furcatis</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Aspergillus flavus</i>
<i>A. flavus</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Aspergillus flavus</i>
<i>A. foetidus</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Aspergillus niger</i>
<i>A. foetidus</i> var <i>acidus</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Aspergillus niger</i>
<i>A. foetidus</i> var. <i>pallidus</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Aspergillus niger</i>
<i>A. heteromorphus</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Aspergillus niger</i>
<i>A. japonicus</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Aspergillus niger</i>
<i>A. niger</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Aspergillus niger</i>
<i>A. ochraceus</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Aspergillus ochraceus</i>
<i>A. olivaceo-fuscus</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Aspergillus niger</i>
<i>A. parasiticus</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Aspergillus flavus</i>
<i>A. petrakii</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Aspergillus ochraceus</i>
<i>A. phoenicis</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Aspergillus niger</i>
<i>A. pulverulantus</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Aspergillus niger</i>
<i>A. sclerotium</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Aspergillus ochraceus</i>
<i>A. tubingensis</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Aspergillus niger</i>
<i>A. versicolor</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Aspergillus versicolor</i>
<i>P. brevi-compactum</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Asimetrik velutina</i>

Tablo 4.1.3 (devam)

<i>P.camemberti</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Asimetrik lanata</i>
<i>P.canescens</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Asimetrik divarikata</i>
<i>P.carneo-lutescens</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Asimetrik fasciculata</i>
<i>P.casei</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Asimetrik velutina</i>
<i>P.commune</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Asimetrik lanata</i>
<i>P.charlesii</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Monovertisillata</i>
<i>P.chrysogenum</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Asimetrik velutina</i>
<i>P.citrimum</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Asimetrik velutina</i>
<i>P.corimbeferum</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Asimetrik fasciculata</i>
<i>P.crustosum</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Asimetrik fasciculata</i>
<i>P.cyaneo-fulvum</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Asimetrik velutina</i>
<i>P.cyclopium</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Asimetrik fasciculata</i>
<i>P.decumbens</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Monovertisillata</i>
<i>P.duclauxi</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Bivertisillat simetrika</i>
<i>P.expansum</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Asimetrik fasciculata</i>
<i>P.fagi</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Bivertisillat simetrika</i>
<i>P.funiculosum</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Asimetrik fasciculata</i>
<i>P.granulatum</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Asimetrik fasciculata</i>
<i>P.islandicum</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Bivertisillat simetrik</i>
<i>P.janthinellum</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Asimetrik divarikata</i>
<i>P.lanoso-griseum</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Asimetrik lanata</i>
<i>P.martensii</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Asimetrik fasciculata</i>
<i>P.melanigrium</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Asimetrik velutina</i>
<i>P.notatum</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Asimetrik velutina</i>

Tablo 4.1.3 (devam)

<i>P.olivino-viride</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Asimetrik fasciculata</i>
<i>P.oxalicum</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Asimetrik velutina</i>
<i>P.palitans</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Asimetrik fasciculata</i>
<i>P.pubeulum</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Asimetrik fasciculata</i>
<i>P.roseo-purpureum</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Monovertisillata</i>
<i>P.rubrum</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Bivertisillat simetrika</i>
<i>P.rugulosum</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Bivertisillat simetrika</i>
<i>P.solitum</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Asimetrik funikulosa</i>
<i>P.stoloniferum</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Asimetrik velutina</i>
<i>P.soppii</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Asimetrik divarikata</i>
<i>P.tardum</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Bivertisillat simetrika</i>
<i>P.variabile</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Asimetrik fasciculata</i>
<i>P.varians</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Bivertisillat simetrika</i>
<i>P.viridicatum</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Asimetrik fasciculata</i>

Tablo 4.1.4 Tanımlanan Diğer Mikrofungus Türlerinin Ordolarına göre Dağılımı

<i>Acremonium tubakii</i>	<i>Moniliales</i>
<i>Alternaria alternata</i>	<i>Moniliales</i>
<i>Alternaria pleuroseptata</i>	<i>Moniliales</i>
<i>Cladosporium cladosporoides</i>	<i>Moniliales</i>
<i>Cladosporium herbarium</i>	<i>Moniliales</i>
<i>Fusarium javanicum</i>	<i>Moniliales</i>
<i>Mucor circinelloides f. circinelloides</i>	<i>Mucorales</i>
<i>Rhizopus stolonifer var. stolonifer</i>	<i>Mucorales</i>

Tablo 4.1.5 İdentifiye edilen Potansiyel Okratoksin-A Üreticisi küflerin Bağlara ve Yaş/Kuru Üzüm Örneklerine Göre Dağılımı

Potansiyel Okratoksijenik Küfler	Örnek No	Bağ Kodu	Yaş Üzüm Örneklerinden İzole Edilenler	Kuru Üzüm Örneklerinden İzole Edilenler
<i>Aspergillus auricomus</i>	44-6	4/5	*	
<i>Aspergillus awamori</i>	10/8, 34/4, 42/4, 42/12, 42/15, 42/19, 45/4, 45/14, 50/1, 50/8, 51/7,	1Y/1, 1A/4, 3/3,3/3, 3/3, 4/6, 4/6, 7/4, 7/4, 8/2	*	*
<i>Aspergillus carbonarius</i>	4/1, 19/5, 21/2, 25/3, 43/4,45/8, 45/9, 52/12, 52/14	1K/4, 3/2, 4/3, 5/3, 4/3, 4/6, 4/6,9/2, 9/2	*	*
<i>Aspergillus foetidus</i>	2/1, 3/5, 3/5, 13/2, 16/1, 25/1, 26/2, 43/1, 45/5, 51/8, 51/9, 53/3,	1A/4, 1K/1, 1K/1, 3/2, 5/3, 6/3, 4/3, 5/2, 8/2,4/6, 8/2, 3/4	*	*
<i>Aspergillus ochraceus</i>	11/2, 37/10	2/1, 1K/6	*	*
<i>Aspergillus niger</i>	47/3, 47/5, 47/6, 48/4, 54/2	5/3, 5/3, 5/3 6/3, 4/4	*	*
<i>Aspergillus petrakii</i>	41/14	3/2		*
<i>Aspergillus sclerotiorum</i>	50/2	7/4		*
<i>Aspergillus versicolor</i>	16/2, 19/3	3/2, 3/2	*	
<i>Penicillium chrysogenum</i>	19/8, 36/7, 36/11, 37/2, 37/9, 37/12, 41/16, 45/10, 45/16, 47/16	3/2, 1K/4, 1K/4, 1K/6, 1K/6, 1K/6, 3/2, 4/6, 4/6, 5/3	*	*
<i>Penicillium commune</i>	3/7, 10/3	1K/1, 1Y/1	*	
<i>Penicillium crustosum</i>	37/11	1K/6		*

Tablo 4.1.5 (devam)

<i>Penicillium cyclopium</i>	44/10, 44/19	4/5, 4/5		*
<i>Penicillium funiculosum</i>	36/10	1K/4,		*
<i>Penicillium palitans</i>	15/3, 48/10	3/2, 6/3	*	*
<i>Penicillium variable</i>	12/1, 27/1, 52/5	2/5, 6/3, 9/2	*	*
<i>Penicillium viridicatum</i>	22/2, 41/10, 44/5, 44/8, 47/2, 52/6, 52/8, 53/4	4/5, 3/2, 4/5, 4/5, 5/3, 9/2, 9/2, 3/4	*	*



Tablo 4.1.6 Potansiyel okratoksijenik küfleri içeren ve içermeyen bağlar

Bağ Kod No	Potansiyel Okratoksijenik Küf İçermeyen Bağlar	Potansiyel Okratoksijenik Küf İçeren Bağlar
1A/3	*	
1A/4		*
1A/6	*	
1K/1		*
1K/4		*
1K/6		*
1Y/1		*
2/1		*
2/5		*
3/2		*
3/3		*
3/4		*
4/3		*
4/4		*
4/5		*
4/6		*
5/2		*
5/3		*

Tablo 4.1.6(devam)

6/3		*
7/3	*	
7/4		*
8/2		*
9/2		*



4.2 Araştırma Sonucunda Tanımlanan Türler

4.2.1 *Aspergillus aculeatus* Iizuka (1953)

Sinonim:

Aspergillus japonicus var. *viridiflavus* Iizuka

Czapex Dox Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 5-5,5 cm, koloni yüzey rengi kenarlarda ve merkezde yeşilimsi-siyah renkli, loblu dağınık, koloni ters yüzeyi renksiz, konidial başlar önce globoz sonra kolonlara ayrılır. Eksüda ve koku yoktur (Şekil 4.2.1 A).

Konidial başlar 250-425 µm, veziküller kahverengimsi, 40-60 µm, konidioforlar açık kahverengi tonlarında, içi granüler, 2 mm varan uzunlukta, 10-13 µm genişliğinde, konidiofor yüzeyi düzgün, kalınlık 2-3 µm, sterigmata tek serili, 5-6 x 3-4 µm, konidia globoz veya subgloboz, dikenli, 6-5 x 4-5 µm, genç konidiumlar mavimsi yeşil, olgunlar mor renklidir (Şekil 4.2.1 C,D,E).

Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 5,5-6 cm çapında kenarları düzgün, dış kısma yakın ince beyazımsı bir zon içerir. Bol spor üretiminden dolayı kahve-mor renklidir. Koloni ters yüzeyi koyu sarı-kahverengidir ve katlanmalar içerir (Şekil 4.2.1.B).

4.2.2 *Aspergillus auricomus* (Guéguen) Saito, (1939)

Sinonim:

Sterigmatocytis auricoma Guéguen



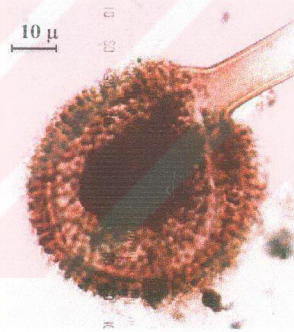
A)



B)



C)

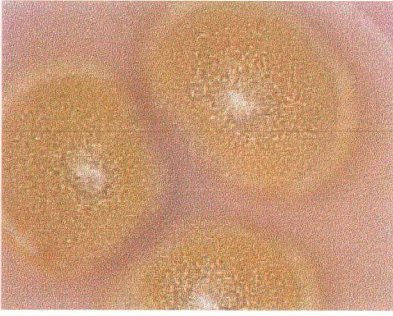


D)



E)

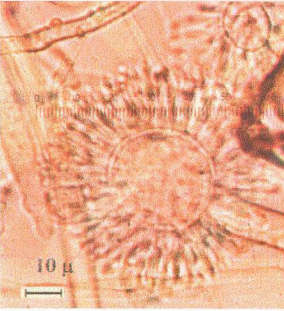
Şekil 4.2.1 *Aspergillus aculeatus* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Tekstür D) Baş yapısı E) Konidia



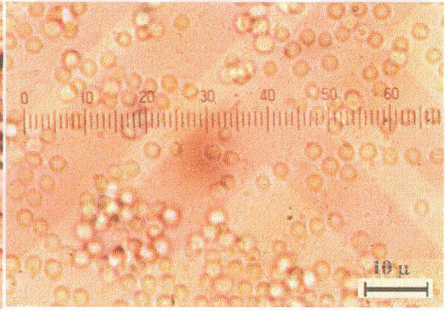
A)



B)



C)



D)

Şekil 4.2.2 *Aspergillus auricomus* A) Chapek-Dox Agarda,
B) Malt-Extract Agarda kolonî görünümü C) Konidial baş D) Konidia

Czapex Dox Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 2-2,5 cm çapında krem renkli batık bazal miselyum içerir. Sporulasyon yavaş ve gevşek, sporulasyonun olduğu bölgelerde başlar sarı-hardal renklidir. Kenarlarda başlar daha belirgin ve büyük, hardal-sarı renkte, merkezde daha açık renkli ve küçüktür. Koloni merkezi hafifçe yükselir. Koloni kenarlarında zonlar mevcuttur. Sklerotia üretimi koloni gelişimi ile birlikte görülür. Önce beyaz, sonra metalik pembe ve daha sonra vişne rengini alır. Koloni alt yüzey rengi, kenarlarda krem sarı, zonların altında ve merkezde hardal sarıdır. Eksüda belirgin, koku mevcut değildir (Şekil 4.2.2 A).

Konidioforlar 1-1,5 mm kadar, genellikle 800-1200 x 6-12µm, baş 300-450 µm çapında, hafifçe renklenmiş, ince dikenlidir. Veziküller globoz 30-40 µm, sterigmata 2 sıralı, birinci sıra, 10-15 x 2,5 5µm, ikinci sıra, 7-9 x 2,5 3µm, konidia subgloboz, 3-4 x 2,5-3 µm, sklerotia globoz veya subgloboz, 600-700µm dur (Şekil 4.2.2 C,D).

Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 3-4 cm, düz, kenarlarda 4-5 mm krem renkli bazal miselyum görülür. Kenarlar radial çizgili, merkezde yoğun vişne renkli sklerotia üzerinde demetler halinde yükselen konidial başlar mevcuttur (Şekil 4.2.2 B).

4.2.3 *Aspergillus awamori* Nakaz. (1915)

Sinonim:

Aspergillus sp Usami

Aspergillus awamori Usami

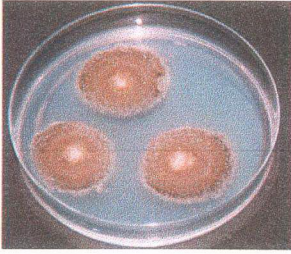
Aspergillus pseudo-citricus Mosseray

Aspergillus pseudo-niger Mosseray

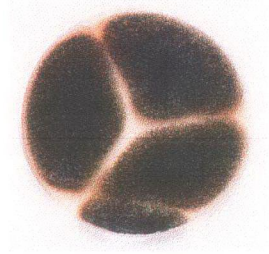
Aspergillus pseudo-niger (C. and L.) Sainclivier

Sterigmatocystis pseudo-nigra Cost and Lucet

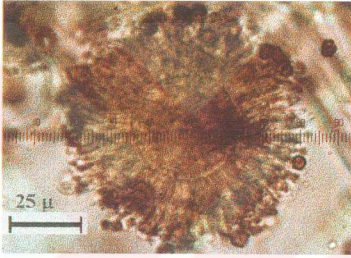
Aspergillus miyokoensis Nakazawa et al.



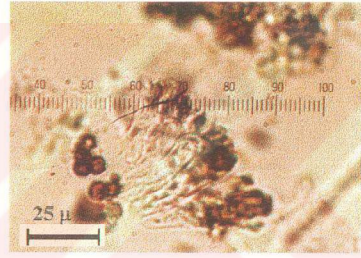
A)



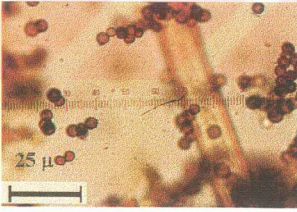
B)



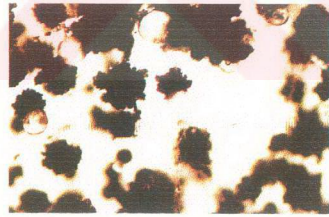
C)



D)



E)



F)

Şekil 4.2.3 *Aspergillus awamori* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Ekstract Agar'da C) Baş yapısı D) Sterigmalar E) Konidia ve konidiofor F) Tekstür

Czapex Dox Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 5-6 cm çapında, koloni rengi genç evrede koyu yeşilimsi, olgunlaştığında çukolata rengindedir. Gelişme kenarlarda daha yoğun, koloni kenarları hafifçe flokkoz ve sporulasyonca yoğundur. Bazal miselyum beyaz bazılarında sarı renktedir. Eksüda az, koku hafiftir. Koloni ters yüzey rengi genç evrede sarımsıdır Olgunlaşma ile birlikte ise kızılımsı kahverengine değişir (Şekil 4.2.3 A).

Konidial başlar önce globoz, sonra radial ve nihayet düzensiz kolonlara ayrılır, 200-350 µm arasında değişmekle birlikte 450 µm'e kadar ölçülmüştür. Konidioforlar 1,5-2 mm x 8-18 µm ebadında, düzgün duvarlı, açık kahverengi, duvar kalınlığı 1,5-2 µm arasındadır. Veziküller globoz, 30-70 µm arasında, açık kahverengidir. Sterigmata iki sıralı, birinci sıra 12-30 x 4-8 µm, ikinci sıra 5-8 x 3-4 µm arasında ve koyu renklidir. Konidia, globoz veya subgloboz, 3,5-5,5 µm çapında dikenlidir (Şekil 4.2.3 C,D,E,F).

Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 6-7 cm çapında düz ve kadifemsidir. Gevşek dokulu ve koyu çukolata kahverengidir. Üzerinde beyaz miselyum ağı gözlenir (Şekil 4.2.3 B).

4.2.4 *Aspergillus carbonarius* (Bainier) Thom (1916)

Sinonim:

Sterigmatocystis carbonaria Bainier,

Sterigmatocystis acini-uvae Caballero

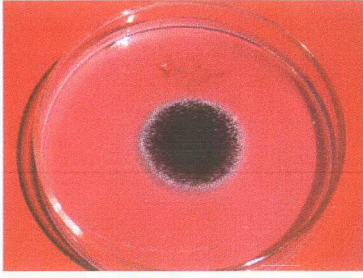
Aspergillopsis pulchellus Spegazzini

Aspergillopsis pulchellus (Speg.) Thom and Church

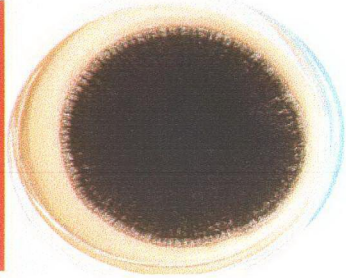
Sterigmatocystis fusca Bainier

Aspergillus fonsecaeus Thom and Raper

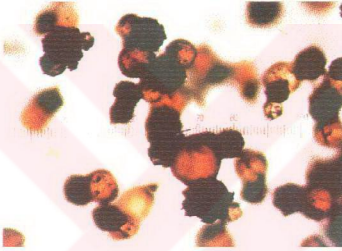
Aspergillus dispus Ferdinandsen and Winge



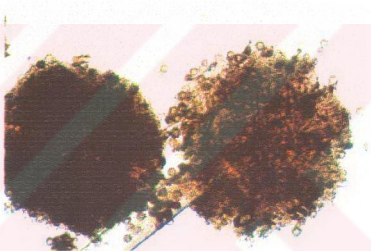
A)



B)



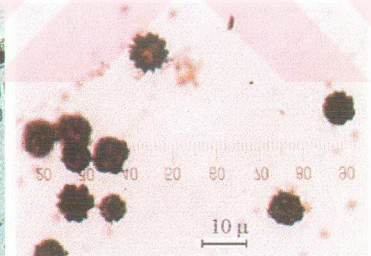
C)



D)



E)



F)

Şekil 4.2.4 *Aspergillus carbonarius* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Tekstür D) Baş yapısı E) Konidia ve sterigma F) Konidia

Czapex Dox Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 3-3,5 cm çapında, hafifçe kabarık, beyaz,sıki bir bazal miselyum mevcuttur. Sporulasyonca zengindir. Tüm koloni yüzeyi sporlarla kaplıdır. Koloni kenarları çok keskin olmamakla birlikte çok dar bir beyaz misel zonu görülür. Koloni ters yüzeyi beyazımsı, kirli sarımsıdır. Eksüda mikroskopik olarak gözlenir. Koku belirgin değildir (Şekil 4.2.4 A).

Konidial başlar 500-550 µm, daha sonra radyat ve kolumnardır. Kolonlara ayrıldığıında 1,5-2 mm dir. Konidioforlar 4-5,5 mm x 30-35 µm ebadında, 4-5 µm kalınlığıındadır. Vezikül altında kahverengimsi ve granüllüdür. Veziküller 60-75 µm, sterigmata iki sıralı, birinci sıra 40-65 x 8-10 µm, ikinci sıra 9-16 x 6-7,5 µm, konidia globoz, 6-8 µm, gençlerde iğnemsı dıkenli, olgunlarda sığıller ve dıkenler bulunur (Şekil 4.2.4 C,D,E,F).

Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 6,5 cm çapında, beyaz miselyum üzerinde 5-5,5 mm yükselmiş çok yoğun olmayan 1-2 mm'yi bulan konidial başlar gözlenir. Koloni ters yüzeyi renksizdir (Şekil 4.2.4 B).

4.2.5 *Aspergillus carneus* (V.Tiegh.) Blochwitz (1945)

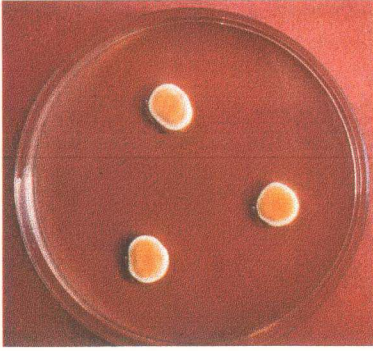
Sinonim:

Sterigmatocystis carnea V. Tiegh.

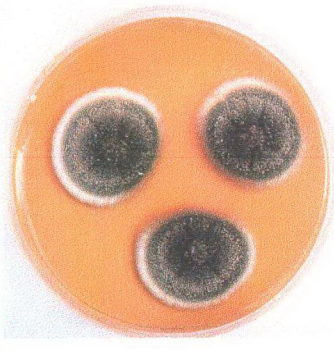
Aspergillus carneus Blochwitz

Czapex Dox Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 2,5-3 cm çapında, düzensiz loblu, kenarlarda incelmıştır. Radial çizgiler orta kısımdan kenarlara doğru uzanır. Koloni yüzeyi kadifemsi, kabarık, genç dönemde krem-truncu renktedir. Olgunlaşma ile açık yeşil renkte sporulasyon başlar. Koloni yüzeyi zonat, koloni ters yüzeyi truncu-kahverengidir. Eksüda amber rengi olup belirgin bir koku bulunmaz (Şekil 4.2.5 A).

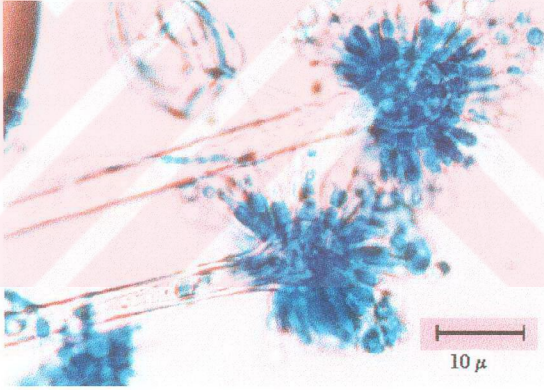
Konidial başlar 8-10 µm, konidiofor 180-300 x 3-4 µm, düzgün, sterigma iki sıralı, birinci sıra 3-4 x 1,5-2 µm, ikinci sıra 5-7 x 1-1,5 µm, konidia globoz ve subgloboz, düzgün, 2,5-3 µm çapındadır (Şekil 4.2.5 C).



A)



B)



C)

Şekil 4.2.5 *Aspergillus carneus* A) Chapek-Dox Agarda, B) Malt-Extract Agarda koloni görünümü C) Konidial baş, sterigma ve konidia

Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 2 cm çapında, koloni yüzeyi yeşil renkli, sporulasyonca zengin, koloni ters yüzeyi truncu renktedir. Eksüda amber renkli, koku belirgin değildir (Şekil 4.2.5 B).

4.2.6 *Aspergillus ficuum* (Reich.) Hennings (1895)

Sinonim:

Ustilago ficuum Reichardt

Aspergillus batatae Saito

Czapex Dox Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 4,5–5 cm çapında, düz ve kadifemsidir. Koloni kenarlarında ince beyaz renkli batık, bazal miselyum gözlenir. Sporulasyonca zengindir. Koloni yüzeyi koyu kahverengi ve taneli bir görünümündedir (Şekil 4.2.6 A).

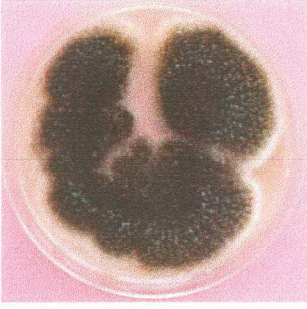
Konidial başlar önce globoz, sonra kolumnar, 300–450 µm, morumsu kahverengidir. Konidioforlar vezikülün altında biraz daha dar, kalın duvarlı, 1,4–2,2 mm x 16-20 µm ebadında, 2-3 µm kalınlığında, kahverengi tonunda, ve diktir. Veziküller 35-65 µm çapında kahverengimsidir. Veziküller iki sıralı, birinci sıra 18-32 x 6-8 µm, ikinci sıra 7-9 x 3-3,5 µm'dur. Konidia 3,5-4 µm, genç evrede kaba, olgun evrede uzunluğuna barlar içerir (Şekil 4.2.6 C,D,E).

Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 6-8 cm çapında, siyah renkli, düzgün kadifemsi, sporulasyonca zengindir. Koloni ters yüzeyi rensiz veya soluk sarımsıdır (Şekil 4.2.6 B).

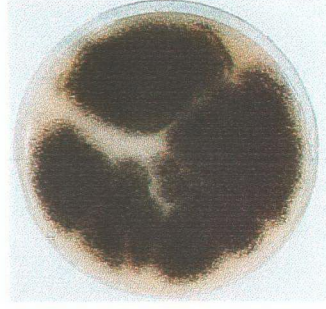
4.2.7 *Aspergillus flavo-furcatis* Batista and Maia (1955)

Czapex Dox Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler çapı 5-6 cm, kenarlarda bazal miselyum beyaz renkli, ince, konidial başlar zeytin yeşili ve kahverengi tonunda, koloni ters yüzeyi rensiz, eksüda çok ince, koku belirgin değildir (Şekil 4.2.7 A).

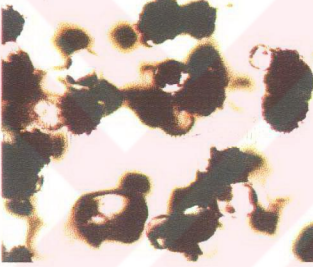
Konidioforlar 1-2 mm x 30-38 µm, 2,5-3 µm kalınlığında, içi granüllü, konidial başlar 200-400 µm, radial, veziküller 40-70 µm, sterigmata iki sıralı,



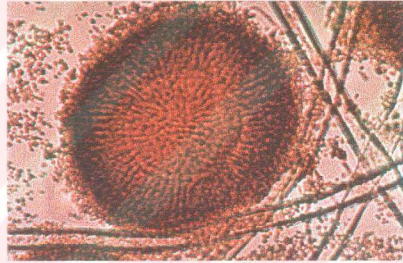
A)



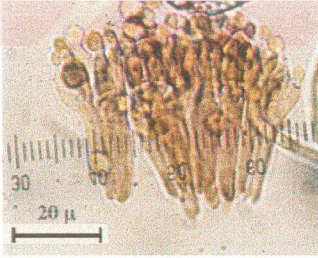
B)



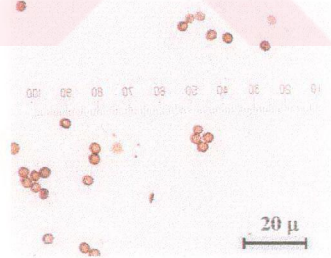
C)



D)

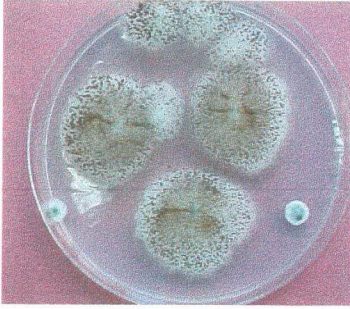


E)

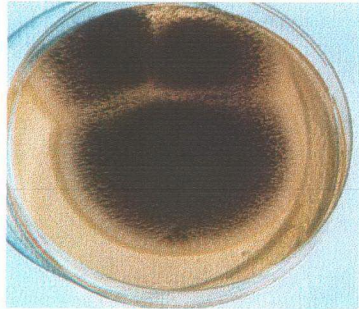


F)

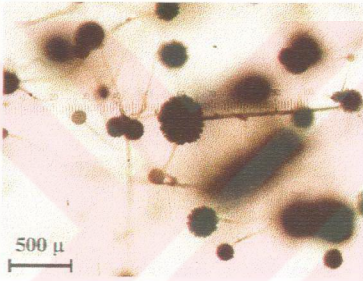
Şekil 4.2.6 *Aspergillus ficuum* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Tekstür D) Baş ve konidiofor E) Konidia



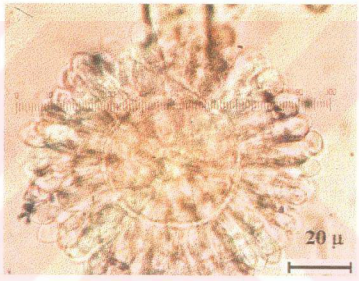
A)



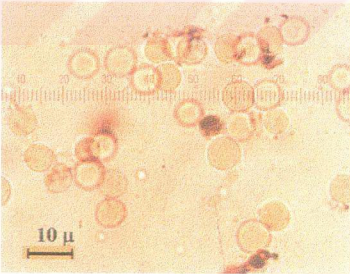
B)



C)



D)



E)

Şekil 4.2.7 *Aspergillus flavo-furcatis* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Tekstür D) Baş yapısı E) Konidia

birincisi 12-18 x 4,5-7 µm, ikinci sıra dağınık görümlü 7-9 x 4-7 µm, konidiumlar 6-9 µm, ince dikenlidir (Şekil 4.2.7 C,D,E).

Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 6 cm çapında, sporulasyonca zengin, kahverenkli-siyah renkli, kenarda ince bir bazal miselyum yer alır, kenarlarda ince radial çizgiler mevcut. Koloni ters yüzeyi kirli sarı renkte, merkezi kahverengi siyahtır (Şekil 4.2.7 B).

4.2.8 *Aspergillus flavus* Link (1809)

Sinonim:

Eurotium Aspergillus flavus De Barry nd Woronin

A.fasciculatum Batista and Maia

A.flavus var. *japonica* Blochwitz

A.flavus var. *wehmeri* (Cost and Lucet) Bloch

A.humus Abbott

A.luteus (Van Tiegh.) Dodge

A.nöling Hallier

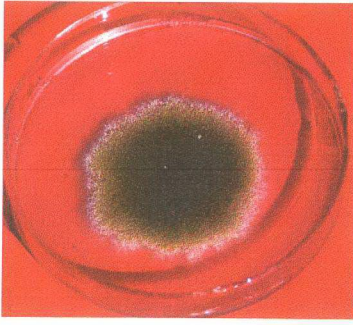
A.oryzae var. *magnasporus* Yamamoto

A.pollinis Howard

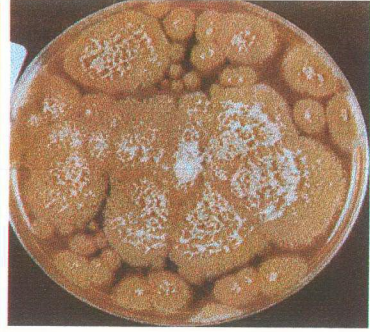
A.wehmeri Constantin and Lucet

Czapex Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler yaygın, 6-7 cm çapında, koloniler düz, radial kıvrımlı, konidial kafalar sarımsı veya sarı-yeşil, olgunlaşma ile renk daha koyul sarı-yeşile döner. Alt yüzey renksiz veya pembesidir. Sklerotia koyu kırmızı-kahverengidir (Şekil 4.2.8 A).

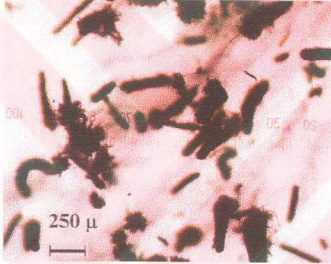
Konidial başlar radyat daha sonra kolumnar, olgunlaştığında çatlar, 130-300 µm. Konidioforlar kalın duvarlı, dikenli, 200-410 x 10-12 µm, konidiofor



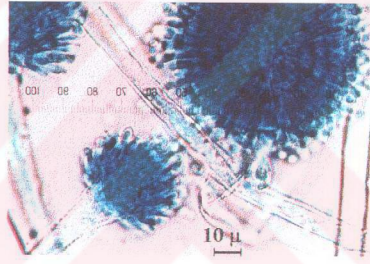
A)



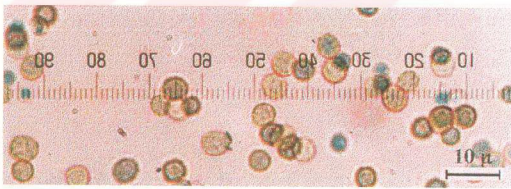
B)



C)



D)



E)

Şekil 4.2.8 *Aspergillus flavus* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Tekstür D) Baş yapısı E) Konidia

duvarının kalınlığı 2-2,5 µm., veziküller globoz veya subgloboz, 25-40 µm., sterigmata tek sıralı veya iki sıralı, birinci sıra 8-10 x 3-4µm, ikinci sıra 6,5-8 x 3,4-4,5µm, uç kısımlarda ince ve şeffaf, konidiumlar globoz veya dikenli, sarı-kahve rengi 3,5-5,5 µm'dur (Şekil 4.2.8 C,D,E).

Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler hızlı gelişir, 5-7,5 cm çapa ulaşır. Konidial kafalar konsantrik zonlar oluşturur. Genç evrede yoğun kadifemsi görünümlüdür olgunlaştıkça 3-4 mm yüksekliğinde granüler ve floküler yapı görülür. Kenarları sarımsı, yağ yeşili tonlarındadır. Konidial başlar radialdir. Konidiumlar 4,5-5µm dikenlidir (Şekil 4.2.8 B).

4.2.9 *Aspergillus foetidus* (Naka.) Thom and Raper (1945)

Sinonim:

Aspergillus aureus Nakazawa

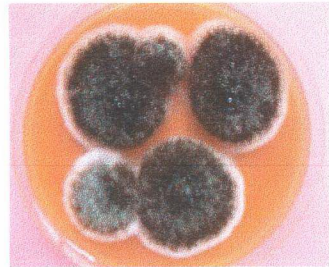
Czapek Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 3,5-4 cm çapında, koloni kenarında beyaz veya sarımsı, batık ve sıkı bir bazal miselyum gözlenir. Bazı izolatlarda sporlasyon daha geç olmakla beraber sporulasyonca zengindir. Önce yeşilimsi-kahve daha sonra kahverengimsi-siyahtır. Koloni kenarlarında hafif katlanmalar gözlenir. Koloni alt yüzey rengi sarımsı veya portakal rengidir. Toprak kokulu, eksüda yoktur (Şekil 4.2.9 A).

Konidial başlar 250-350 µm, globoz, radyat olgunlarda kolonlara ayrılır. Konidioforlar 700-900 x 9-12µm ebadında, 2-3 µm kalınlığında, şeffaf ve düzgündür. Veziküller 36-45 µm çapında, globoz, sterigma iki sıralı birinciler 7-10 x 2,5-3 µm, ikinciler, 7-8 x 2,5-3 µm, konidia 3,5-4,5 µm çapında, kahverengi, dikenlidir (Şekil 4.2.9 C,D,E,F).

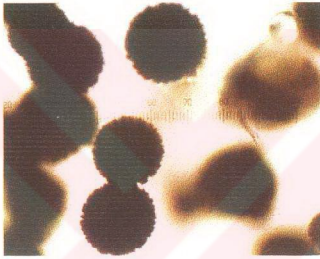
Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 4,5-5 cm, kadifemsi, düz, küf kokulu, siyah üzerinde beyaz miselyum demetleri var , azonat, kenarlarda şeffaf zon (2-3 mm) koloni ters yüzeyi kirli sarı renktedir (Şekil 4.2.9 B).



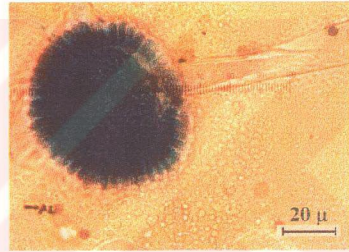
A)



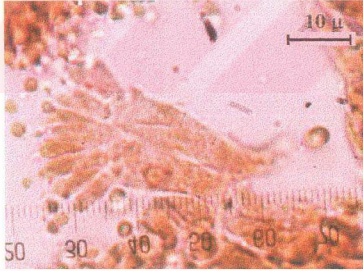
B)



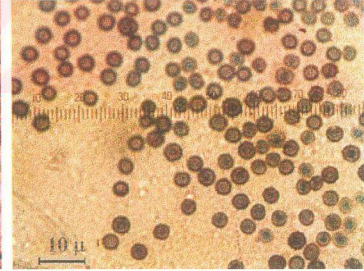
C)



D)



E)



F)

Şekil 4.2.9 *Aspergillus foetidus* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Tekstür D) Baş yapısı E) Sterigma yapısı F) Konidia

4.2.10 *Aspergillus foetidus* var. *pallidus* Naka., Simo and Wat.

Sinonim:

Aspergillus aureus var. *pallidus*, Nakazawa, Simo and Watanabe

Czapek Dox Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 1,5-2,5 cm çapında, sınırlı, bazal miselum beyaz, merkezde yeşilimsi kahve, koloni ters yüzey rengi genç evrede şeffaf olgun evrede sarımsıdır (Şekil 4.2.10 A).

Konidial başlar radyat, 300-500 µm çapında, açık kahve gölgeli, 1740-2500 x 25 µm, vezikül globoz 87,5-95 µm, sterigmata iki sıralı, birinci sıra 25-30 x 3,5-4 µm, ikinci sıra 6-10 x 2,3-3 µm, konidia başlangıçta eliptik, oval sonra globoz, 3-3,5 µm'dur (Şekil 4.2.10 C,D,E).

Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 4-5 cm çapında, siyah kenarlarda ışınal, etrafı beyaz zonlu, genç iken yeşil, olgunlaştığında kahverengi gölgeli, konidial başla 500-600µm çapında, olgun konidia 3,5-4,5 µm çapında, globoz, subgloboz, dikenlidir (Şekil 4.2.10 B).

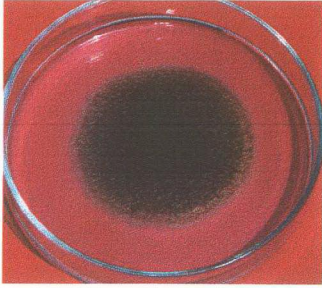
4.2.11 *Aspergillus foetidus* var. *acidus* Naka, Simo and Wat

Sinonim:

Aspergillus aureus var. *acidus* Nakazawa, Simo and Watanabe

Czapex Dox Agar'da 25 °C de iki hafta inkübe edilen koloniler 4,5-6 cm çapındaki koloniler yünüsü, marginal kısım beyaz, ortada bazal miselyum sarımsı renklidir. Bazal miselyum üzerinde çok yoğun olmayan bir sporulasyon mevcuttur. Sporulasyon, koloni dış kenarı ve ortaya yakın kısımlarda mevcuttur, koloni dış kısmı ile orta kısım arasında sporulasyonun olmadığı bir zon farkedilir (Şekil 4.2.11 A).

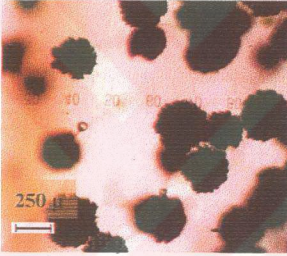
Konidial başlar kahve-siyah renklidir. Koloni alt yüzeyi açık sarı renklidir. Belirgin bir kokusu yoktur. Konidial başlar 400-550 µm dur. Konidiofor 700-1000 x 15-25,5 µm, veziküller 40-70 µm , sterigmata iki sıralı ve gençlerde yeşil, olgun başlarda açık kahverengidir.



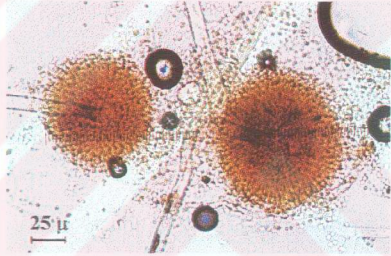
A)



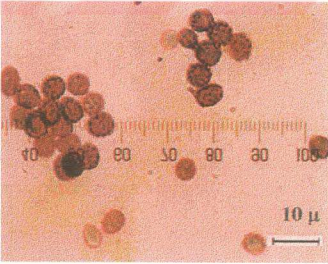
B)



C)



D)

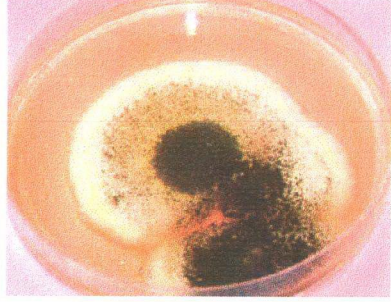


E)

Şekil 4.2.10 *Aspergillus foetidus* var. *pallidus* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Tekstür D) Baş yapısı E) Konidia



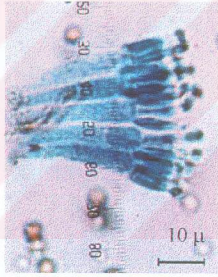
A)



B)



C)



D)



E)

Şekil 4.2.11 *Aspergillus foetidus* var. *acidus* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Baş yapısı D) Sterigmalar E) Konidia

Birinci sıra 18-22 x 4,5-5 µm, ikinci seri, 7-10 x 2-3 µm'dur. Konidia yuvarlak, kenarları kahverengi, 4-4,5 µm, yüzeyi hafifçe dalgalıdır (Şekil 4.2.11 C).

Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 4-5 cm çapa ulaşırlar. Belirgin bir zon ve ışınsal çizgiler mevcuttur. Malt Extract Agar'da miselyum altın sarısı renklidir (Şekil 4.2.11 B).

4.2.12 *Aspergillus heteromorphus* Batista ve Maia (1957)

Czapex Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 3-3,5 cm çapında, yeşilimsi kahverengi, kenarlarda 2-3 mm genişliğinde şeffaf batık bir miselyum vardır. Dıştaki başlar küçük ve açık sarı renkte, ince, düz, sporulasyonca zengin, merkezde daha yoğundur. Koloni ters yüzeyi, renksiz, koku çok belirgin değil, eksüda yoktur (Şekil 4.2.12 A).

Marginal ve submarginal alanda konidioforlar 800-900 x 8-12 µm, Konidial başlar koyu yeşilimsi renkte, globoz ve radyat, 180-200 µm, olgunlaşma ile birlikte kolonlara ayrılır. Olgun evrede divergent 300-400 µm, veziküller kızılımsı kahverengi, 35-45 µm, sterigma iki sıralı, birinci sıra, 10-12 x 3,5-4 µm, ikinci sıra 6-8 x 2,5-3 µm, konidia 3-3,5 µm, üzeri siğilli, sklerotia 300-500 µm' dir (Şekil 4.2.12 C,D).

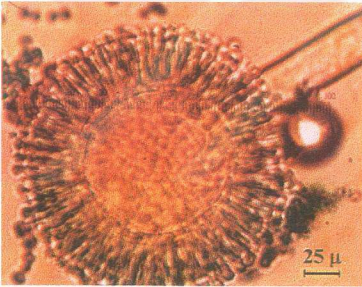
Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler, 6-7 cm çapında, düz, merkezden kenarlara ışınsal çizgili, kadifemsi, üzerinde kahverengi 100-150 µm çapında globoz veya subgloboz sklerotlar mevcuttur. Başlar radyat, 100-3000 µm, koloni yüzeyi granular görünümlü, hafifçe zonat, merkezde demetler mevcut, başlar kenarlarda ve merkezde daha koyu, orta kısımlarda daha açık renkli, koku belirsiz, eksüda yok, koloni ters yüzeyi renksizdir (Şekil 4.2.12 B).



A)



B)



C)



D)

Şekil 4.2.12 *Aspergillus heteromorphus* A)Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Baş yapısı D) Konidia

4.2.13 *Aspergillus japonicus* Saito (1906)

Sinonim:

Aspergillus japonicus var. *atrofuscus* Iizuka

Aspergillus brunneo-violaceus Batista and Maia

Aspergillus japonicus var. *capillatus* Nakazawa, Takeda and Suematsu

Aspergillus atro-violaceus Mosseray

Czapex Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 4-4,5 cm çapında, koloni kenarlarında sıkı, beyaz, ışınsal çizgiler içeren beyaz miselyum mevcuttur. Koloni yüzeyi kahverengimsi siyahtır. Eksüda bulunmaz, kokusu belirgin değildir. Koloni ters yüzeyi sarımsı-yeşil renktedir (Şekil 4.2.13 A).

Konidial başlar önce radyat sonra kolumnar ve divergent, 150-250 µm, konidiofor 600-850 x 7-10 µm, veziküller sarımsı-kahverengi, hafifçe uzamış, 20-28 x 30-35 µm, sterigma tek sıralı, 6-8 x 3,5-4,5 µm, slerotia krem-beyaz renkli globoz veya subgloboz, 400-700 µm uzunluğundadır (Şekil 4.2.13C,D,E).

Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 6-8 cm çapında, ışınsal çizgili, koloni ters yüzeyi sarımsı renktedir (Şekil 4.2.13 B).

4.2.14 *Aspergillus niger* Van Tieghem (1867)

Sinonim

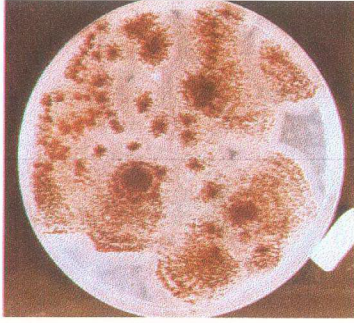
Sterigmatocystis nigra V. Tiegh

St. antacustica Cramer

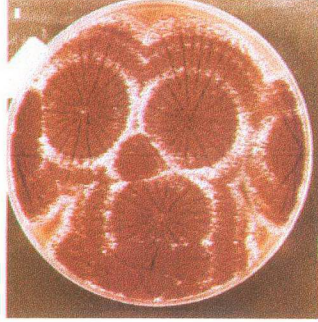
A. fuliginosus Peck

A. fumaricus Wehmer

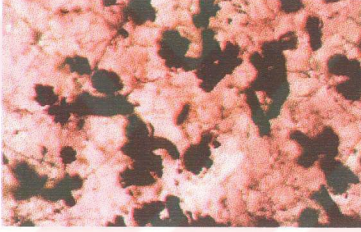
A. longobasidia nomen nudum Bainier



A)



B)



C)



D)

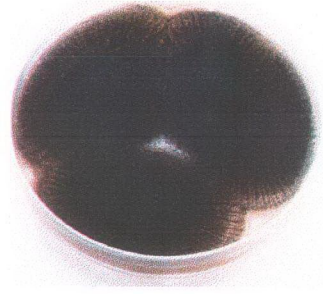


E)

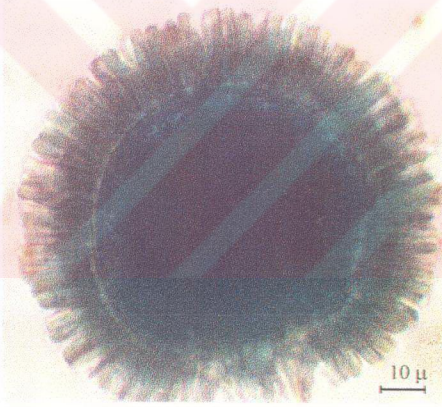
Şekil 4.2.13 *Aspergillus japonicus* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Tekstür D) Baş yapısı E) Konidia



A)



B)



C)



D)

Şekil 4.2.14 *Aspergillus niger* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Baş yapısı E) Baş, konidiofor ve konidia

A.nigricans Wreden

A.nigriceps Berk and Curtis

Czapex Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 4,5 cm çapında, koloni kenarlarında 3-5 mm genişliğinde değişik beyaz batık bazal miselyum mevcuttur. Koloni ters yüzeyi açık sarı renklidir. Merkezde konidial başlar daha küçük, miselyum sarı renklidir. Kokusu hoş, eksüda yoktur (Şekil 4.2.14 A).

Konidial başlar 300-400 µm, küçükler 200-250 µm, başlar siyah veya kızıl-kahverengidir. Konidiofor 1-2 mm uzunluğunda, 12-18 x 1,5-3 µm, içi granüllü, hafifçe kahverengi tonlarında renklenmiş, konidiofor duvarı 1-3 µm kalınlığındadır. Vezikül 30-50 µm, sterigmalar 2 sıralı, birinci sıra 25-30 x 4-7 µm, ikinci sıra 8-11 x 2,5-3,5 µm, konidia 4,5-5 µm, globoz, veya eliptik, dikenler enine doğrultuda dizilmişlerdir (Şekil 4.2.14 C,D).

Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 4,5-5,5 cm çapında, koyu kahverengi-siyah renkte, sporulasyonca zengin, eksüda ve koku yok, koloni tersi soluk sarı renktedir (Şekil 4.2.14 B).

4.2.15 *Aspergillus ochraceus* Wilhelm (1877)

Sinonim:

Aspergillus ochraceo-petaliformis Batista and Maia

Aspergillus alutaceus Berkeley and Curtis

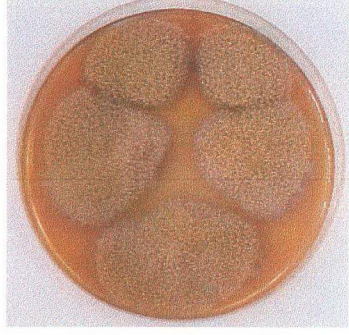
Sterigmatocystis helva Bainier

Aspergillus ochraceus var. *microsporus* f.sp. *floccosus* Ohmasa

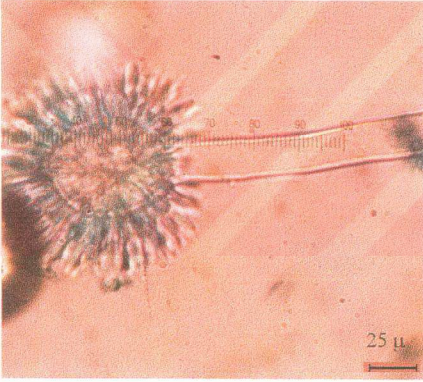
Czapex Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 3,5-4 cm çapında, düz, batık miselyum merkezde hafif kabarık, konidioforlar merkezde ve koloni kenarlarında yükselmiştir. Bu nedenle hafif zonlu bir görünüme sahiptir. Koloni rengi krem-sarıdan, açık-sarı-kahve, koloni kenarlarında sarımsı, merkezde



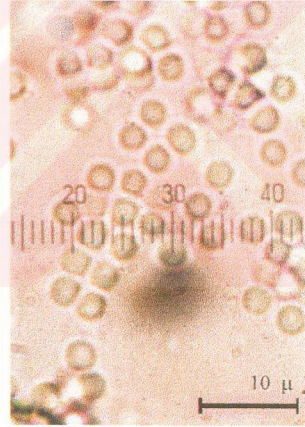
A)



B)



C)



D)

Şekil 4.2.15 *Aspergillus ochraceus* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Baş yapısı D) Konidia

açık kahvemsî sarımsıdır. Eksüda yoktur. Koloni kenarlarında ve merkezde sporulasyon bol, koloni ters yüzeyi sarımsıdır. Sklerotia oval veya yuvarlağimsî, 750-1250 µm, beyazdan soluk pembeye değışen renklerde dir (Şekil 4.2.15 A).

Konidial başlar 500 µm'a kadar ulaşır. Konidioforlar 1,0-1,5 uzunluğunda ve 10-13 µm genişliğinde, konidiofor duvarının kalınlığı 1-2 µm, veziküller 40-55 µm dur. Sterigmata iki sıralı olup birinci sıra 18-25 hatta 30 x 3,5-5 µm, ikinci sıra 7-10 x 2,5-3 µm dur. Czapek Dox Agar'da konidia globoz veya subgloboz, kaba görümlü, dış kısmı hyalin, 2,5-3 µm'dur (Şekil 4.2.15 C,D,E).

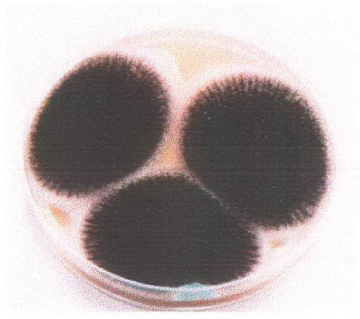
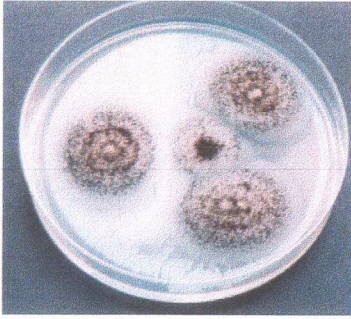
Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 4,5-5,0 cm, düz, dışta belirgin ince beyaz miselyum etrafında konidioforlar yükselerek dizilmiştir. Diğer bölgelerde miselyum batıktır (Şekil 4.2.15 B).

4.2.16 *Aspergillus olivaceo-fuscus*, Mosseray

Czapek Dox Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler, 4-6 cm çapında, açık kahverengi-toprak reğinde, genç evrede sıkı bir bazal miselyum görülür, olgunlaşma ile birlikte sporulasyon tüm koloni boyunca yayılır fakat merkezi kısımda daha yoğundur. Konidioforlar bazal miselyumdan hafifçe yükselmiştir, alt yüzey rengi yeşilimsidir, eksüda bulunmaz, kokusu hafiftir ve küf kokusunu andırır (Şekil 4.2.16 A).

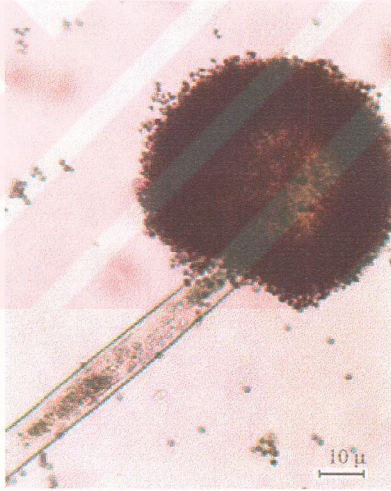
Başlar radial 250-375 µm çapında, konidioforlar 600-1000 x 16-18 µm, ebadında düzgün 2,5-3 µm kalınlığındadır. Konidioforlar başın altında hafifçe sarı-kahverengi granüllüdür. Veziküller 40-50 µm çapındadır. Sterigma iki sıralı olup Birinci sıra olgun başlarda 20-25 x 3,5-5 µm, ikinci sıra 6-8 x 2,5-3 µm dur. Konidia 2,5-3 µm, düzgün, yuvarlaktır (Şekil 4.2.16 C).

Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 2-2,5 cm çapında kenarları düzgün 1 mm genişliğinde batık miselyumu takip eden 3-4 mm genişliğinde beyaz-gri renkli steril miselyum mevcuttur. Sporulasyon merkezde az yoğun olup siyah renkli başlar halindedir. Koloni alt yüzey rengi belirgin değildir. Eksüda bulunmaz. Kokusu hafiftir ve turpu andırır (Şekil 4.2.16 B).



A)

B)

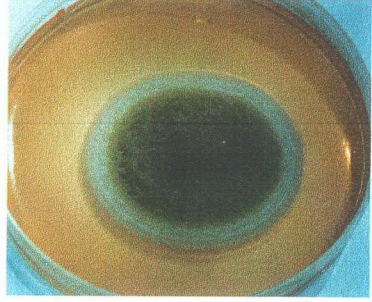


C)

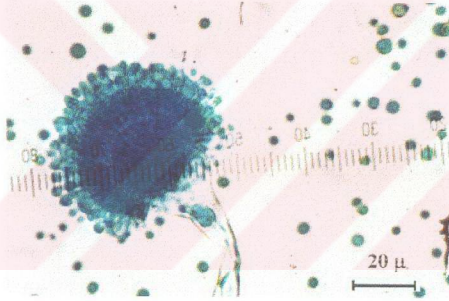
Şekil 4.2.16 *Aspergillus olivaceo-fuscus*, A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Baş yapısı ve Konidia



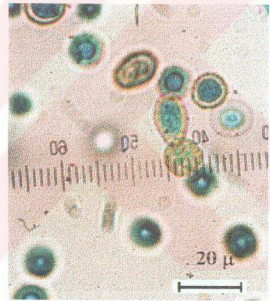
A



B



C)



D)

Şekil 4.2.17 *Aspergillus parasiticus* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Baş yapısı D) Konidia

4.2.17 *Aspergillus parasiticus* Speare (1912)

Sinonim:

A. chungii Shih

A. flavus var. *viridis* Blochwitz

A. parasiticus f. *sojae* (Saka and Yam.) Nehira

A. sojae Sakaguchi and Yamada

Czapex Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 3,5-4 cm çapındadır, olgunlaşma ile koyu yeşil ve koyu sarımsı yeşile döner. Kenarlarda beyaz renkte batık miselyum mevcuttur. Konidial başlar önce parlak sarı renkte, daha sonra ise yeşil renktedir. Koku belirsiz, eksüda yok, koloni ters yüzeyi krem renktedir (Şekil 4.2.17 A).

Konidial başlar radyat, 350-450 µm, konidioforlar 400-700 µm, konidioforlar vezikül altında dikenli, alt kısımlarda düzgün, veziküller 25-30 µm, sterigmata tek sıralı, 7-9 x 3,5-4 µm, konidia globoz, dikenli, 3,5-5 µm' dir (Şekil 4.2.17 C,D).

Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 6-7 cm çapında, düz, sporulasyonca zengin, koloni tersi rensiz, eksüda yok ve koku belirgin değildir (Şekil 4.2.17 B).

4.2.18 *Aspergillus petrakii* Vörös (1957)

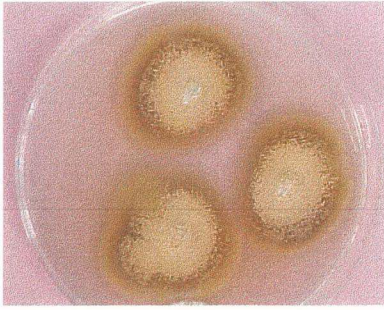
Sinonim:

St. aurea Greco

A. flavus f. *maydis* Ciferri

A. greconis Dodge

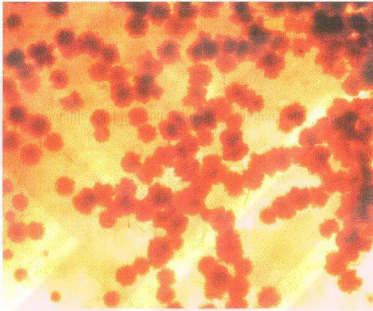
St. ochracea Bainier



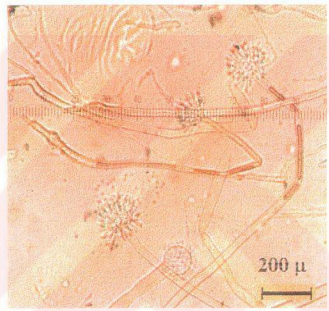
A)



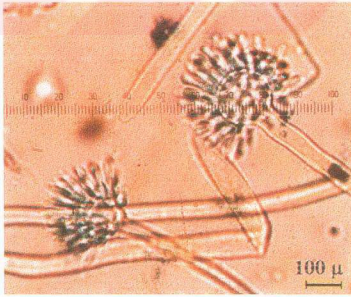
B)



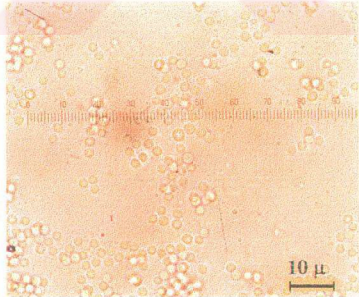
C)



D)



E)



F)

Şekil 4.2.18 *Aspergillus petrakii* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Tekstür D) Baş ve konidioforlar E) Baş yapısı F) Konidia

Czapex Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 3-3,8 cm çapında koloniler oluşturur. Koloni kenarlarında beyaz bazal miselyum, koloni merkezi hafifçe kabarık, derimsi pembe renkli, koloni ters yüzeyi pembemsi-kahverengi, eksüda bol, kokusuz, Koloni ters yüzeyi pembemsi-kahverengidir (Şekil 4.2.18 A).

Konidial başlar 120-150 µm, önce globoz, sonra radyat, daha sonra çatlayarak 200-300 µm' a ulaşır. Konidioforlar, 1-1,5 mm x 5-8 µm ebadında, 1-1,5 µm kalınlığında, kaba, veziküller 15-30 µm genişliğinde, sterigmata 2 sıralı, birinci sıra, 6-9 x 3,5-4 µm, ikinci sıra 5,5-8 x 3-4 µm ebadında, conidia subgloboz, 3,5-4 x 2,5-3 µm ebadında, çok ince dikenli, sklerotia bulunmaz (Şekil 4.2.18 C,D,E,F).

Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 5,5-6 cm çapında, afifçe kabarık yünüsü görünümde, sarımsı pembe renkli, koloni ters yüzeyi pembemsi kahverenkli (Şekil 4.2.18 B).

4.2.19 *Aspergillus phoenicis* Thom (1926)

Sinonim:

Sterigmatocystis phoenicis (Cda) Pat. And Delacr.

Aspergillus ustilago Beck *Ustilago phoenicis* Cda

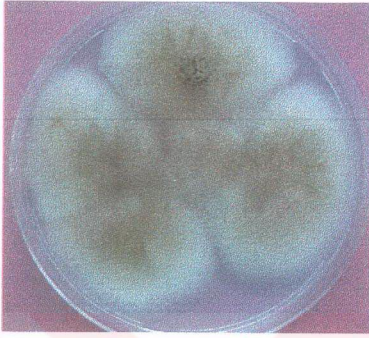
Aspergillus saitoi Sakaguchi, Iizuka and Yamazaki

Aspergillus saitoi var. *kagosima* Saka. et al.

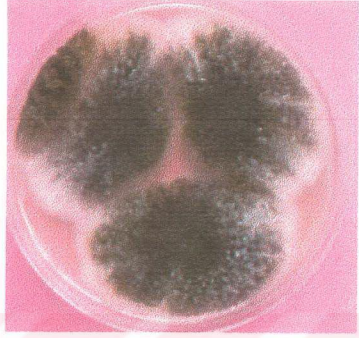
Aspergillus awamori var. *hominis* Batista and Maia

Czapex Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 3-3,5 cm, radial kıvrımlı, merkeze doğru hafifçe kabarık, sporulasyon zayıf, beyaz, merkezde ve kenarlarda daha yoğun, Kenarlarda farklı genişliklerde beyaz renkli bazal miselyum mevcuttur (Şekil 4.2.19 A).

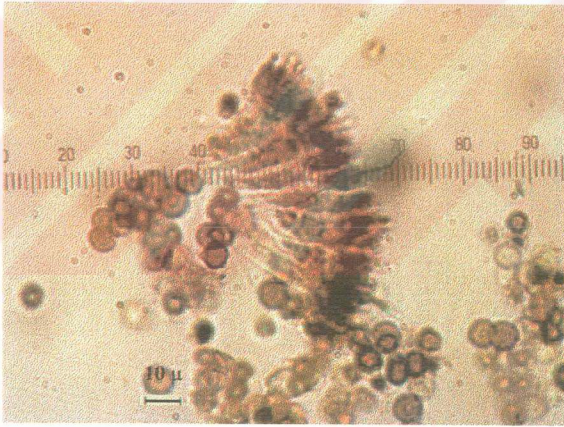
Başlar 400-500 µm, radial, siyah renkli, konidioforlar 1-3 mm x 10-15µm, düzgün duvarlı, 1-1,5 µm kalınlığında, vezikül 40-65 µm, sterigmata 2 sıralı, birinci



A)



B)



C)

C)

Şekil 4.2.19 *Aspergillus phoenicis* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Sterigmata ve Konidia

sıra 12-20 x 4-7 µm, ikinci sıra 6-8 x 3-3,5 µm, konidia 3-3,5 µm, kaba, globoz veya subglobozdur (Şekil 4.2.19 C).

Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 5-6 cm çapında, düz, kadifemsi, koloni ters yüzeyi krem renklidir (Şekil 4.2.19 B).

4.2.20 *Aspergillus pulverulantis* (Mc Alpine) Thom (1926)

Sinonim:

Sterigmatocystis pulverulanta Mc Alpine

Aspergillus (*Sterigmatocystis*) *strychni* Lindau

Aspergillus elatior Mosseray

Czapex Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 3 cm çapında, hafif kabarık, kenarlarda 0,5-0,7 cm çapında geniş bir bazal miselyum mevcuttur. Sporulasyon orta derecede merkezde gelişmenin daha yavaş olduğu saptandı. Koloni rensiz ve koku belirgin değildir (Şekil 4.2.20 A).

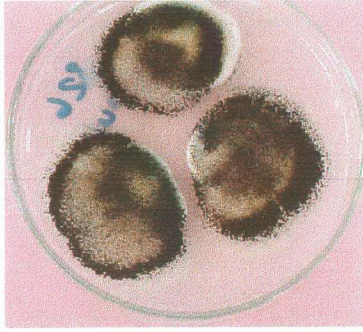
Konidial başlar 400-600 µm, önce globoz, sonra radyat ve sonunda kolumnardır. Konidioforlar vezikül altında kahverengi tonlarında, 5-6 mm x 18-20 µm, ebadında, ve konidiofor duvarları 1-1,5 µm kalınlığındadır. Veziküller globoz 40-80 µm, sterigma 2 sıralıdır. Birinci sıra 28-35 x 12-14 µm, ikinci sıra 9-12 x 3-3,5 µm, sporlar globoz, 4-5 µm, siğilli ve üzerinde dikey barlar mevcuttur (Şekil 4.2.20 C,D,E).

Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 6-7 cm çapında, yünüsü, orta derecede spor gelişimi mevcuttur. Konidioforlar uzundur. Eksüda yoktur, koku su küfü andırır. Koloni ters yüzeyi krem-sarı renktedir (Şekil 4.2.20 B).

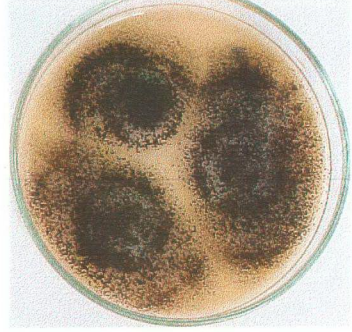
4.2.21 *Aspergillus sclerotiorum* Huber (1933)

Sinonim:

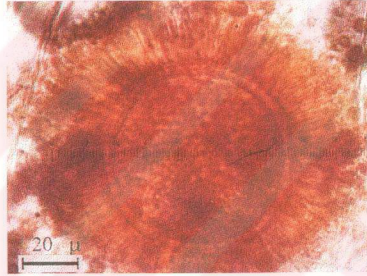
Aspergillus sachari Chaudhuri and Sachar



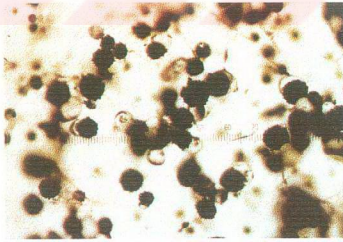
A)



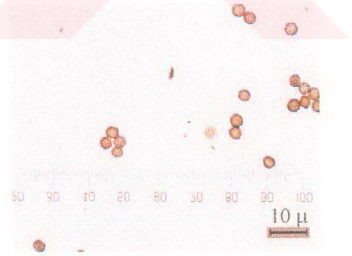
B)



C)

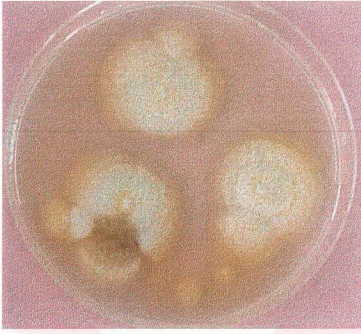


D)

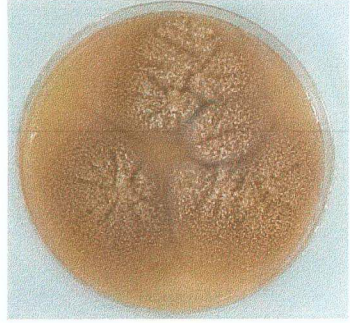


E)

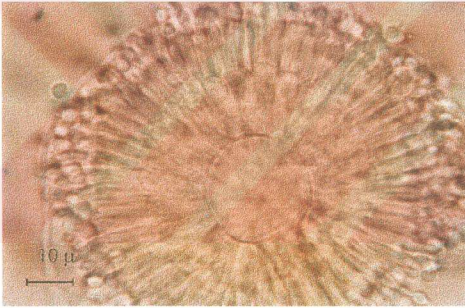
Şekil 4.2.20 *Aspergillus pulverulentus*)Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Tekstür D) Baş yapısı E) Sterigmata F) Konidia



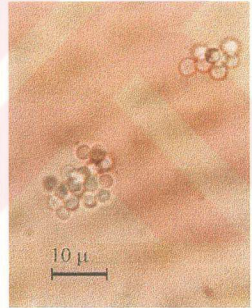
A)



B)



C)



D)

Şekil 4.2.21 *Aspergillus sclerotiorum*)Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Baş yapısı D) Konidia

Czapex Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 4 cm çapında kenarlarda ince, sıkı bir bazal miselyum vardır. Genç evrede koloni rengi ters yüzeyi beyaz, krem, düz, olgun evrede merkezinde açık sarı renkli sporulasyon mevcuttur. Koloni alt yüzeyi krem, merkezde sarımsı-krem renklidir. Belirgin bir kokusu yoktur. Eksüda ancak mikroskopta düşük büyütme ile gözlelenebilmektedir (Şekil 4.2.21 A).

Konidial başlar Czapex Dox Agar'da radial, 180-250 µm çapında, Malt Extract Agar'da daha çok kolumnar ve 375-445 µm uzunluktadır. Olgunlaşma ile başlar çatlayarak kolumnar hale geçer. Konidioforlar 1500-1750 x 8-11 µm ebadında, 1-1,5 µm kalınlığındadır. Konidioforlar Czapex Agarda düzgün, Malt Extract Agar'da dikenlidir. Veziküller 35-42 µm, çapında, sterigma 2 sıralı, birinci sıra 4-8 x 3-3,5 µm, ikinci sıra 8-10 x 2-2,5 µm, konidia yuvarlak veya kabaca yuvarlağımsı, 2,5-3 µm çapında, sklerotia beyaz-krem renkli, 1-1,5 mm çapında koloni yüzeyine dağılmıştır (Şekil 4.2.21 C,D).

Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 6 cm çapında, düz, sporulasyonca zengin, sarı renkli, merkezden kenarlara uzanan hafif katlanmalar mevcuttur. Koloni kenarında 2-3 mm'lik batık miselyum ve 0,5 cm'lik bir steril zon mevcuttur. Merkezde 3 mm yüksekliğinde aerial miselyum vardır. Koku ve eksüda bulunmaz. Koloni alt yüzeyi koyu sarı renklidir (Şekil 4.2.21 B).

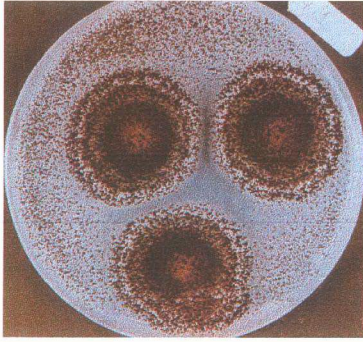
4.2.22 *Aspergillus tubingensis* (Schöiber) Mosseray (1934)

Sinonim:

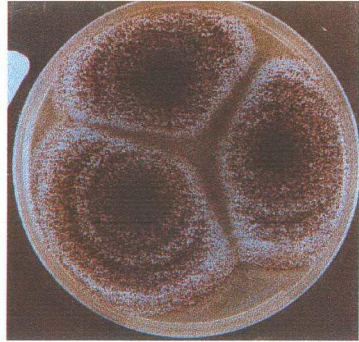
Aspergillus niger forma teubingen, Nomen nudum by Schöiber

Aspergillus atropurpureus Blotchwitz

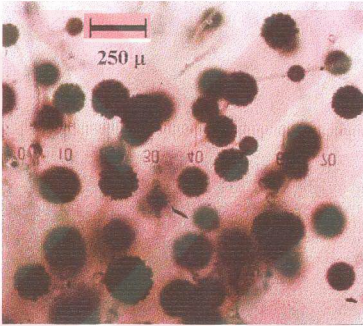
Czapex Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 3,5-4,5 cm çapında, koloni kenarında 3-4 mm genişliğinde beyaz renkli kalın bir bazal miselyum mevcut, konidial başlar çevrede daha yoğun merkezde daha az, gri-kahverengi-siyah tonunda, tüm koloni yüzeyi 2-3 mm yükselmiş, koloni ters yüzeyi krem renginde, ancak mikroskopta görülebilen çok ince eksüda mevcut, koku yoktur (Şekil 4.2.22 A).



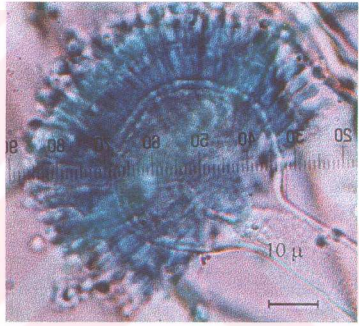
A)



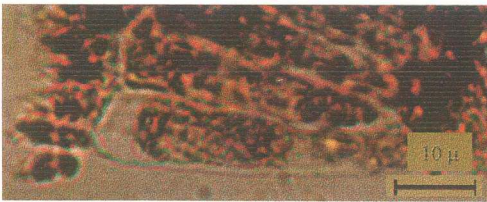
B)



C)



D)



E)



F)

Şekil 4.2.22 *Aspergillus tubingensis* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Tekstür D) Baş yapısı E) Sterigma yapısı F) Konidia

Konidiofor, 4 mm varan uzunlukta, 17-20 µm. Çapında, konidiofor duvarı, 2 µm kalınlığında, düzgün, konidial başlar, 200-400 µm, vezikül 50-70µm, sarı-kahve, sterigmata iki sıralı, birinci sıra: 25-30 x 2,5-3 µm, ikinci sıra 7-11 x 2-2,5 µm, konidium, 3-4 µm, globoz, dikenli, kenarları kahverengidir (Şekil 4.2.22 C,D,E,F)

Malt Extract Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 6,5-7,5 cm, düz, ince, ışınal çizgiler mevcuttur. Koloni yüzeyi sporulasyonca zengin, konidiumlar siyah renkli, koloni ters yüzeyi kirli sarı renkte ve ışınal çizgilidir. Koku yoktur. Eksüda çok incedir (Şekil 4.2.22 B).

4.2.23 *Aspergillus versicolor* (Vuill.) Tiraboschi (1926)

Sinonim

Sterigmatocystis versicolor Vuillemin

Aspergillus versicolor Tiraboschi

St. ambari Beauregard

A. amoemus Roberg

St. bicolor Ray

A. flavo-viridescens Hanzawa

St. glauca Bainier

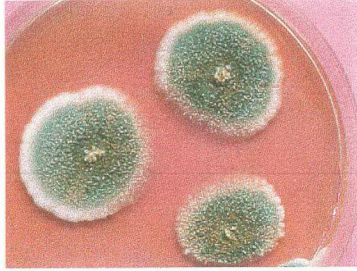
A. globosus Jensen

A. lateralis (Harkn.) Peek and Solheim

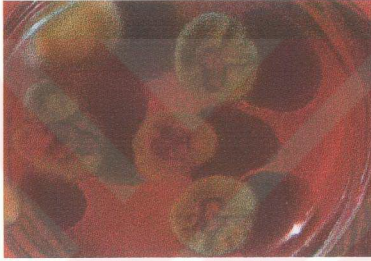
Czapex Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 2-2,5 cm çapında, merkezi hafifçe çukurlaşmış, önce beyaz-pembemsi, daha sonra koyu pembe-sarı renk alır. Sporulasyon koloni kenarlarında geç olarak başlar ve giderek kenarlar yeşil orta kısım sarı renk alır. Merkezi kısım granüler bir yapıdadır. Merkezden çevreye radial çizgiler mevcuttur. Eksüda pembe renkli, koku yoktur.



A)



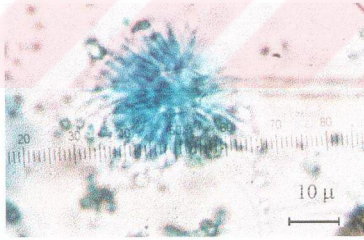
B)



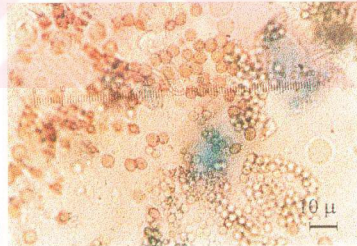
C)



D)



E)



F)

Şekil 4.2.23 *Aspergillus versicolor* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Agar'da C) Koloni ters yüzeyinde pembe-kırmızı renk D) Genç evrede (Czapek-Dox agar'da E) Konidial baş F) Konidia

Koloni ters yüzeyi koyu pembe renklidir ve alt yüzeyde ışınal çizgiler mevcuttur (Şekil 4.2.23 A,C,D).

Konidial başlar önce globoz sonra radyat 50-90 µm çapında, alt agarda düzensiz kolumnar 90-110 µm olarak gözlemlendi. Konidiyoforlar 250-450 x 4-5 µm, genç konidiyoforların yüzeyi pürüzlü, olgunlarda düzgün, vezikül 20-24 x 14-22 µm, ampul şeklinde, uzamış, sterigma iki sıralı, Birinci sıra, 6-7 x 4,5 µm, ikinci sıra 5-7 x 2-2,5 µm, konidia, subgloboz, ince dikenli, çoğunlukla 3,5 – 4 x 3,5 µm ancak 4-6 x 3,5 µm' a kadar gözlemlendi (Şekil 4.2.23 E,F).

Malt Extract Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 3 cm çapında, önce kadifemsi, merkezde hafif yükselmiş, Bazal miselyum 1-2 mm ve krem renklidir. Sporulasyonca zengin, yağ yeşili rengindedir. Koloni etrafında agarda daire biçiminde bir yarılmna gözlenir. Koloni ters yüzeyi kahvemi-truncu renktedir (Şekil 4.2.23 B).

4.2.24 *Penicillium brevi-compactum* Dierckx (1901)

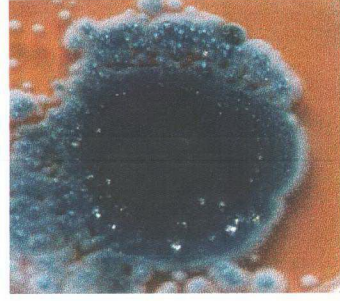
Czapex Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 1,5-2 cm, zonlu, dışta 1-2 mm beyaz-krem sonra sarı-yeşil, daha içte krem-sarı ve yağ yeşili tonları vardır. 1 cm genişliğindeki orta kısımda krem renginde, kadifemsi, pamuksu, koyu sarı eksuda ince damlacıklar halinde bu kısımda yoğunlaşmıştır. Koloni merkezinde 1 cm çapındaki kısım olgunlaşma ile 2-3 mm yükselir. Koloni alt yüzeyi merkezde kahve-sarı, dışta krem renklidir (Şekil 4.2.24 A).

Penisilli 100-125 µm uzunlukta, asimetric divarikat, konidiofor 300-400 x 4-5 µm, septat, hafifçe kaba dokulu, birden fazla dallı, dal 15-25 µm hatta 50 µm uzunluğunda, 3-5 µm genişliğinde, metula 3-5 adet, 8-12 x 3,5-4,5µm, sterigma 3-5 adet, 9-13 x 2-3 µm, konidia oval, kaba, 2,3-3 x 3-4 µm, zincirler halinde, konidial zincirler 10-55 µ dur (Şekil 4.2.24 C,D).

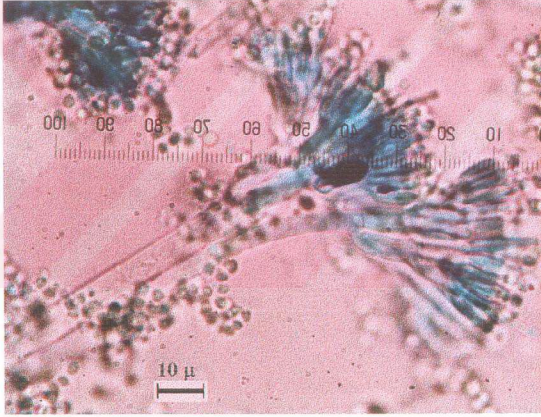
Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 25° C de iki haftalık koloniler 2,5-3 cm çapında, dış kısımda 1-2 mm' lik beyaz bir zon bulunur. Koloninin diğer kısımları yeşil renklidir. Sporulasyon yoğun, radial katlanmalar



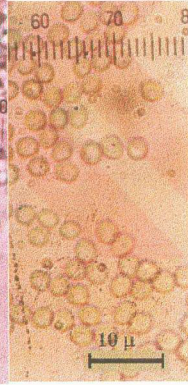
A)



B)



C)

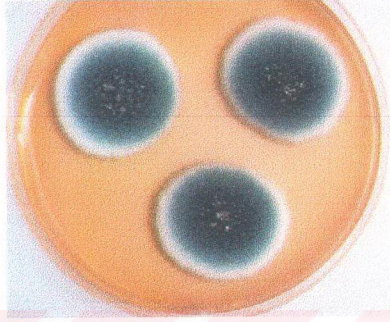


D)

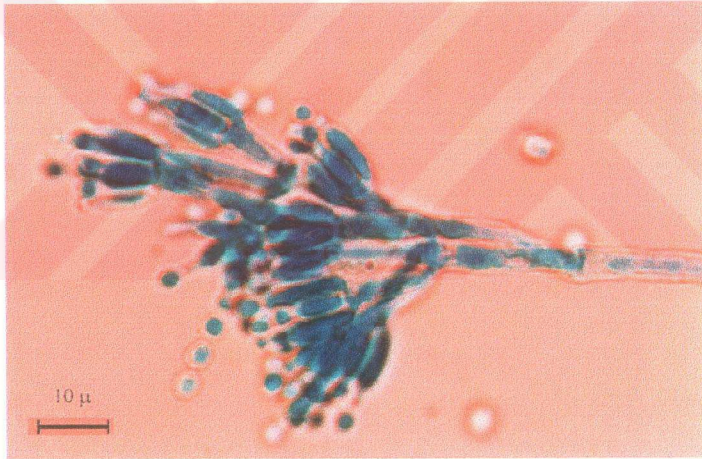
Şekil 4.2.24 *Penicillium brevis-compactum* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Konidiofor ve penisilli genel görünümü D) Konidia



A)



B)



C)

Şekil 4.2.25 *Penicillium camemberti* A) Czapek-Dox Agar’da B) Malt Extract Agar’da C) Penisilli ve konidia

mevcuttur. Koloni ters yüzeyi merkezde sarı-kahve, dış tarafta derimsi renktedir. Eksüda azdır (Şekil 4.2.24 B).

4.2.25 *Penicillium camemberti* Thom (1906)

Sinonim:

P. camemberti Sopp

P. aromaticum Sopp

Czapex Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 2-3 cm çapında, lanoz, genç evrede beyaz, olgun evrede grimsi yeşilimsi renkte, azonat, koloni ters yüzeyi krem sarı renkte, eksüda ve koku yoktur (Şekil 4.2.25 A).

Penisilli 50 µm uzunluğunda, konidioforlar 600-800 x 3-3,5 µm, dal bir adet, 20-40 x 2,2-2,8 µm, metula 3-5 adet, 6-10 x 2,5-3 µm, sterigma 3-5 adet, 7-12 x 2,5-2,7 µm, konidia 3-4,5 µm globoz veya subgloboz, konidia zinciri 50 µm' dur (Şekil 4.2.25 C).

Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 4,5-5 cm çapında, gri-beyaz renkli, lanoz, koloni ters yüzeyi koyu sarı renklidir (Şekil 4.2.25 B).

4.2.26 *Penicillium canescens* Sopp (1912)

Czapex Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 2,5-3 cm çapında, koloni yüzeyi hafif yünüksü, kenarlarda ışınsal katlanmalar mevcuttur. Eksüda az, amber renkli küçük damlacıklar halindedir. Koku belirgin değildir. Koloni ters yüzey rengi genç evrede portakal-kahverengi olgunlaştığında ise merkezden başlamak üzere daha koyu kahverengidir. Koku belirgin değil eksüda çok az, sarı renklidir (Şekil 4.2.26 A).

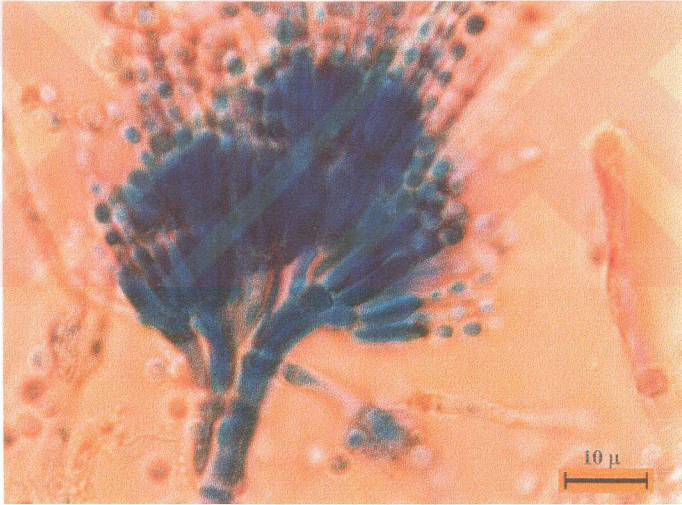
Penisilli asimetrik, divarikat, konidioforlar 350-450 µm, kaba görümlü, metula üç adet, 10-18 x 2,5-3 µm, sterigma 5-7 adet, 7-9 x 2-2,3, µm, uçlarda daralıyor, conidia geç evreden olgunluğa giderken ovalden globoza değişiyor, 2-3 µm çapında kaba veya düzgün duvarlıdır (Şekil 4.2.26 C).



A)



B)



C)

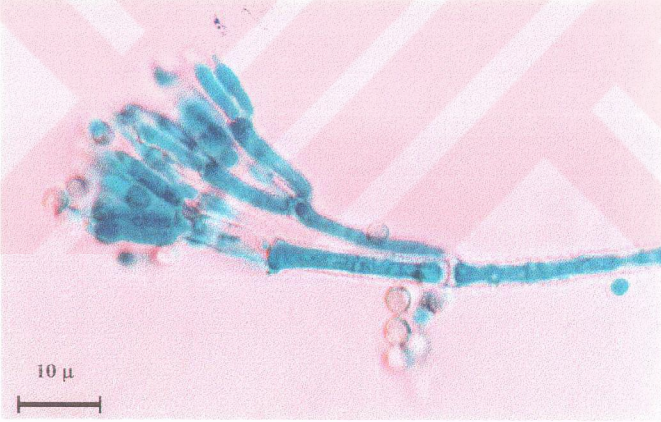
Şekil 4.2.26 *Penicillium canescens* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Penisilli ve konidia.



A)



B)



C)

Şekil 4.2.27 *Penicillium carneo-lutescens* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Konidiofor, penisilli ve konidia

Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 2,5 cm çapında yünüksü, koyu gri-yeşil renkte, sporulasyonca zengin, eksüda bulunmaz. Koloni ters yüzeyi kahverengi tonundadır (Şekil 4.2.26 B)

4.2.27 *Penicillium carneo-lutescens* Smith (1939)

Czapex Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 2,5 3 cm çapında, kenarlarda çok sıkı krem beyaz renkli bazal miselyum mevcuttur. Merkezi kısım grimsi-kahverengi, yer yer koyu sarı-kahverengi ve granüllüdür. Koloni kenarlarında önce eyaz sonra koyu sarı renkli demetler mevcuttur. Demetlerin yüksekliği 3-4 mm yi bulur. Koloni merkezi genellikle düz, bazen demetler içerir. Belirgin bir kokusu yoktur. Eksüda koyu sarı renklidir. Koloni ters yüzeyi açık sarıdan pembemsi sarıya değişir (Şekil 4.2.27 A).

Penisilli asimetrik, , 40-45 x 30-35 µm ebadında, konidiofor, 300-450 x 4-5 µm, siğilli, dal, 1 veya 2 adet, 25-30 x 4-5 µm, siğilli, metula üç adet, 12-15 x 3-3,5 µm, sterigma 3-5 adet, 8-11 x 2,5 2,8 µm, conidia 3,5 x 3 µm, subgloboz, çok ince prüzlüdür (Şekil 4.2.27 C).

Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 5 cm çapında, 1,5 2 mm yüksekliğinde, yünüksü, sarımsı renktedir. Sporulasyon zayıftır (Şekil 4.2.27 B).

4.2.28 *Penicillium casei* Staub. (1930)

Czapek Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 2,5 cm çapında, koloni kenarında 2 mm lik bir büyüme zonu mevcuttur. Koloni yüzeyi sarı ve koyu yeşil renktedir. Kokusu küf kokusunu andırır. Eksüda merkezde yoğun, renksiz, koloni ters yüzeyi sarı-kahverengi, portakal-kahverengidir. Koloni merkezi hafifçe kabark ve sporulasyonun olmadığı beyaz bir alan içerir (Şekil 4.2.28 A).

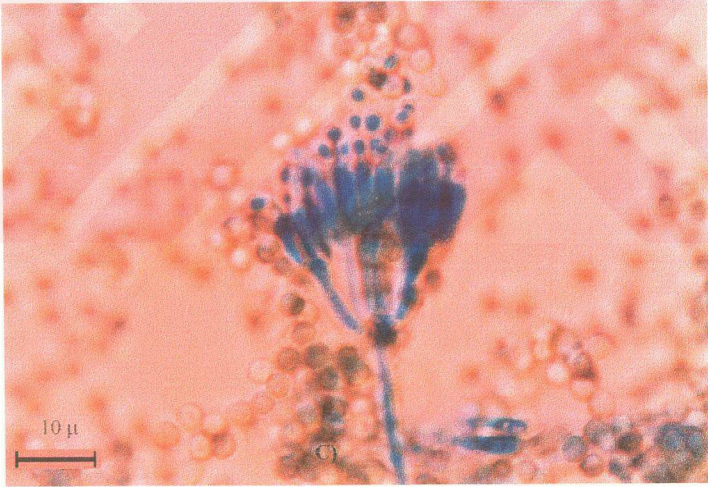
Penisilli asimetrik, konidiofor 85-400 x 4 µm, dikenli, dal 1 adet, 30-130 x 2-2,5µm, dikenli, metula 3 adet, 10-12 x 2,5 µm, sterigma 3-5 adet, 7-9 x 2 µm, konidia globoz, 3 µm, konidia zinciri 75 µm'dur (Şekil 4.2.28 C).



A)

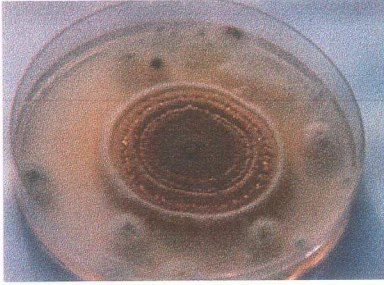


B)



C)

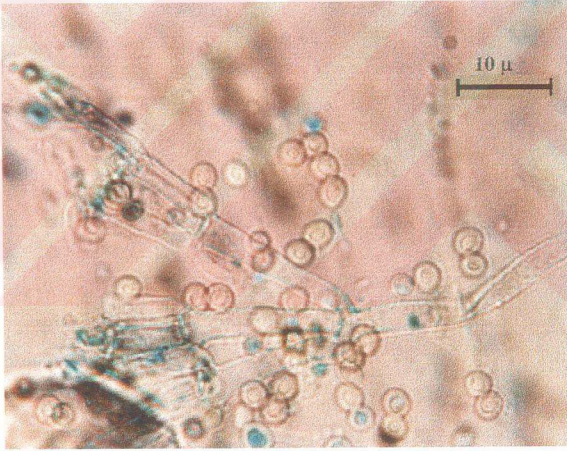
Şekil 4.2.28 *Penicillium casei* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Penisilli ve konidia.



A)



B)



C)

Şekil 4.2.29 *Penicillium commune* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Penisilli ve konidia.

Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 2-2,5 cm çapında merkezde kabarık, koloni yüzeyi kadifemsi, eksüda yoktur, kloni ters yüzeyi portakal rengidir (Şekil 4.2.28 B).

4.2.29 *Penicillium commune* Thom (1930)

Czapex Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 3,5-4 cm çapında, koloni kenarında 1,5-2 mm genişliğinde beyaz, yünüksü miselyum yer alır koloni kenarlarında hafifçe yükselmiştir. Bunu et renginde ince bir zon izler. Koloni yüzey rengi grimsi-yeşilden açık-kahverengimsi-yeşile kadar değişir. Orta kısım önce krem yeşilimsi sonra yağ yeşili tonunda, kadifemsi ve düzdür. Eksüda çok ince renksiz veya açık sarı renklidir. Kokusu küf kokusunu andırır. Koloni ters yüzeyi sarımsı-pembesidir (Şekil 4.2.29 A).

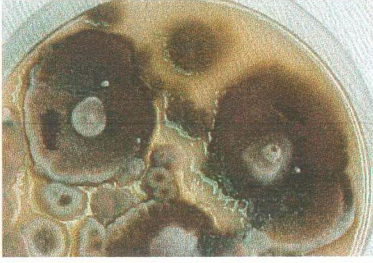
Penisilli asimetric, 150-200 x 4-4,5 µm, sigilli, dallar 1-2 adet, 12-15 x 2,8-3 µm, hatta 23 µm uzunluğa kadar olabiliyor. Metula 3 adet, 12-20 x 3-3,5 µm, sterigma 3-5 adet, 8-10 x 2,5-3 µm, konidia globoz, subgloboz, 3,5-5,0 x 2,5-3,5 µm, düz çepelidir (Şekil 4.2.29 C).

Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 4,5 cm çapında, düz, kadifemsi, mavimsi-yeşil renkte, hafifçe zonattır. Eksüda renksizdir ve dış halkada yer alır. Koloni ters yüzeyi kenarlarda yeşil gölgelimerkezde truncumsusarıdır (Şekil 4.2.29 B).

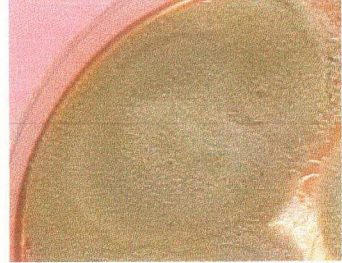
4.2.30 *Penicillium charlesii* Smith (1933)

Czapex Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 2-2,5 cm çapında düz, ince, koloni kenarında 1 mm lik beyaz bazal miselyum mevcuttur. Sporulasyon orta, grimsi-kahverengimsi-yeşil, merkezde 0,5 cm çapındaki alanda ve kenarlarda sporulasyon zayıf, Eksüda yok, koku belirgin değil, koloni ters yüzeyi koyu-yeşilimsi-kahverengidir (Şekil 4.2.30 A).

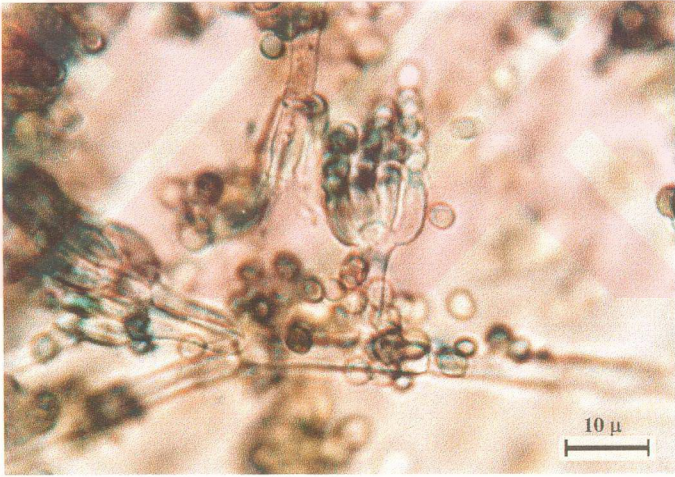
Penisilli, monovertisillat, konidiofor, 40-80 x 3 µm, düzgün, çoğunlukla monovertisillat, bazılarında metula benzeri yapılar gözlemlendi, metula 3-5 adet, 10-12 x 2,6-3,5 µm, sterigma 7-10 adet, 8-10 x 2-2,5 µm konidia, 4 x 3 elips, düzgün şekilli, konidia zinciri 50-120 µm'dur (Şekil 4.2.30 C).



A)



B)



C)

Şekil 4.2.30 *Penicillium charlesii* A)Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Penisilli ve konidia

Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 2-2,5 cm çapında, grimsi-yeşil, düz, kadifemsi, merkezde hafif kabarmış, eksüda yok, tersi truncumsu-kahverengidir (Şekil 4.2.30 B)

4.2.31 *Penicillium chrysogenum* Thom (1930)

Czapex Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 3-3,5 cm, koloni kenarları incedir. Koloniler önce krem-sarı-renkli, kenarlarda 1-3 mm krem rengi zon, hızlı bir sporulasyonla gelişerek mavimsi yeşil renk alır. Orta kısımlar ve merkezde sporulasyon daha zayıftır, hatta steril kalır. Eksüda bol ve sarı renkli, koloni merkezi hafifçe kabarık, azonat, kadifemsi, belirgin bir koku yok, koloni ters yüzeyi parlak sarı renkte, agara diffüzlenen sarı renkli pigmentasyon mevcuttur (Şekil 4.2.31 A,C).

Konidioforlar, 200-250 x 3,5-4 µm, duvarlar düzgün, renksiz, penisilli 75 µm, asimetrik, ve bivertisillat, dal birden fazla, 15-20 x 2,5-3,5 µm, metula 3-5 adet, 10-12 x 2,5-3µm, sterigma, 3-5 adet, 5-8 x 2-2,5 µm, konidium globoz veya elips, 3-3,5 x 2,5-3 µm, düzgün, konidia zinciri, 150-180 µm' dur (Şekil 4.2.31 D)

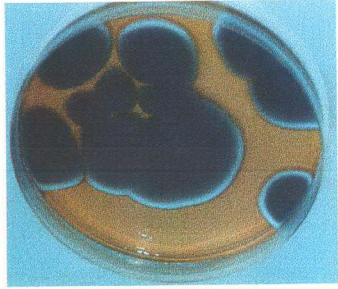
Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 3-5 cm, sporulasyonca zengin, kenarlar hafif zonat, merkezde demetler ve demetlerin çevresinde çok kısa ince katlanmalar mevcuttur. Koloni yüzeyi kadifemsi, koloni rengi grimsi-yeşil, gri-mavimsi-yeşildir. Koku ve eksüda yoktur. Koloni ters yüzeyi sarı-kirli-sarı renkte, kenarları yeşilimsidir (Şekil 4.2.31 B).

4.2.32 *Penicillium citrinum* Thom (1910)

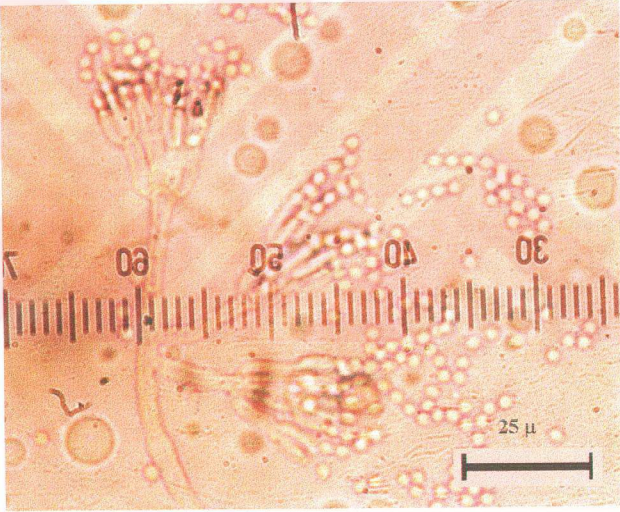
Czapex Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 2-2,5 cm çapında, koloniler kadifemsi, düz, 1-2 mm yüksekliğinde, koloni kenarında 1 mm şeffaf bir zon bulunur. Koloni yüzey rengi önce beyaz sonra sporulasyonla birlikte koloni kenarlarından başlamak üzere mavimsi gri renk alır. Koloni kenarında düzensiz radial katlanmalar ve kenardan 3-4 mm içeride kalan kısımda hafif bir zonlanma görülür. Koloni orta kısmında iki hafta sonra yumaklaşmalar görülür. Konidium üretimi 7-10 gün sonra başlar. Koloni ters yüzey rengi sarı veya portakal



A)

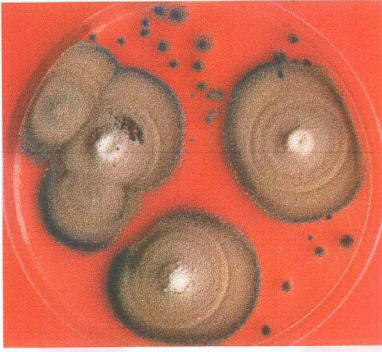


B)

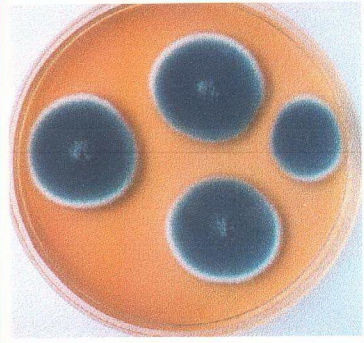


C)

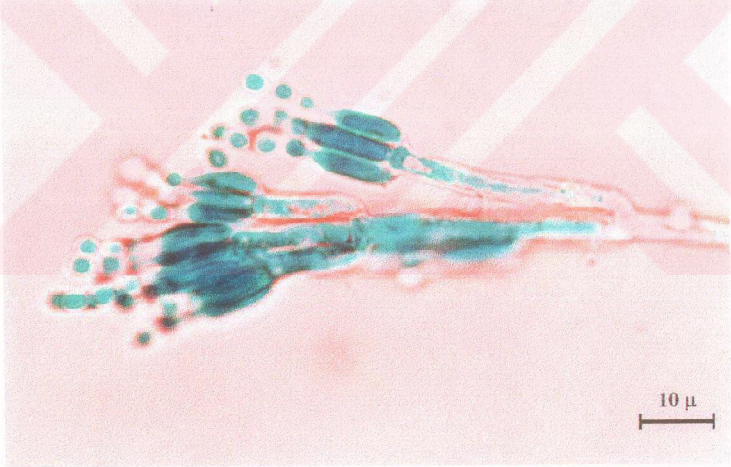
Şekil 4.2.31 *Penicillium chrysogenum* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Konidiofor, penisilli ve konidia



A)



B)



C)

Şekil 4.2.32 *Penicillium citrinum* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Penisilli ve konidia.

sarı renktedir. Eksüda bol çoğunlukla küçük, bazen iri, açık sarı renkli damlacıklar halindedir. Belirgin bir koku yoktur (Şekil 4.2.32 A).

Penisilli asimetric, konidioforlar 120-200 x 2,5-3 µm, metula, 3-4 adet, 9-15 x 2-2,5 µm, sterigma 3-6 adet, 6-11 x 2-3 µm, konidia düzgün, globoz, mavi yeşil, 2-3 µm dur (Şekil 4.2.32 C).

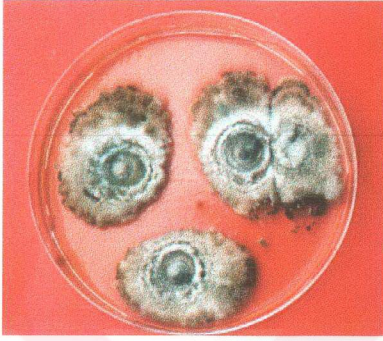
Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 2-2,5 cm çapında, düz, kadifemsi, kenarlarda gri-yeşil, 2-3 mm lik bir zon oluşturur. Sporulasyon yoğun ve yüzeyde radial katlanmalar mevcuttur. Koloni ters yüzey rengi koyu sarı-portakal renktedir (Şekil 4.2.32 B).

4.2.33 *Penicillium corimbiferum* Westling (1911)

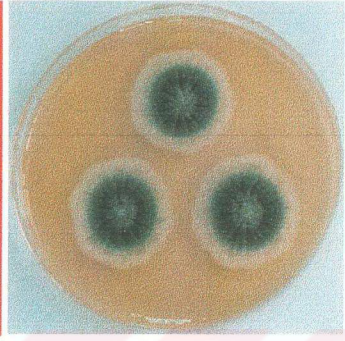
Czapec agarda 25° C de iki haftalık koloniler 5-6 cm genişliğinde, genç evrede beyaz, orta kısımlarda sarımsı, bol eksüdalı, kenarları düzensiz parçalı, olgun evrede daha koyu donuk sarı renkli, merkezi kısımda olgun evrede demetler oluşturur. Orta kısım düz ve kadifemsi, koloni kenarları ise koremiofor yapıda, hafifçe zonat, granüllü ve bol faiküllüdür. Koloni kenarları genç evrede beyaz, daha sonra giderek sarımsı ve mat-yeşilimsi-sarıdır. Koloni alt yüzeyi önce sarı-kahverengi, daha sonra koloni kenarlarında kırmızımsı kahverengidir. Eksüda renksiz veya sarımsı, koku belirgin değildir (Şekil 4.2.33 A).

Penisilli asimetric, bazılarında divarikat, 40-50 µ uzunluğunda, konidioforlar dikenli, 100-280 x 2,5-4 µ, dal, 19-22 x 2,5-3,5 µ, dikenli, genellikle bir adettir. Metula dikenli, her bir konidioforda 3 adet, 10-14 x 2-3,5 µ, sterigma her metulada 2-3 adet, 10-12 x 2 µ, konidium 2,5-3 µ, düzgün yuvarlak, konidium zinciri 30-70 µ'dur (Şekil 4.2.33 C).

Malt Extract Agarda 25° C de iki haftalık koloniler 3-4 µ, merkezi kısım fasikülât, diğer kısımlar düz ve hafifçe radial katlanmalar içerir. Kenarlar düzgün, koloni kenarlarında fasiküller bulunur (Şekil 4.2.33 B).



A)



B)

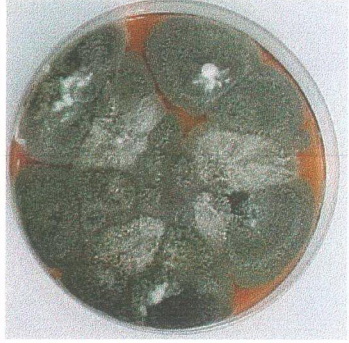


C)

Şekil 4.2.33 *Penicillium corimbiferum* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Penisilli ve Konidia



A)



B)



C)

Şekil 4.2.34 *Penicillium crustosum* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Penisilli ve konidia.

4.2.34 *Penicillium crustosum* Thom (1930)

Czapex Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 3.5-4 cm genişliğinde merkezi hafifçe kabarık , kadifemsi, azonat, düz, sporulasyonca zengin, grimsi-yeşil renktedir. Koloni yüzeyi olgunlaşma ile birlikte dökülmeye başlar. Petri kabı sert bir zemine vurulduğunda, koloni yüzeyinin parçacıklar halinde döküldüğü gözlemlendi (Crust yapısı). Koloni ters yüzeyi renksiz veya merkezde çok hafif sarı-truncu gölgelidir. Küf kokuludur ve eksüda yoktur (Şekil 4.2.34 A).

Penisilli asimetric, 60-80 µm, konidiofor dikenli, 180-500 x 3,5-4 µm, dal 1-2 adet, 18-22 x 2,5-3,2 µm, metula 3-5 adet, 10-15 x 2,5-3 µm, sterigma 5-7 adet, 8-11 x 2-2,5 µm, konidia subgloboz, elips şekilli, 2,5 3 µm, konidia zinciri 150-200 µm uzunluğundadır (Şekil 4.2.34 C).

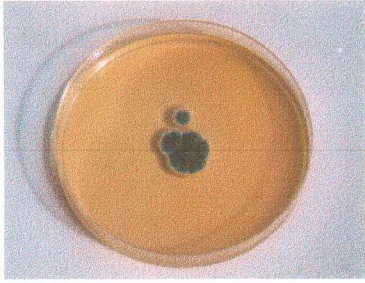
Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 4,5-5 cm çapında, grimsi-yeşil, funikuloz, zonat, düz, kenarlarda 1-1,5 mm yükselmiş, küf kokulu, koloni ters yüzeyi, aşı sarı rengindedir (Şekil 4.2.34 B).

4.2.35 *Penicillium cyaneo-fulvum* Biourge (1921)

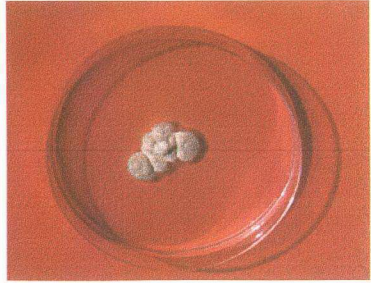
Czapex Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 2,5-3,5 cm, kenarlarda 3-4 mm lik sarımsı-yeşilimsi zon mevcuttur. En dışta bulunan beyaz-krem renkli, 1 mm lik bazal miselyum sporulasyonla birlikte mavimsi renge döner. Koloni merkezi kısmı önce beyaz daha sonra sarımsı renklidir. Koloni orta kısmı 2-3 mm yükselmiş derin yarıklar içerir. Sarımsı renkli orta kısım sporulasyonla birlikte mavimsi-gri renk alır. Koloni altı sarımsı-kahverengimsi renklidir. Belirgin bir koku içermez. Eksüda bol olup küçük, sarı renkli damlacıklar halindedir (Şekil 4.2.35 A).

Penisilli 30-50µm, asimetric, konidioforlar 200-500 x 4,5-5µm, dal bir adet, 15-18 x 3-3,5 µm, metula 3-5 adet, 8-10 x 2,5-3 µm, sterigma 3 adet, 6-10 x 2-2,5 µm, konidia 2,5-3 µm, subglobozdur (Şekil 4.2.35 C).

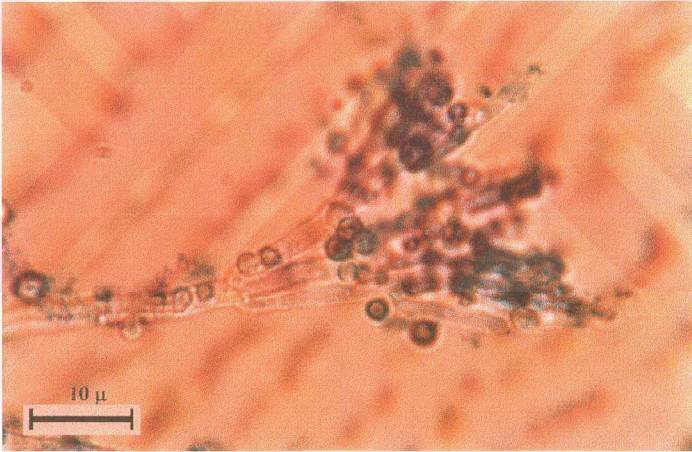
Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 3-4 cm çapında, kadifemsidir. Kenarlarda katlanmalar içerir. Koloni rengi merkezde daha koyu, kenarlarda açık gri-mavidir. Koloni altı sarımsı-kahverengidir (Şekil 4.2.35 B).



A)



B)

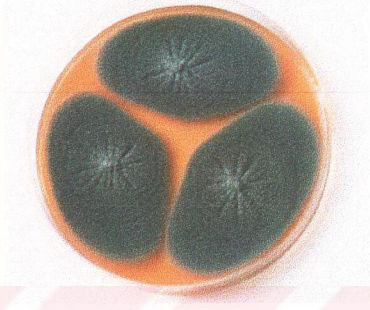


C)

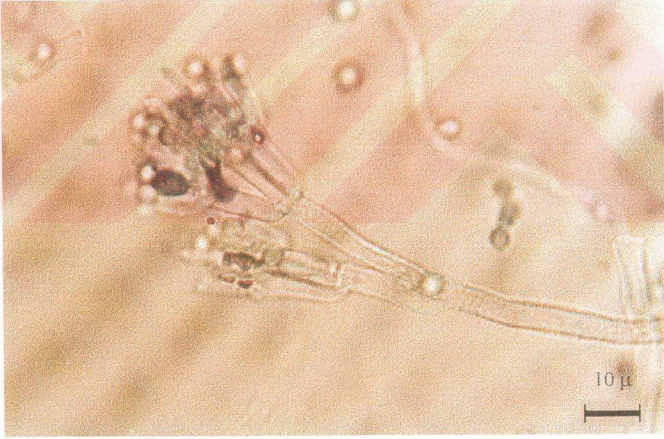
Şekil 4.2.35 *Penicillium cyaneo-fulvum* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Penisilli ve konidia.



A)



B)



C)

Şekil 4.2.36 *Penicillium cyclopium* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Penisilli ve konidia.

4.2.36 *Penicillium cyclopium* Westling (1930)

Czapex Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 5 cm çapında, kenarlarda 2-3 mm, sıkı beyaz renkli bir bazal miselyum mevcuttur. Sporulasyonca zengin koloni yüzeyi mavi-yeşil renkte, radial çizgiler mevcuttur. Koloni yüzeyi granüllü yapıda, kenarlarda fasikülat, koloni ters yüzeyi ise renksizdir. Eksüda çok ince, kokusu küf kokusunu andırır (Şekil 4.2.36 A).

Penisilli asimetrik genişlemiş, konidioforlar 220-500 x 3-3,4 µm, pürüzlü, sepetali, dal bir veya bir den çok, 18-30 x 2,5 3 µm, dikenli, metula 3-5 adet, 10-13 x 3-3,5 µm, sterigma 4-6 adet, 7-9 x 2-2,6 µm, konidia 2,5-3 µm, globoz ve 3,5x3 µm, düzgün duvarlı, elips olarak gözlemlendi. Konidia zinciri 120-140 µm'dur (Şekil 4.2.36 C).

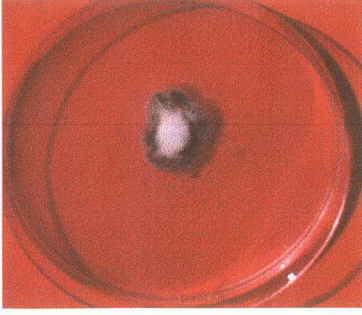
Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 6 cm çapında, düz, kadifemsi, mavi renktedir. Dışta 2-2,5 mm beyaz bir zon mevcuttur. Koloni ters yüzeyi koyu sarı renktedir (Şekil 4.2.36 B).

4.2.37 *Penicillium decumbens* Thom (1910)

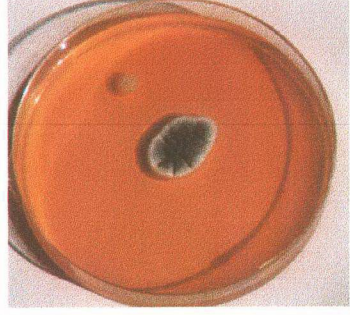
Czapex Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 2,5-3 cm çapında, kenarlarda 1-2 mm genişliğinde bazal miselyum, daha içeride mavi-yeşil, kadifemsi, sporulasyonca zengin bölge bulunur. Koloni kenarları ve orta kısmı oldukça incedir. Merkezi bölgede yaklaşık 1 cm çapa sahip alanda pamuk görünümünde, 2-3 mm yüksekliğinde bazal miselyum kitlesi yığılmıştır. Koloni alt yüzeyi renksiz veya hafif yeşilimsidir. Eksüda yoktur. Kokusu hoş, sabun veya meyvemsidir (Şekil 4.2.37 A).

Penisilli monovertisillat, 40-50 µm, konidioforlar 150-250 x 3,5-4,5 µm, konidioforların tepe kısmında hafifçe genişleme mevcuttur. Metula 5-7 adet, 10-12 x 3-3,5 µm, sterigma her bir metulada 3' er adet, 8-10 x 2-2,5 µm, bazen bir konidiofor üzerinde 17-20 sterigma grubu olarak yer almaktadır. Konidioforlar düzgün globoz 2,5-3 µm, veya elips şekilli, 3-3,5 x 3,5-4 µm' dur (Şekil 4.2.37 C,D).

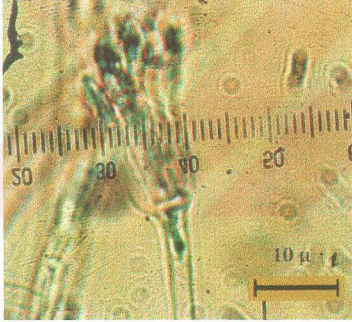
Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 3-4 cm, kenarlarda düzgün, tüm koloni boyunca 1-1,5 mm yükselmiş, kenarlarda ve bazen



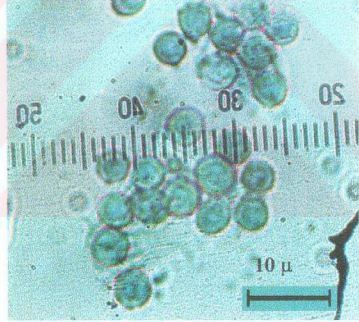
A)



B)



C)



D)

Şekil 4.2.37 *Penicillium decumbens* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Konidiofor ve penisilli D) Konidia

merkeze de uzanan radial çizgiler mevcuttur. Sporulasyon orta kısımlarda yoğunur. Yaşlanma ile grimsi-kahverengimsi olur. Koloni alt yüzey rengi kirli sarıdır (Şekil 4.2.37 B).

4.2.38 *Penicillium duclauxi* Delacroix (1891)

Czapex Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 2,5-3 cm çapında, koloni yüzeyi sarı, önce koloni merkezinin 1 cm lik kısmında koremia oluşur. Geç sporulasyonla birlikte koloni kenarı ve koremia etrafında yeşil renk belirir. Koremia önce beyaz daha sonra yeşil gölgelidir. Koremia 1-2 mm yüksekliğe ulaşır. Koloni kenarı ile koremia arasında kalan kısım et rengindedir. Eksüda ol miktarda sarı, koyu sarı renklidir. Eksüda kurduğunda poröz bir görünüm kazanır. Koku belirgin değildir. Koloni ters yüzey rengi önce önce sarı, daha sonra portakal rengi ve kahverengiye doğru değişir (Şekil 4.2.38 A).

Penisilli simetrik bivertisillat, 70-105 µm, konidioforlar septalı, dikenli, 100-175 x 3-3,5 µm, metula 3 er adet, 7-12 x 3-3,5 µm, sterigma 5 er adet, 9-11 x 2-2,3 µm, konidia elips biçimli ve düzgün, 4-4,5 x 2,5-3,2 µm, konidial zincir 50-65 µm' dur (Şekil 4.2.38 C,D).

Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 3-4 cm çapında, kadifemsi, sporulasyonca zengin, koloni yüzey rengi nefli yeşildir. Koloni kenarları zonludur. Koku belirsiz, koloni ters yüzeyi kahvemsı sarı renklidir (Şekil 4.2.38 B).

4.2.39 *Penicillium expansum* Link (1809)

Sinonim:

Coremium glaucum Link

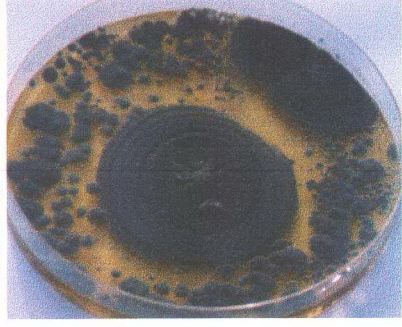
Floccaria glauca Link

Penicillium glaucum Link

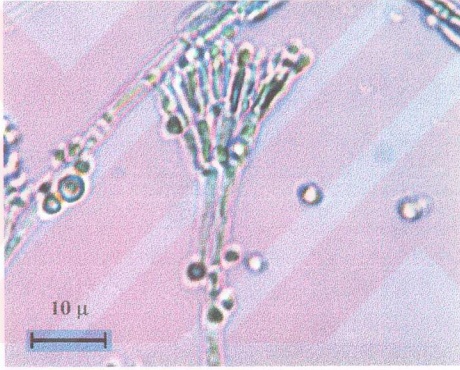
Coremium vulgare Corda



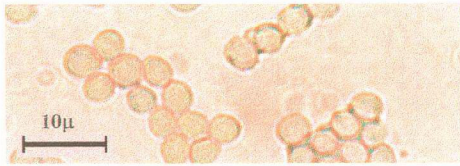
A)



B)



C)

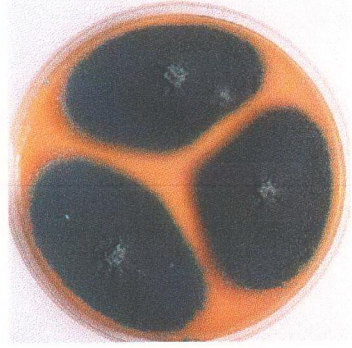


D)

Şekil 4.2.38 *Penicillium duclauxi* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Penisilli D) Konidia.



A)



B)



C)

Şekil 4.2.39 *Penicillium expansum* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Penisilli ve konidia.

Czapex Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 4-4,5 cm çapında, sporulasyonca zengin, koloni yüzeyinde konidioforların oluşturduğu demetler mevcuttur. Koloni kenarında beyaz renkli bazal miselyum yer alır. Koloni yüzeyi dış kısımlarda granüllü görünümlüdür (Şekil 4.2.39 A).

Penisilli asimetrik, fasikülat, 50-85 µm, konidiofor dikenli 250-300 x 3,5-4 µm, bazılarında 4-4,5 µm eninde ölçülmüştür, dal 1 adet, 22-30 x 2,5-3,5 µm, metula 3-5 adet, 12-16 x 2,5-3 µm, sterigma 3-6 adet, 7-10 x 2-2,5 µm konidia globoz veya elips biçiminde, 3-3,5 µm, spor zinciri 120-160 µm'dur (Şekil 4.2.39 C).

Malt Extract Agar'da 25° C de iki haftalık koloniler 5-5,5 cm ince, düz, granüllü hafif zonat ve merkezde koremia mevcuttur. Bazal miselyum beyaz renktedir (Şekil 4.2.39 B).

4.2.40 *Penicillium fagi* Martinez ve Ramirez (1978)

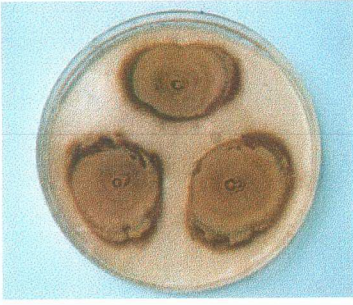
Czapex Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 4-4,5 cm çapında, beyaz renkte bazal miselyum içerir, kadifemsi, sarımsı yeşil tonlarında, sporulasyonca yoğun, yüzeyde konidiofor ağları fark edilir. Koloni altı krem renktedir. Koku ve eksüda yoktur (Şekil 4.2.40 A).

Penisilli bivertisillat simetrik, konidiofor 100-130 x 3,5-4 µm, pürüzlü, dal 1-2 adet, 25-38 x 3,5-3,8 µm, pürüzlü, metula 3-5 adet, 9-14 x 3,5-4 µm, uçlarda genişlemiş ve pürüzlü, sterigma her bir metula vertisilinde 5-10 adet, 7-9 x 2,5-3 µm, konidia globoz 2-2,5 µm'dur (Şekil 4.2.40 C).

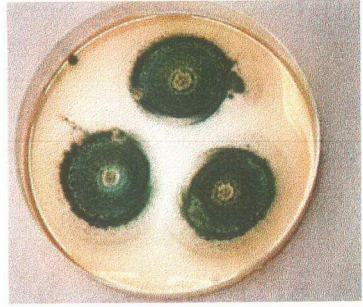
Malt Extract Agar'da 25° C de iki haftalık koloniler, 5-6 cm çapında, düz, kadifemsi yeşil renkte, koloni altı sarımsı krem renktedir (Şekil 4.2.40 B).

4.2.41 *Penicillium funiculosum* Thom (1910)

Czapex Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 4,5-5,5 cm çapında, funikuloz, sıkı bir bazal miselyum mevcuttur. Koloni yüzeyi 2-3 mm yüksekliğinde, sporulasyon koloni kenarı ile sınırlı, koloni merkezinde 0,5 cm çapında bir yükselme mevcut, merkez beyaz, sporulasyon bölgesine kadar olan kısım et renginde, sporulasyon bölgesi yeşil-gri renklidir. Koloni kenarında saçaklanmalar



A)

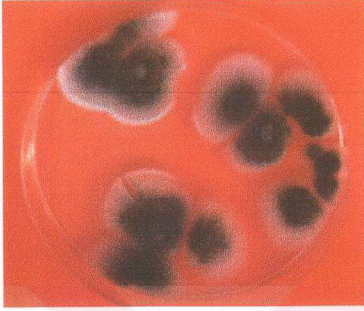


B)



C)

Şekil 4.2.40 *Penicillium fagi* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Penisilli ve konidia.



A)



B)



C)



D)

Şekil 4.2.41 *Penicillium funiculosum* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C ve D) Penisilli ve Konidia.

mevcuttur. Ters yüzey rengi kirli sarımsı, merkeze kadar daha koyu, merkezde siyah renklidir. Koku ve eksüda bulunmaz (Şekil 4.2.41 A).

Penisilli 35-50 μm , bivertisillat, simetrik, konidioforlar 150-250 x 3-3,5 μm , düzgün, metula 3-5 adet, 10-15 x 2 μm , sterigma 5-7 adet, 6-8 x 1,5-2 μm , konidia 2,5-3 μm yuvarlak, düzgün, konidium zinciri 40-120 μm uzunluğundadır (Şekil 4.2.41 C,D).

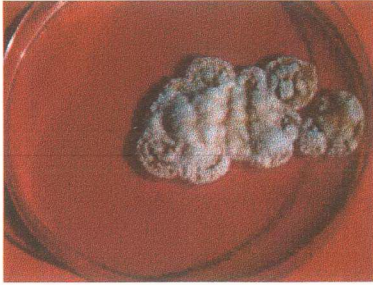
Malt Extract Agar'da 25° C de iki haftalık koloniler, 6,5-7 cm çapında, gri-yeşil renkli, sporulasyonca zengin koloni kenarları saçaklanmış kenarlarda kesikli ince bir zon mevcuttur. Koloni yüzeyi düzgün, çok ince ipliksi yapılar vardır. Koku ve eksüda yoktur. Koloni alt yüzeyi kirli sarı renklidir (Şekil 4.2.41 B).

4.2.42 *Penicillium granulatum* Bainier (1905)

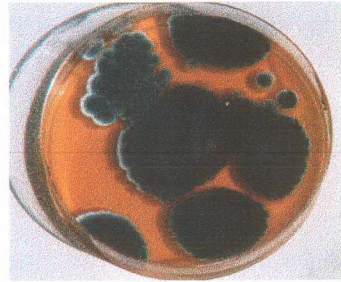
Czapex Dox Agar'da 25° C deki iki hafta inkübe edilen koloniler genç iken krem-sarı daha sonra kirli sarı renkte, yün yumağı görünümünde, koloni kenarı girintili çıkıntılı, yüzeyi kabarık, dalgalı, eksüda açık veya koyu sarı renkte, çok sayıda küçük damlacıklar şeklinde veya bazen birikmiş iri damlacıklar halindedir. Belirgin coremiform demetler vardır. Kokusu hoş, ters yüzey rengi gençlerde açık krem sarı, olgunlarda portakal kahverengidir. Koloni kenarlarında giderek yeşillenme görülür (Şekil 4.2.42 A).

Penisilli 40-60 μm , asimetriktir. Bir veya daha fazla dal mevcuttur. Konidioforlar 100-400 x 3-3,5 μm , konidiofor, metula ve dallar dikenlidir. Dalları 15-25 x 3-3,5 μm , metula her dalda 3 tane, 8-12 x 2,5-3 μm , sterigma her metulada 3 tane, 10-12 x 3-4 μm , conidia 3-3,5 μm , yuvarlak, düzgün duvarlıdır (Şekil 4.2.42 C,D).

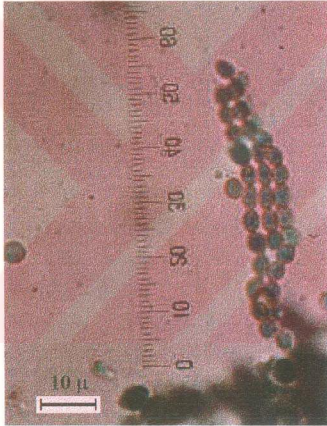
Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 4-4,5 cm, yüzeyi hafif granüler, fasikülat, küf kokulu, en dışta şeffaf beyazımsı bir zona sahiptir (Şekil 4.2.42 B).



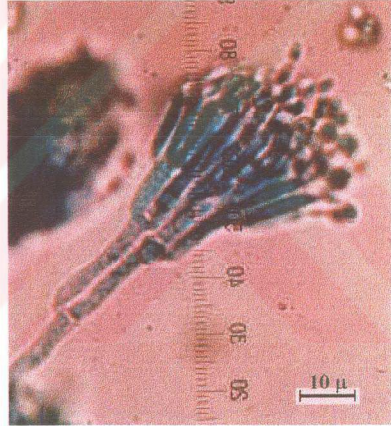
A



B)



C)



D)

Şekil 4.2.42 *Penicillium granulatum* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Kondia zinciri D) Penisilli

4.2.43 *Penicillium islandicum* Sopp (1912)

Czapex Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 2,5 cm çapında, genç evrede merkezde küçük alan sporulasyon içermez, kenarlarda ince, düzensiz bir şerit halinde koyu yeşil sporulasyon gözlenir. Olgun everede tüm koloni yüzeyi koyu yeşil sporlarla kaplıdır. Kenarlarda 1-2 mm genişliğinde, düzensiz ince bir sarı renkli bazal miselyum mevcuttur. Koloni ters yüzeyi merkezde koyu kırmızı-kahverengi, orta kısım ve kenarlarda kırmızı renklidir. Koku küfsü, eksüda ince truncu renklidir. Agarda truncu renkli pigmentasyon mevcuttur (Şekil 4.2.43A).

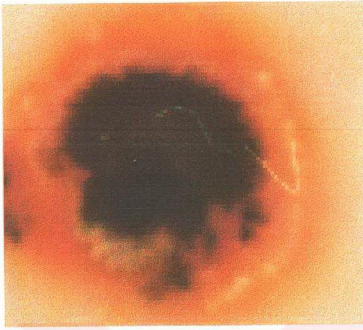
Penicilli bivertisillat simetrik, konidiofor 180-200 x 2,5-3 µm, metula 4-6 adet, 8-11 x 2-2,5 µm, sterigma her metulada 4-5 adet, 8-10 x 2-2,4 µm, konidia elips şekilli, düzgün 3-3,5 x 2-2,5 µm, konidia zinciri 50-80 µm'dir mevcuttur (Şekil 4.2.43C).

Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 2,5-3 cm çapında koyu yeşil, koloni merkezi kabarık, kenarlar düzensiz, üzeri pütürlü, koloni tersi truncu-kırmızı renktedir. Koloniler iki haftadan sonra da büyümeye devam eder. Truncu renkli miselyum mevcuttur. Agarda pigmentasyon oluşturur. Koku ve eksüda bulunmaz (Şekil 4.2.43B).

4.2.44 *Penicillium janthinellum* Biourge (1923)

Czapex Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 5-6 cm çapında, bazal miselyum sarı-portakal renkli, koloniler kadifemsi merkezde kabarık, merkezden orta kısma doğru kısa katlanmalar mevcuttur. Sporulasyon orta derecede düzensiz, merkezde ve orta kısımda daha yoğun, koloni alt yüzey rengi sarı-turuncu veya sarı-trucu-yeşilimsidir. Eksüda bulunmaz kokusu küf kokusunu andırır (Şekil 4.2.44 A).

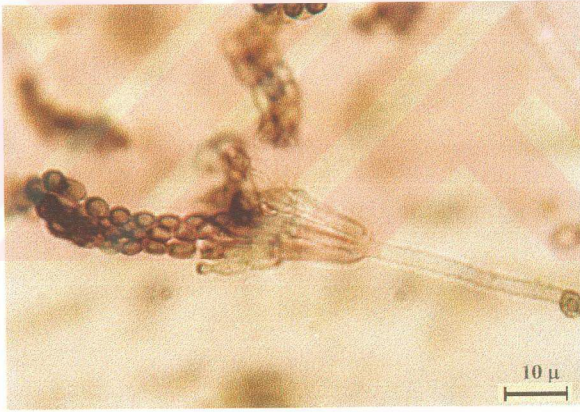
Penisilli asimetrik, divarikat, konidioforlar 150-400 x 3-3,5 µm, dikenli bazende pürüzlü görünümde, dallar 10-45 x 2,5-3 µm, dikenli, metula 10-22 x 3 µm, sterigmata 7-10 x 2-2,5 µm, konidia elips veya globoz, çok ince pürüzlü 3-3,5 µm'dur (Şekil 4.2.44 C).



A

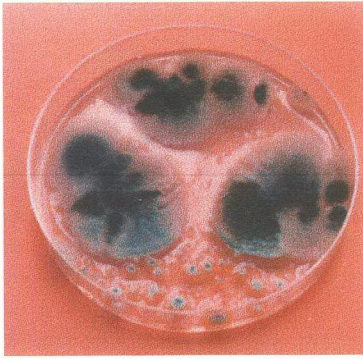


B)



C)

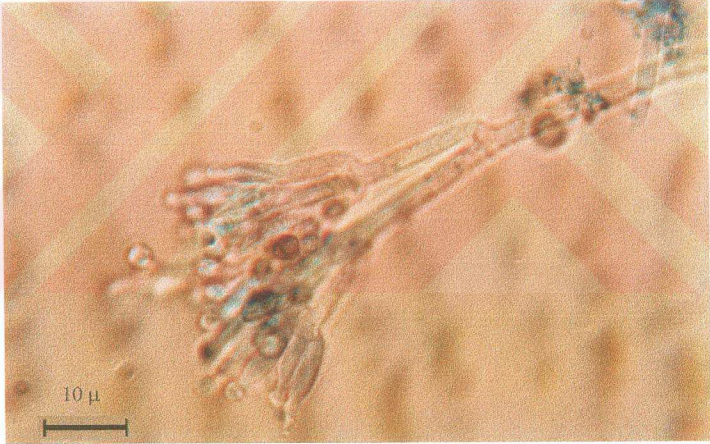
Şekil 4.2.43 *Penicillium islandicum* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Penisilli ve konidia.



A)



B)



C)

Şekil 4.2.44 *Penicillium janthinellum* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Penisilli ve konidia.

Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 3-4 cm çapında kadifemsi, granüllü, düz, merkezde kabarmış, ince katlanmalar yer alır, eksüda küçük renksiz damlacıklar halindedir. Kokusu küfü andırır. Ters yüzey rengi koyu sarı-kahverengidir (Şekil 4.2.44 B).

4.2.45 *Penicillium lanoso-griseum* Thom (1930)

Czapex Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 3 cm çapındadır. Koloni kenarlarında 1-2 mm genişliğinde büyüme zonu yer alır. Koloni yüzeyi yünüsü, yeşil-gri renkli, gevşek dokulu, 1-2 mm yüksekliğinde lanoz bir yapıdadır. Eksüda renksiz damlacıklar halinde, kokusu hafif, koloni ters yüzeyi renksizdir (Şekil 4.2.45 A).

Penisilli asimetrik, 30-50 x 3-3,8 µm, dikenli, dallar bir veya daha fazla, 15-25 x 3-3,5 µm, dikenli, metula 14-18 x 3-3,5 µm, sterigma 8-10 x 2,5-3 µm, konidia elips şeklinde, 3-3,5µm, düzgündür (Şekil 4.2.45 C).

Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 4-5 cm çapında, zonat sporulasyonca zengin, grimsi-yeşil renkte, konidioforlar 1-2 mm yüksekliğinde, koloni ters yüzeyi donuk sarımsıdır. Eksüda yok, koku hafiftir (Şekil 4.2.45 B).

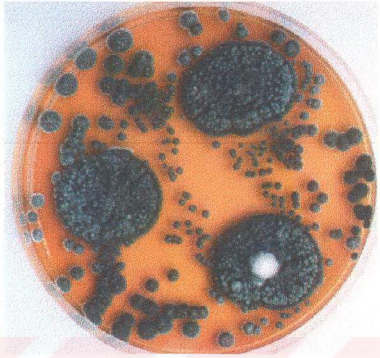
4.2.46 *Penicillium martensii* Biourge (1930)

Czapex Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 3-4 cm çapında, dışta 2-3 mm genişliğinde kenarları düzensiz bir büyüme zonu mevcuttur. Koloni dış kenarı mavimsi-yeşil renkli, merkez kısmı kabarık, üzerinde fasiküller mevcuttur. Eksüda az, sarı renkli, olgunlaşma ile orta kısım grimsi-yeşile dönüşür. Kokusu hafif, küfümsü, Koloni ters yüzeyi önce sarımsı sonra ceviz rengindedir (Şekil 4.2.46 A).

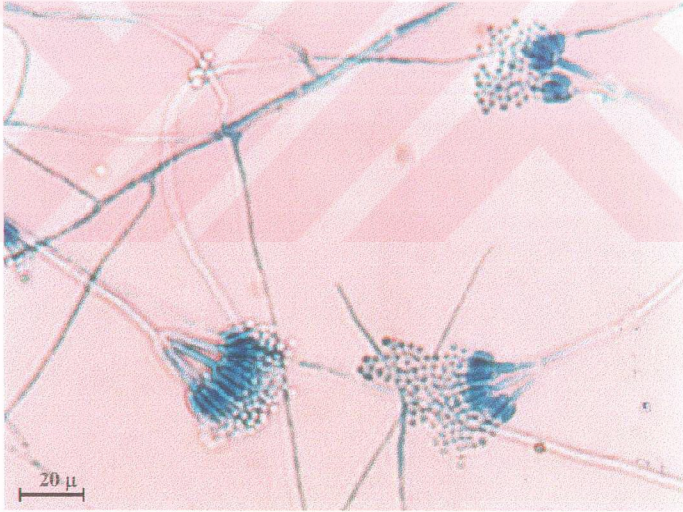
Penisilli asimetrik, bivertisillat, 200-250 µm, konidiofor septalı, dikenli, 175-250 x 3,5-4 µm, dal bir adet, 18-22 x 3,5-4 µm, metula 10-13 x 3 µm, dikenli, sterigma 3'er adet, 8-13 x 2-2,2 µm, sporun olduğu uçta daralıyor, konidia globoz, düzgün, 4 µm, konidia zinciri 75-170 µm'dur (Şekil 4.2.46 C,D).



A)



B)



C)

Şekil 4.2.45 *Penicillium lanoso-griseum* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Penisilli ve konidia.



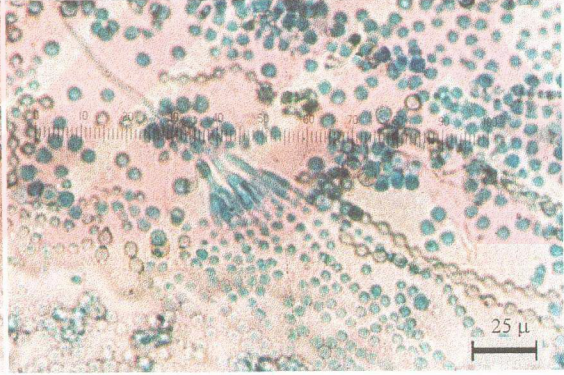
A)



B)



C)



D)

Şekil 4.2.46 *Penicillium martensii* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Konidia zinciri ve pürüzlü konidiofor D) Penisilli ve konidia.

Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 2-2,5 cm düz, kadifemsi, merkezinde demetler mevcuttur. Koloni kenarlarında farklılıklar vardır. Eksüda yoktur. Kokusu küf okusunu andırır. Koloni ters yüzeyi turuncukahverengidir (Şekil 4.2.46 B).

4.2.47 *Penicillium melanigrum* Biourge (1923)

Czapex Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 5 cm çapında, koloni yüzeyi sarı-yeşil renkte, merkezde az, orta kısımda ve kenarlarda yoğun sporulasyon, koloni yüzeyi kadifemsi, düz, kenarlarda beyaz renkte 0,5 cm genişliğinde bazal miselyum görülür. Merkezin bir cm dışından çevreye yayılan ışınal çizgiler mevcuttur. Koloni kenarları ince, düzgün, eksüda rensiz, bol koku hafif, meyvemsi, koloni ters yüzeyi koyu sarı renktedir (Şekil 4.2.47 A).

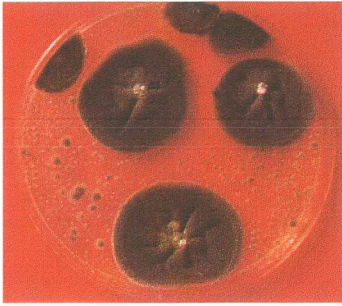
Penisilli asimetrik, konidiyoforlar 180-200 x 2,5-2,8 µm, dal 1-2 adet, 15-28 x 2,5-3 µm, metula dallar üzerinde 3-4 adet, 10-12 x 2-2,5 µm, sterigmata her metula üzerinde 5-7 adet, 6-8,5 x 2-2,2 µm, konidia elips şekilli 3-3,5 x 2,8-3 µm, düzgün, açık yeşil renkte, konidia zinciri 100-150 µm uzunluğundadır (Şekil 4.2.47 C).

Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 6 cm çapında, düz, kadifemsi, koloni ters yüzeyi koyu sarı renktedir (Şekil 4.2.47 B).

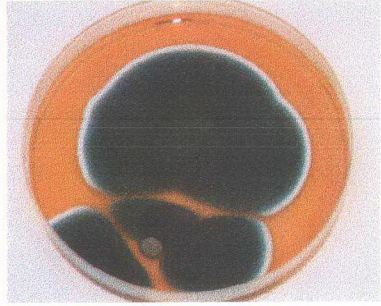
4.2.48 *Penicillium notatum* Westling (1923)

Czapex Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 3-3,5 cm çapında, kenarlarda beyaz renkte 2-2,5 mm genişliğinde beyaz, sıkı bir bazal miselyum mevcuttur. Koloni azonat, renk dıştan içe doğru mavimsi-yeşilden koyu yeşil tonlarında, derin yarıklar mevcuttur. Koloni teker görünümünde merkezde 1 cm çapındaki alanda eksüda küçük damlacıklar halinde görülür. Koku belirgin değildir. Sarı renkli pigmentasyon mevcuttur (Şekil 4.2.48 A).

Konidiofor 300-400 µm' a kadar uzunlukta, 2-2,5 µm çapında, düzgün duvarlı, dal 1 adet, 20-24 x 3-3,5 µm, metula 3 adet, 12-15 x 2,5-3 µm, sterigma 4-5 adet, 8-10 x 2-2,5 µm, konidia 3-3,5 µm globoz, düzgün duvarlı ancak 4-5 µm çapında olanlarda mevcuttur (Şekil 4.2.48 C).



A)

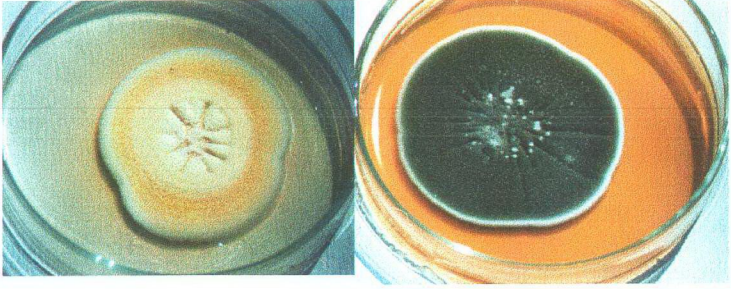


B)



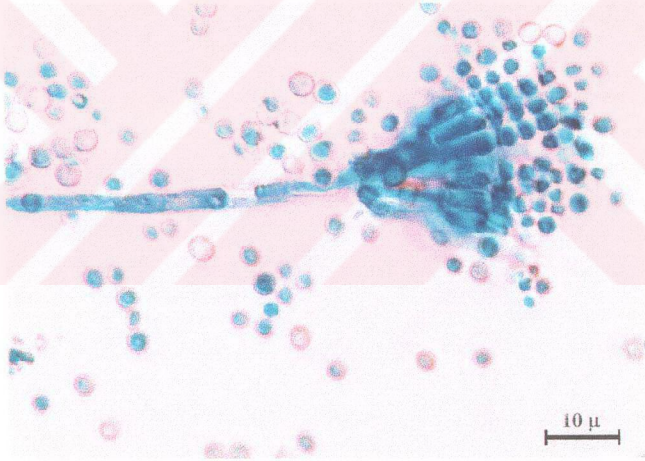
C)

Şekil 4.2.47 *Penicillium melanigrum* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Penisilli ve konidia.



A)

B)



C)

Şekil 4.2.48 *Penicillium notatum* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Penisilli ve konidia.

Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 5-5,5 cm çapında düz ve kadifemsidir. Eksüda yok, koku belirsizdir. Koloni ters yüzeyi turuncu kahverengidir (Şekil 4.2.48 B).

4.2.49 *Penicillium olivino-viride* Biourge (1923)

Czapex Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 3-3,5 cm çapında, 1-2 mm genişliğinde krem-kahverengi büyüme zonu mevcuttur. Koloniler kadifemsi görünümde olmakla beraber koloni kenarlarında ve merkezde konidiofor demetleri mevcuttur. Koloni rengi beyazdan sarımsı-yeşil, sarı-kahve ve yeşil tonlarına kayar. Yüzeyde hafifçe radial çizgilenme vardır. Koloni altı koyu sarıdan vişnemsî kahverengi tonlarına kayıyor. Kokusu kuvvetli, toprak kokusunu andırır. Eksüda bulunmaz (Şekil 4.2.48 A).

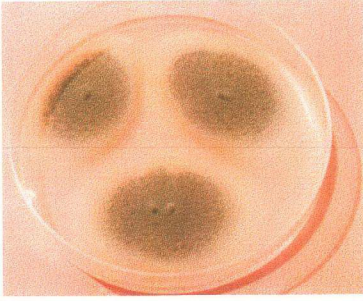
Konidiofrolar 150-180 x 3,5-4 µm, septalı, çok ince dikenli, penisilli, 80-100 µm, asimetric, dal 1-2 adet, düzensiz dallanmış, 20-40 x 3-3,5 µm, metula 2-4 adet, 9-15 x 3-3,5 µm, sterigma 3-5 adet, 9-11 x 2,5-3 µm, konidia, globoz veya subgloboz, 3-3,5 µm, üzeri ince pürüzlüdür (Şekil 4.2.48 C).

Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 3,5-4,5 cm çapında, 2 mm genişliğinde beyaz renkte büyüme zonu mevcuttur. Koloni yüzeyi mavimsi-yeşil, kadifemsi, hafifçe zonattır. Koloni ters yüzeyi koyu kayısı renginde, konidioforlar dikenlidir. Kokusu elma kokusunu andırır (Şekil 4.2.48 B).

4.2.50 *Penicillium oxalicum* Currie ve Thom (1915)

Czapex Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 4-4,5 cm çapında, düz, kadifemsi, koloni kenarları düzgün, çok hafif zonat, koloni yüzeyi kenarlarda mavimsi yeşil tonunda, merkezde ve orta kısımlarda yağ yeşili tonundadır. Sporulasyonca zengin, büyüme zonu 1-2 mm , genişliğinde, şeffaf, eksüda yok ve koku belirgin değildir. Koloni ters yüzeyi renksizdir (Şekil 4.2.50 A).

Penisilli, asimetric, bivertisillat, konidioforlar 100-15-x 3,5-4 µm, düzgün duvarlı, dallar 10-15 x 3,5-4 µm, metula 2-4 adet, 15-18 x 3-3,5 µm, sterigmata 6-8 adet, 10-15 x 3-3,5 µm, konidia elips şeklinde 4,5-6 x 3-3,5 µm'dur (Şekil 4.2.50 C,D).



A)



B)

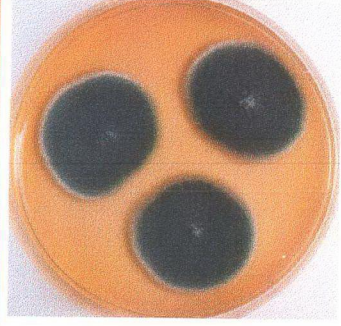


C)

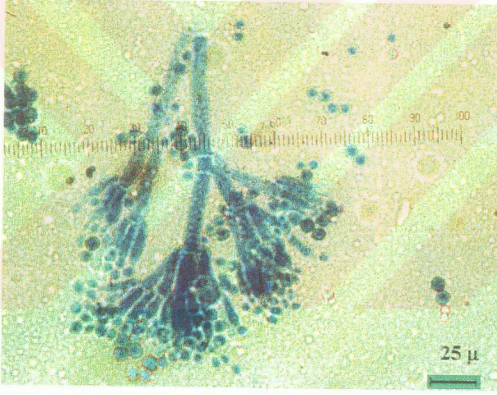
Şekil 4.2.49 *Penicillium olivino-viridae* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Penisilli ve konidia.



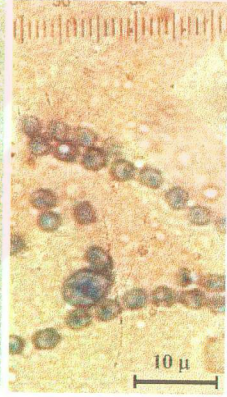
A)



B)



C)



D)

Şekil 4.2.50 *Penicillium oxalicum* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Penisilli ve konidia.

Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 4,5-5 cm çapında, sporulasyonca zengin ve ışınsal çizgiler içerir (Şekil 4.2.50 B).

4.2.51 *Penicillium palitans* Westling (1930)

Czapex Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 3-4 cm çapında önce açık yeşil daha sonra koyulaşır ve grimsi-kirli-yeşil bir renk alır. Koloni yüzeyi sporulasyon bakımından çok zengindir, granüllü bir görünümü vardır. Merkezde hafifçe yükselmiş, hafif zonat ve ışınsal çizgiler içerir. Küf kokulu ve eksüdalıdır. Eksüda koyu sarı renktedir. Koloni alt yüzeyi ise kirli-sarı-kahverengi arasındadır (Şekil 4.2.51 A).

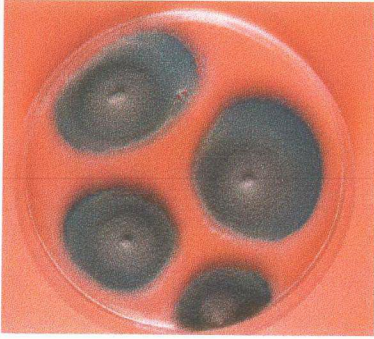
Penisilli asimetrik, konidiofor yüzeyi pürüzlüdür. Konidioforlar 120-150 x 3,5-4 µm ebadında dal 1 veya 2 adet, 18-22 x 3,2-3,8 µm, metula 3-4 adet, 12-14 x 3 µm, sterigma 4-6 adet, 8-10 x 2,5-3 µm, konidia genç evrede elips şekilli, olgun evrede subgloboz, 3,5-4,5 µm hatta 5 µm ye kadar ölçülmüştür (Şekil 4.2.51 C).

Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 4-4,5 cm çapında, sporulasyonca zengin, düzdür. Koloni ters yüzeyi sarımsı kahverengidir (Şekil 4.2.51 B).

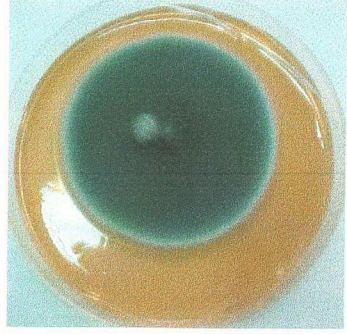
4.2.52 *Penicillium puberulum* Bainier (1907)

Czapex Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 3-4 cm çapında, önce beyaz daha sonra ortada mavi-yeşil renkte, kadifemsi sporulasyon bölgesi oluşur. Daha sonra merkez kısmı 2 cm çapında zeytin yeşili-gri renk alır. Merkezi kısmında küçük bir umbo mevcuttur. Koloni yüzeyi azonat, sporulasyonca zengin, olgunlaşma ile hafifçe zonat hale gelir. Koloni kenarında 1 mm genişliğinde beyaz renkte büyüme şeridi gözlenir. Koloni ters yüzeyi sarımsıdır. Eksüda bulunmaz, kokusu küfümsüdür (Şekil 4.2.52 A).

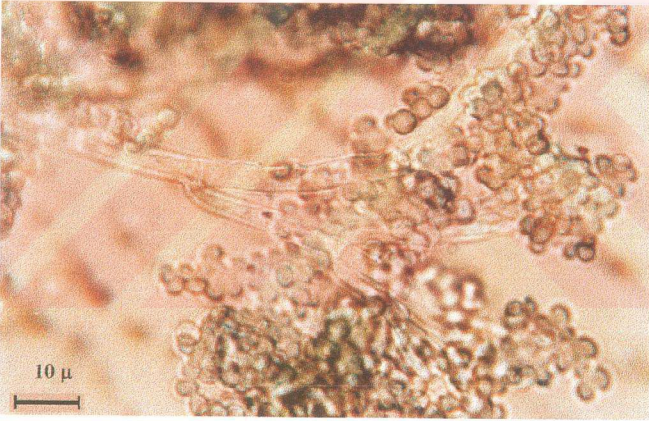
Penisilli asimetrik, 60-80 µm, konidioforlar 150-220 x 3,5-4 µm, dikenli, dal 1 adet, 12-20 µm x 2,5-3 µm ebadında dikenli, penisilli, asimetriktir. Metula 2-4 adet, 9-14 x 2,5-3 µm, sterigma 3-5 adet, 7-10 x 2-3 µm dir. Konidia globoz veya subgloboz, düzgün duvarlı 3-3.5 µm dir (Şekil 4.2.52 C).



A)

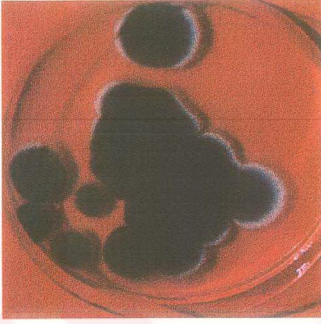


B)



C)

Şekil 4.2.51 *Penicillium palitans* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Penisilli ve konidia.



A)



B)



C)

Şekil 4.2.52 *Penicillium puberulum* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Penicilli ve konidia.



A)

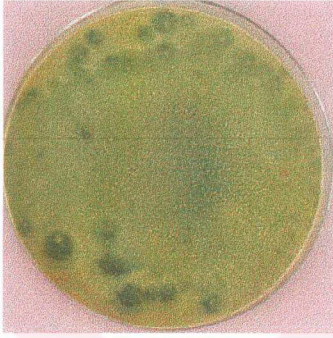


B)

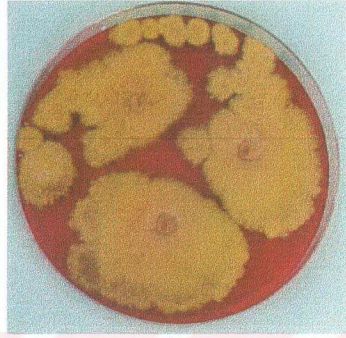


C)

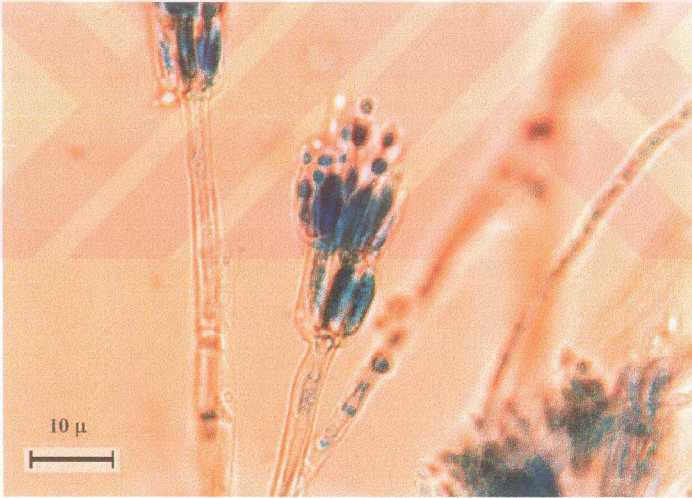
Şekil 4.2.53 *Penicillium roseo-purpureum* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Penisilli ve konidia.



A)



B)



C)

Şekil 4.2.54 *Penicillium rubrum* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Penisilli ve konidia.

Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 5,5 cm çapında, mavi-yeşil koloni kenarlarında ışınal katlanmalar içerir. Koloni merkezi hafifçe kabarık, sporulasyonca zengindir (Şekil 4.2.52 B).

4.2.53 *Penicillium roseo-purpureum* Dierckx (1901)

Czapex Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 1,5-2,5 cm çapındadır. Kenarlar yükselmiş ve girinti, çıkıntılar mevcuttur. Orta kısım daha çukurdur. Merkezde yükselme ve düzensiz katlanmalar mevcuttur. Sporulasyon kenarlarda yoğun ve açık grimsi-yeşil renktedir. Orta kısımlar daha çok et rengi veya soluk pembemsi renktedir. Merkezde sporulasyon hafif ve grimsi beyaz renktedir. Koloni alt yüzey rengi pembemsi-portakal renklidir. Eksüda yok ve koku belirsizdir (Şekil 4.2.53 A).

Penisilli monoverisillat, konidioforlar granüllü, 35-45 x 2-2,5 µm, sterigmata, 3-6 adet, 4-6 x 1,5-2µm, konidia, globoz, 2,5-3 µm veya 3 x 2-2,5 µm subgloboz, konidia zinciri 70-85 µm'dur (Şekil 4.2.53 C).

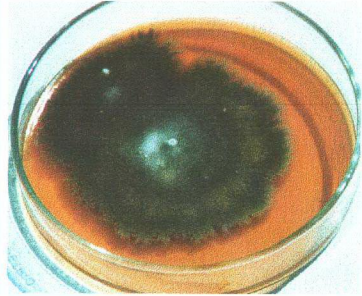
Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 2-2,5 cm çapında, açık-greemsi yeşil renkte, koloni ters yüzeyi portakal-kahverengidir. Eksüda ve koku bulunmaz (Şekil 4.2.53 B).

4.2.54 *Penicillium rubrum* Stoll (1904)

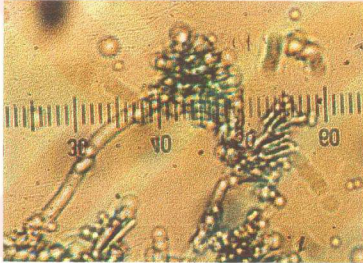
Czapex Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 1,5-2 cm, sınırlı, çok ince düz, kadifemsi, sporulasyon zayıftır. Genç evrede koloni rengi merkezin dışında beyaz ince ve tüylümsü görünümde, merkezi açık yeşil koloniler daha sonra kırmızı renk alırmerkez küçük yeşil bir nokta halindedir. Eksüda çok ince, koku belirgin değildir. Koloni alt yüzey rengi kan kırmızısıdır (Şekil 4.2.54 A).



A)



B)

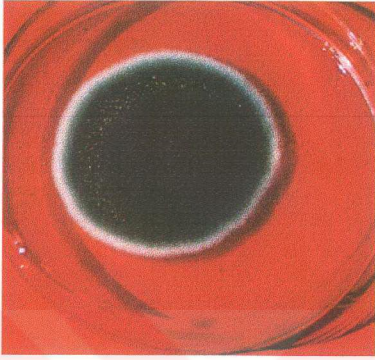


C)

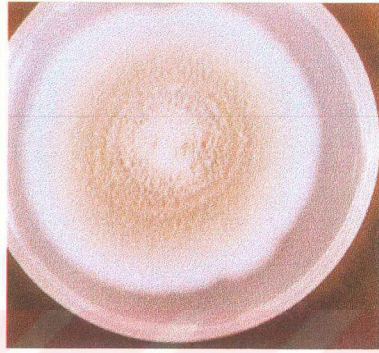


D)

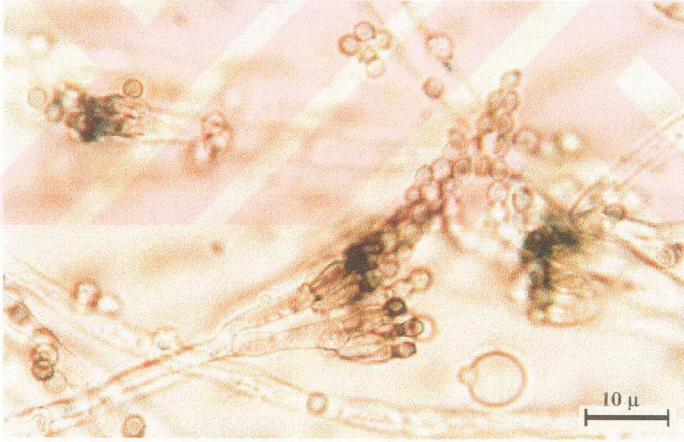
Şekil 4.2.55 *Penicillium rugulosum* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Penisilli ve konidia.



A)



B)



C)

Şekil 4.2.56 *Penicillium solitum* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Penisilli, konidia ve konidia zinciri.

Penisilli simetrik, bivertisillat, konidioforlar düzgün duvarlı bazen yer yer granüllü, açık yeşil veya kırmızımsı renktedir. 150-180 x 2,5-3,2 µm, metula 5-8 adet, 8-10 x 2-2,5 µm ebadında, sterigma 4-6 adet, 8-10 x 2-2,5 µm ebadında, konidia elips biçimli, düzgün yüzeyli, 3-3,5 x 2-3 µm ebadında, hatta 4-4,5 x 3 µm ebadında gözlenmiştir. Konidia zinciri 30-50 µm'dir (Şekil 4.2.54 C).

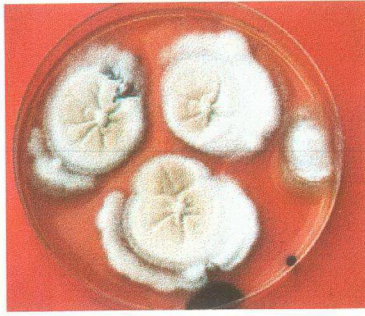
Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 6-8 cm çapında, kadifemsi düz ve ince, fıstık yeşili renkte, dışta daha koyu bir zon görülür. Koloni yüzeyi granüllü, merkezde radial katlanmalar mevcuttur. Koloni kenarlarında lanozdur. Çözülebilir pigment nedeniyle koloni kenarları kan kırmızısı renkte, koloni altı ise siyahımsı kahverengidir. Bu özellik bekleme süresi arttığında daha iyi gözlenmiştir (Şekil 4.2.54 B).

4.2.55 *Penicillium rugulosum* Thom (1910)

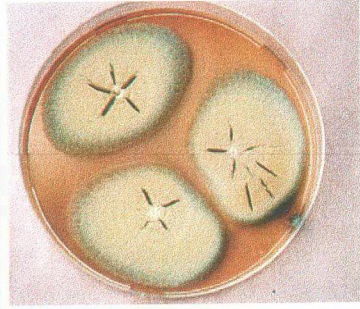
Czapex Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 1-1,5 cm çapında, batık miselyum et renginde, koloni kenarları dantelimsi, girintili çıkıntılı, merkezi kısım hafifçe yükselmiş, konidial yapı sarımsı-yeşil renkte, eksüda yok, koku belirsiz, koloni ters yüzeyi leylak tonundadır (Şekil 4.2.55 A).

Konidioforlar 45-90 x 2,5-3 µm, düzgün, bazıları dikenli yapıda, bivertisillat ve simetrik, metula 3-5 adet, 8-12 x 2,5-3 µm, sterigmata 5-7 adet, 8-10 x 2-2,5 µm, konidia globoz, 2,5-3 µm veya subgloboz 2,5-3 x 2 µm, konidia zinciri 50 µm dur (Şekil 4.2.55 C,D).

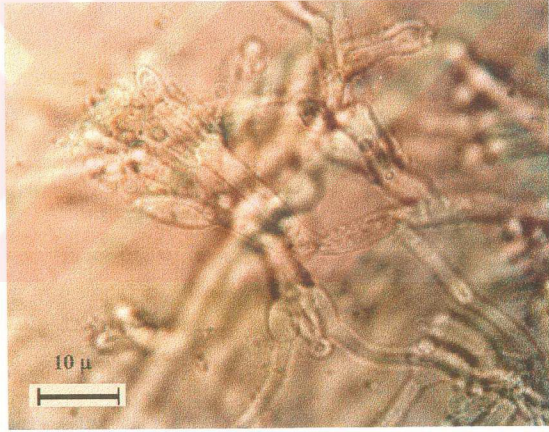
Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 2-2,5 cm çapında, merkezi hafif kabarık, leylak yeşili renginde, sporulasyonca zengin, koloni kenarlarından orta kısma kadar olan mesafede radial kıvrımlar gözlenir (Şekil 4.2.55 B).



A)



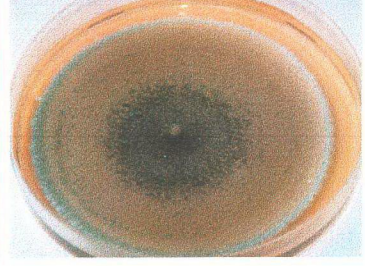
B)



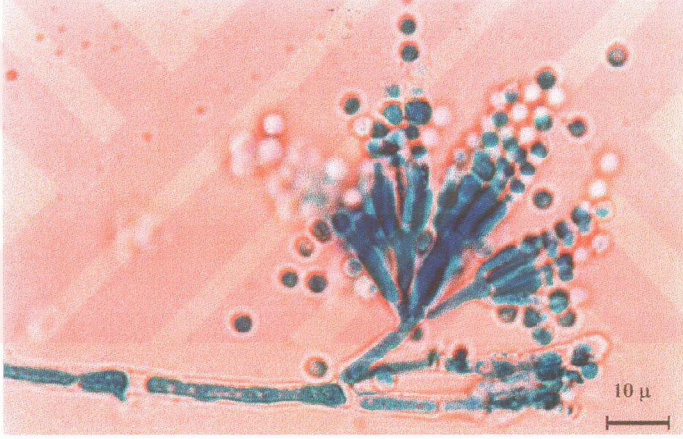
Şekil 4.2.57 *Penicillium spp.* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Penisilli ve konidia.



A)



B)



C)

Şekil 4.2.58 *Penicillium stoloniferum* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Penisilli ve konidia.

4.2.56 *Penicillium solitum* Westling (1911)

Czapex Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 5,5-6 cm (tek koloni ekimlerinde 8 cm) çapındadır. Sık dokulu kalın bir bazal miselyum vardır. Koloni yüzeyi yünüksü, funikulat, mavi-yeşil renkli, yaşlı koloniler ham keten rengi ile zeytuni arasındadır. Koloni kenarında hafif bir zon gözlenir. Koloni dış kenarı beyaz renklidir. Eksuda yoktur. Koku belirgin değildir. Koloni ters yüzeyi rensiz veya koloninin yansıyan rengini ve büklümünü veren bir koyuluk taşır (Şekil 4.2.56 A).

Penisilli 45-50 µm dur. Konidioforlar düzgün duvarlı, 320-380 x 3-3,4 µm dur. Dallar 12-18 x 2,5-3 µm metula her dalda 3-4 adet olup, 8-13 x 2,5-3 µm dur. Sterigma, her metulada 6-9 adet olup, 10-12 x 1,5-2 µm dur. Konidia elips şeklinde, düzgün duvarlı ve 3,5-4,5 x 3-3,5 µm dur (Şekil 4.2.56 C).

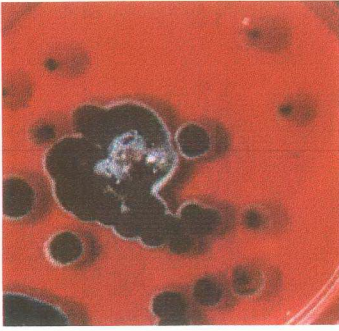
Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 4,5 5 cm dir. Sporulasyon çok yoğundur. Funikuloz yapıdadır. Renkler ve diğer özellikler aynıdır (Şekil 4.2.56 B).

4.2.57 *Penicillium soppii* Zaleski (1927)

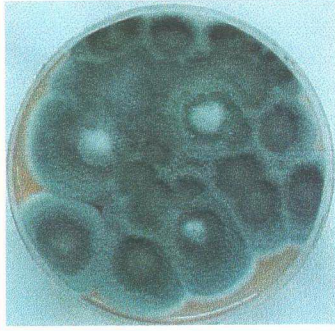
Czapex Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 3-3,5 cm çapında krem renkli, kadifemsi, merkezde kabarık demetler var, orta kısımlar kabarık ve katlanmalar mevcut, kenarlarda incedir. Sporulasyon geç ve açık zeytin yeşili renginde ortaya çıkar. Koloni tersi kirli sarı-pembe renkte. Eksüda yok denecek kadar az, koku yok (Şekil 4.2.57 A).

Penicilli asimetrik, divarikat, konidiofor koloni merkezinde 1 mm kadar yükselmekte 2,5-3 µm eninde, metula 3-5 adet, 8-16 x 2,6-3 µm, bazı metulalar konidiofor üzerinde monoverisillat yapılar gibi görünmektedir, 9-13 x 2,5-3 µm, sterigma 4-6 adet, 7-8,5 x 2,2-2,6 µm, düzgün, konidia globoz, subgloboz 2,5-3 µm, düzgündür (Şekil 4.2.57 C).

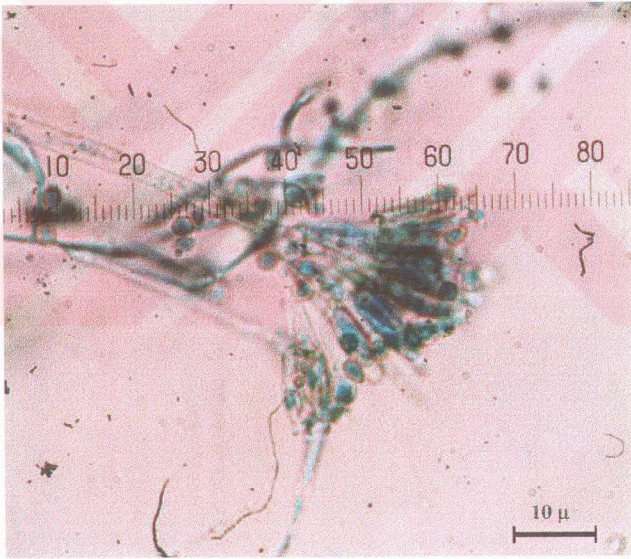
Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 5-5,5 cm çapında, Czapex Dox Agar'da ki koloni görünümüne benzer görünümde dir. Koloni



A)



B)

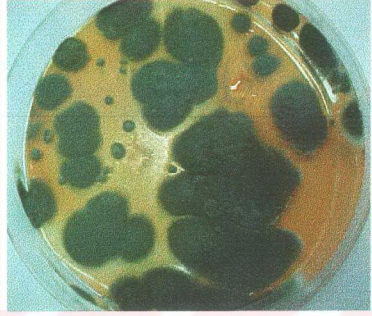


C)

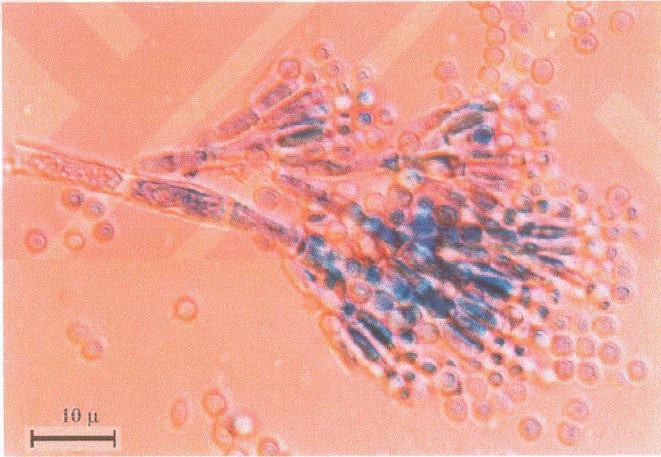
Şekil 4.2.59 *Penicillium tardum* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Penisilli ve konidia.



A)



B)



C)

Şekil 4.2.60 *Penicillium variable* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Penisilli ve konidia.

ters yüzeyi kirli sarıdan koyu-siyahımsı sarıya doğru değişmektedir. Koloni altı ışınal, kenarlarda ve merkezde daha koyudur (Şekil 4.2.57 B).

4.2.58 *Penicillium stoloniferum* Thom (1910)

Czapex Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 2,5 cm çapında kenarlarda çok ince mavi sporulasyon bölgesi, iç kısımlarda gri-yeşilimsi tonunda kadifemsi, alt yüzeyi kirli-sarı, eksüda küçük ve büyük damlacıklar halinde koyu sarı renkli, koku belirgin değil, koloni kenarlarında stolonlar mevcuttur. Koloni kenarları ince, orta kısımları hafifçe yükselmiştir (Şekil 4.2.58A).

Penisilli 650-600 µm, asimetrik, valutina, dal, 1 adet, 25-30 x 3-4 (Şekil 4.2.55 B).metula 3-5 adet, 8-11 x 3,5 µm, sterigma 5-8 adet, 7-8 x 2,5-3 µm, konidiofor 150-200 x 3,5-4 µm, konidium 2,5-3 µm, genç iken elips daha sonra yuvarlak, konidi zinciri 300-400 µm dur (Şekil 4.2.58 C).

Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 3,5-4 cm çapında, dışta 1-2 mm genişliğinde renksiz batık miselyum var, koloniler gri-yeşil renkli, zonat, ince, eksüda koku yok, koloni ters yüzeyi koloni yüzeyi ile aynı renktedir (Şekil 4.2.58 B).

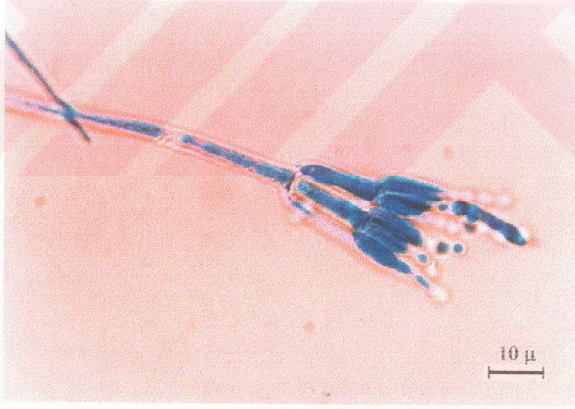
4.2.59 *Penicillium tardum* Thom (1930)

Czapex Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 2,5-3 cm çapında önce beyaz daha sonra sarımsı-grimsi-yeşil renktedir. Koloni kenarlarında 2 mm genişliğinde batık miselyum bulunur. Koloniler çok ince, bazal miselyum sarı renkte, düz, sporulasyon sınırlı, koku belirgin değil, eksüda çok ince ve renksizdir. koloni ters yüzeyi açık sarı renkli, merkezde kahverengimsidir (Şekil 4.2.59 A).

Penisilli bivertisillat, simetrik, 30-35 µm, konidioforlar 100-120 x 2,5-3 µm, düzgün, metula 3-5 adet, 8-11 x 2,5-3 µm, sterigma bir vertisilde 6-8 adet, 12-14 x 1,5-2 µm, konidia elips veya subgloboz, 3-3,5 x 2,5 µm, . düzgün, soluk yeşil renkte, hatta 5-6,5 x 3-3,5 µm, ebadında elips olanları mevcuttur (Şekil 4.2.59 C).

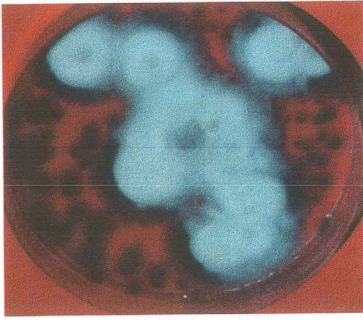


A)



B)

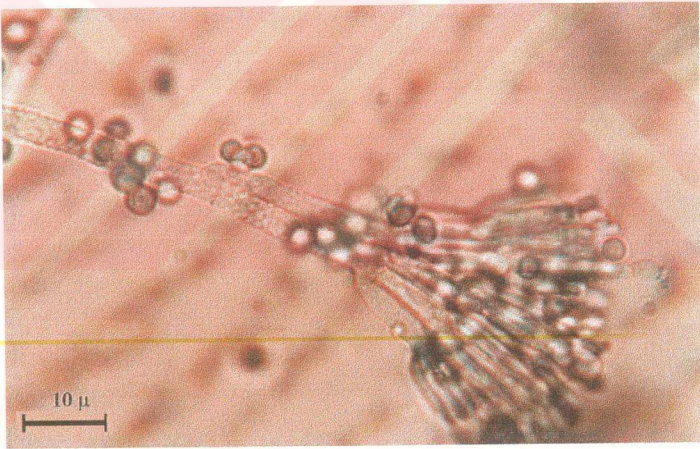
Şekil 4.2.61 *Penicillium varians* A) Czapek-Dox Agar'da B) Penisilli ve Konidia.



A)



B)



C)

Şekil 4.2.62 *Penicillium viridicatum* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Penisilli ve konidia.

Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 3-3,5 cm çapında flokkoz, 1,5-2 mm yüksekliğinde, konidial alanlar mavimsi-yeşil renktedir. Koloni ters yüzeyi kirlili sarı-portakal renktedir (Şekil 4.2.59 B).

4.2.60 *Penicillium variabile* Sopp (1933)

Czapex Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 2,5-2,8 cm çapında, kadifemsi veya hafif granüllü, kenarlarda ince 1-2 mm batık yeşilimsi-sarı miselyum gözlenir. Koloni rengi dıştan içe doğru nefsi yeşil veya soluk zeytin yeşili, merkezde geniş krem rengi steril alanlar ve hafif radial dallanmalar mevcuttur. Bazı kolonilerde merkezde beyaz renkli demetler mevcuttur. Küf kokuludur ve eksüda bulunmaz. Koloni ters yüzey rengi krem sarı renktedir (Şekil 4.2.60 A).

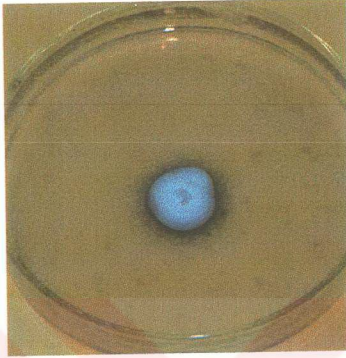
Konidioforlar bivertisillat simetrik, 100-275 x 2,5-2,8 µm, düzgün duvarlı, metula 4-7 adet, 14-17 x 2,5-3 µm, sterigma 5-7 adet, 7-9 x 2-2,5 µm konidia 3-3,5 x 2-2,5 µm, düzgün duvarlı, elips şekillidir (Şekil 4.2.60 C).

Malt Extract Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 2 cm çapında, kenarları düzgün, sporulasyonca zengin, mavi-yeşil renkli, kenarlarda 1 mm genişliğinde beyaz büyüme zonu, onun da dışında batık miselyum bulunur. Eksüda kirlili sarırenkte, kuruduğu yerde iz bırakır. Koloni yüzeyi kaba görünümlü, hafifçe kabarıklık, koku belirgin değil, tersi turuncu kahverenkli (Şekil 4.2.60 B).

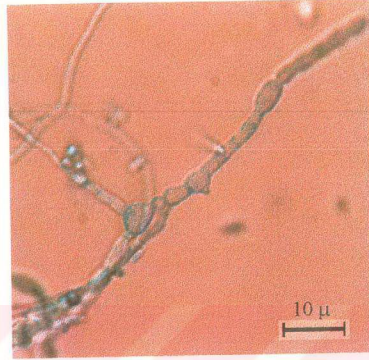
4.2.61 *Penicillium varians* Smith (1933)

Czapex Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 2-3 cm çapında, zonat, düzgün, parlak, kadifemsi, koloni yüzeyi iğne ile dokunulduğunda kolayca kalkar. Sporulasyon orta düzeyde, soluk, grimsi-yeşil, kokusu küfümsü, eksüda yok, koloni ters yüzeyi yeşilimsi-sarı renktedir (Şekil 4.2.61 A).

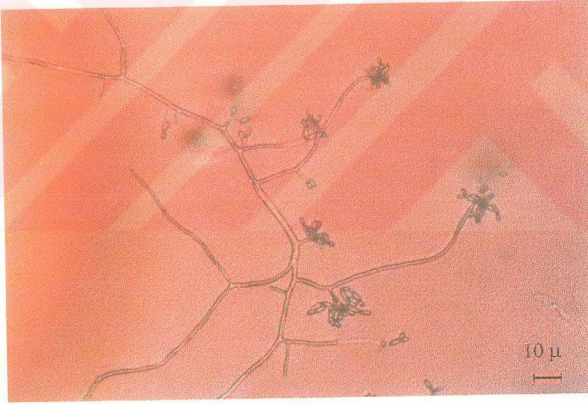
Penisilli bivertisillat simetrik, Konidiofor, metula ve sterigmalarda yeşilimsi ton hakimdir. konidioforlar düzgün veya hafif pürüzlü, 35-45 x 3-4 µm., konidiofordan çıkan septalı hücre uzantıları gözlemlendi. Metula, 2-3 adet, 10-12 x 2,5-3,5 µm, sterigma, 3-5 adet, 9-11 x 1,5-2 µm, lanseolat, konidia, 2,5-3 x 2µm, oval, konidia zinciri uzun, 150-180 µm' dir (Şekil 4.2.61 B).



A)

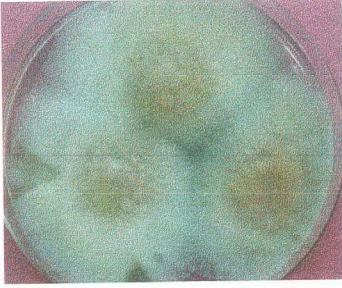


B)

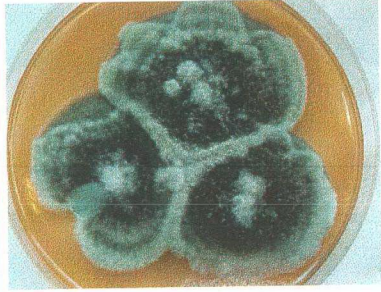


C)

Şekil 4.2.63 *Acremonium tubakii* A) Czapek-Dox Agar'da B) Zincir şeklindeki klamidosporlar C) Konidioforlar ve konidia



A)



B)



C)

Şekil 4.2.64 *Alternaria alternata* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da koloni görünümü C) Makrokonidia, mikro konidia ve konidioforlar

Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 5-6 cm çapında, 1 mm ye kadar yükselen flokkoz yapıdadır. Czapek Agarda olduğu gibi grimsi-yeşil renktedir. Eksüda ve koku belirsizdir. Koloni alt yüzeyi sarı-portakal renklidir. Koloninin olgunlaşması ile daha da koyulaşır, Kahverengimsi bir renk alır.

4.2.62 *Penicillium viridicatum* Thom (1911)

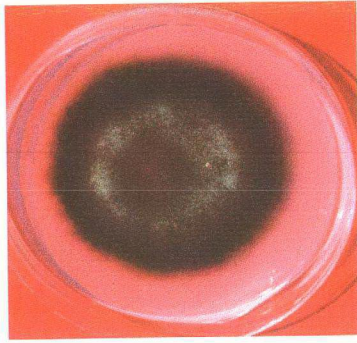
Czapex Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler 2,5-3 cm çapında, azonat, koloni kenarında krem-sarımsı renkte bir bazal miselyum yer alır. Koloni yüzeyi kadifemsi olup merkeze doğru granular yapı gözlenir. Merkezi kısmı demetle halindedir. Sporulasyon kenarlarda kısımda ve orta kısımda yoğundur. Konidial gelişmenin yoğun olduğu bölgeler koyu-sarımsı-yeşilimsi renktedir. Yaşlanma ile birlikte renk koyulaşır. Eksüda yoktur. Koku çok belirgin değildir. Koloni ters yüzeyi rensizden sarı renge doğru bir gelişme gösterir (Şekil 4.2.62 A).

Penisilli 50-65 µm, asimetrik, konidiforlar 250-400 x 3-4 µm, yüzeyi dikenli, dal 2 adet, 20-30 x 3,5-4 µm, metula 3-5 adet, 12-14 x 2,5-3 µm, düzgün, metulalarda sterigmaların çıktığı üst kısmında 5-6 µm' a varan genişlemeler gözlenir. Sterigma herbir metula üzerinde 5-7 adet 7-8 x 2 µm, konidia 2,5-3 x 3-4 µm subgloboz veya 3,5-4 x 3 µm elips şeklinde, hava kabarcığı içinde yapılan gözlemlerde konidia yüzeyi kaba olarak gözlenmiştir (Şekil 4.2.62 C).

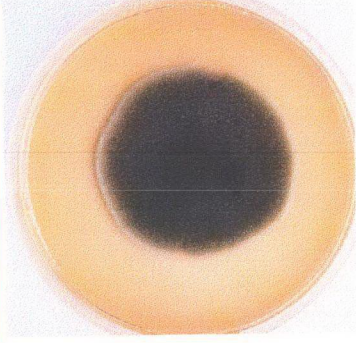
Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 4-4,5 cm çapında, koloni kenarında 2-3 mm genişliğinde beyaz renkli bazal miselyum gözlenir. Koloniler kadifemsi, az çok zonat, kenarlarda ve merkezde demetler mevcuttur. Koku ve eksüda yoktur. Koloni alt yüzeyi sarımsı renklidir (Şekil 4.2.62 B).

4.2.63 *Acromonium tubakii* Gams (1971)

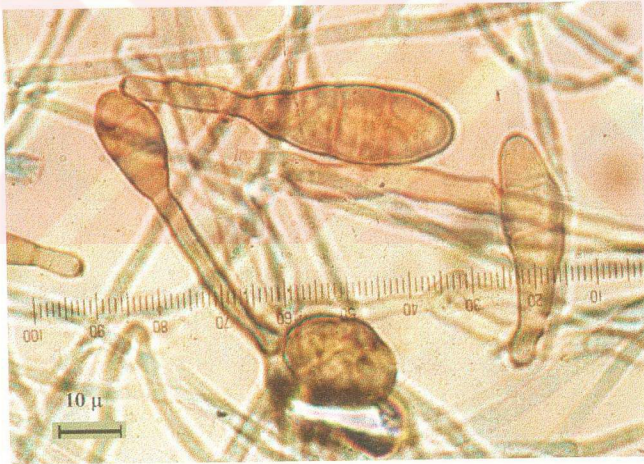
Czapex Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler, 1-1,5 cm çapında, beyaz, granüllü, kenarlarda ince, hafif zonat, merkezde 0.5 cm çapında küçük bir umbo mevcuttur. Koloni tersi Czapek-Dox Agarda mavimsi mor pigmentlidir ancak Malt-Extract Agar'da tümüyle beyaz kalmakta, hiçbir kararma görülmemektedir (Şekil 4.2.63 A).



A)



B)



C)

Şekil 4.2.65 *Alternata pleuroseptata* A) Czapek-Dox Agardaki görünümü B) Malt Ekstrakt Agar'daki görünümü ve C) Makrokonidia,

Konidiofor şeffaf, septasız, dikensiz, 25-85 µm uzunluğunda, konidiler silindirik, 3-4,5 x 1-1,5 µm' dir (Şekil 4.2.63 B,C).

Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 1,5-2 cm çapında, kenarlarda ince, beyaz renkli, kireç görünümünde, koloni yüzeyi merkezde düzensiz hafif kabarklıklar içerir. Orta kısımdan dış kısma doğru radyal yarıklar mevcuttur. Koloni tersi renksizdir.

4.2.64 *Alternaria alternata* (Fr) Keissler (1912)

Sinonim:

Alternata tenuis Nees 1816

Torula alternata Fr. 1832

Macrosporium tomato Cooke 1883

Telemorflar: *Clathrospora dipşospora* (Ellis ve Everth. 1894) Wehm. 1954

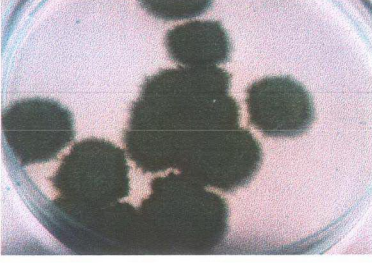
Clathrospora elynae Rabenh. 1854

Leptosphaera heterospora (de Not. 1863) Niessl 1972

Czapex Dox Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 7 cm, genç evrede miselyum pembe, olgunlaştığında koloni merkezinde 1 cm lik bir alan dışında, kirlili sarı ve zeytin yeşilinden oluşmuş zonlar görülür. Koloni yüzeyi yünümü, ortada 1-2 mm yükselmiş, kenarlarda incedir. Koloni ters yüzeyi merkezde siyah kenarlarda pembemsidir (Şekil 4.2.64 A).

Konidioforlar 40-45 x 3-5,5 µm, konidia uzun, ovoid, veya elipsoid, gaga kısa veya silindirik, konidiaların üçte biri kadardır. Konidialar altın sarısı ve verrukulozdur. Çoğunlukla enine, bazılarında boyuna olmak üzere 4-7 bölmeli, 15-60 x 8-14 µm dur (Şekil 4.2.64 C).

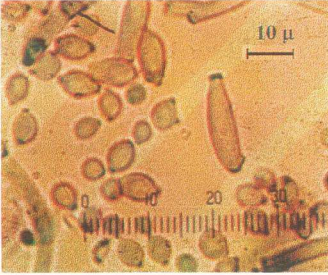
Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 5,5 cm koyu yeşilimsi-siyah renkte, kadifemsi, kenarlarda 1-2 mm genişliğinde beyaz bir zon



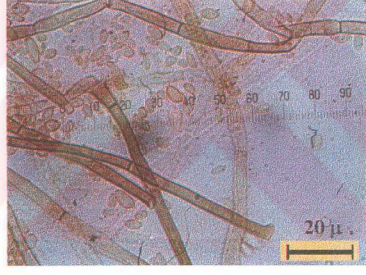
A)



B)

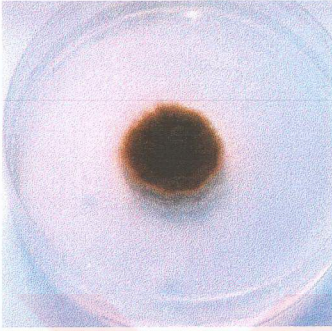


C)

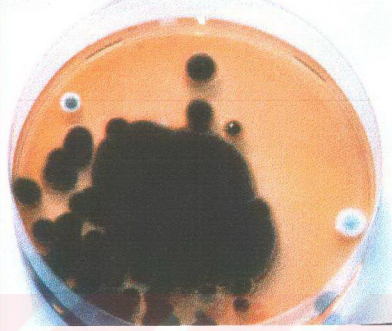


D)

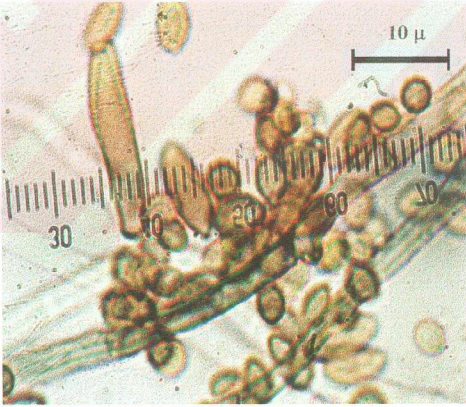
Şekil 4.2.66 *Cladosporium cladosporioides* A)Czapek-Dox Agar’da B) Malt Extract Agar’da C) Konidia D) Konidiofor ve konidia



A)



B)



C)

Şekil 4.2.67 *Cladosporium herbarium* A) Czapek-Dox Agar'da B) Malt Extract Agar'da C) Konidiofor, makro ve mikro konidia

bulunur. Koloni ters yüzeyi kahverengi-siyah, merkezde siyah, yer yer siyah çizgiler mevcuttur. Koku belirgin değildir (Şekil 4.2.64 B).

4.2.65 *Alternaria pluriseptata* (Karst.veHar.)Jorstad

Czapex Dox Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 4,5-5 cm çapında, kenarda 1-2 mm batık miselyum, en dışta zeytin yeşili 1-2 mm inceliğinde bir zon, orta kısım, krem-açık kahverengi, merkezi kısmı kahverengi ve 0,5 cm çapında, 5 mm yükselmiş, koloni altı aynı renklerde, merkezi siyah renktedir (Şekil 4.2.65 A).

Konidiumlar gagalı, 3-7 bölmeli, orta kısım altın sarısı gaga haric 30-65 µm uzunluğunda, 12-15 µm genişliğinde, gaga 12-22 x 3-3,5 µm, konidiofor yüzeyi dikenli, 20-30 x 3-4 µm dur (Şekil 4.2.65 C).

Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 4-4,5 cm çapında koyu yeşil, üzeri eksüdalı, koloni kenarı 2-3 mm genişliğinde beyaz renkli, daha sonra yeşile dönen bir bazal miselyum vardır. Koloni altı kirli sarı-kahverengi, kırmızimsı kahverengidir (Şekil 4.2.65 B).

4.2.66 *Cladosporium cladosporioides* (Fres.) de Viries (1952)

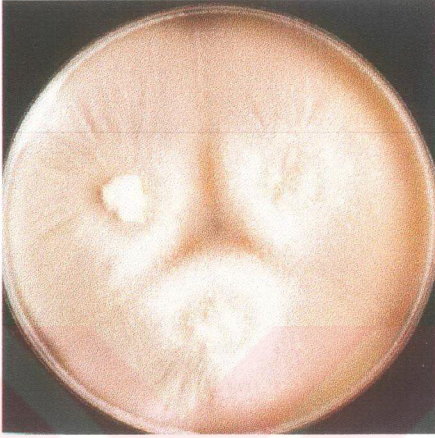
Czapex Dox Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 2,5-3 cm çapında kenarları düzensiz, ince, koyu yeşil, renk kenarşeridinde daha koyu, koloni altı yeşilimsi siyahtır. Eksüda ve koku bulunmaz (Şekil 4.2.66 A).

Ramikonidia 17-20 x 3,5-4µm, şişman konidia 4,5-9 x 4-4,5µm, düzgün çepirli, konidiofor eni: 4µm, konidioforlar dalı bölmesizdir (Şekil 4.2.66 C,D).

Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler 4-5,5 cm çapında, koyu yeşil renkte, koloni alt yüzey rengi yeşilimsi-siyahtır (Şekil 4.2.66 B).

4.2.67 *Cladosporium herbarium* (Pers) Link ex S.F. Gray (1821)

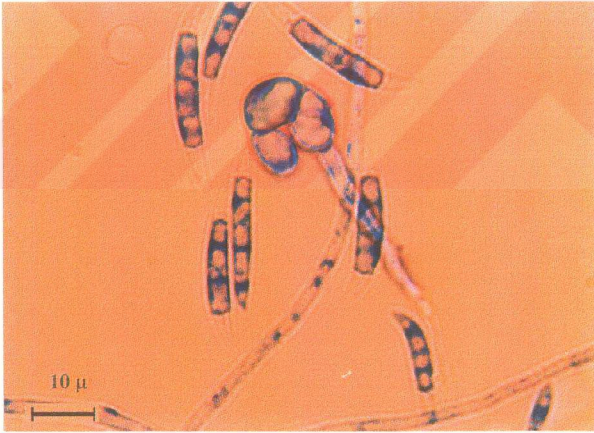
Czapex Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler, 1-1,5 cm çapında, zeytin yeşili, kadifemsi, kenarlarda ince, büyüme zonu 1-2 mm, önce beyaz



A)

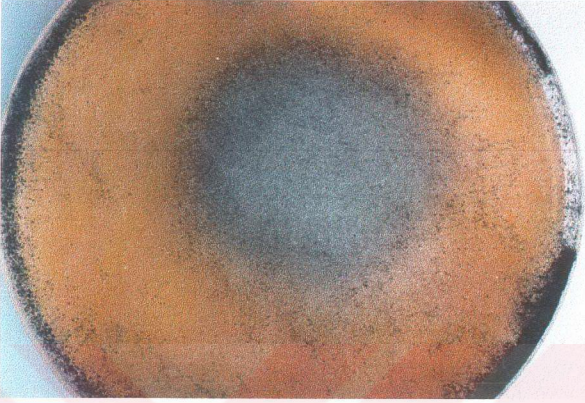


B)

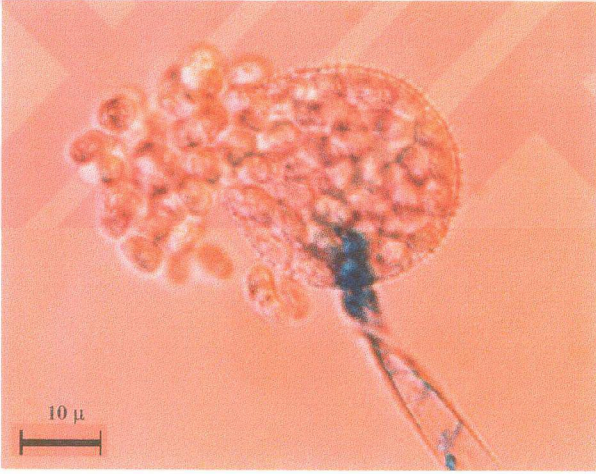


C)

Şekil 4.2.68 *Fusarium javanicum* A) Malt Extract Agar'da koloni B) Terminal klamidosporlar C) Makrokonidia ve klamidosporlar

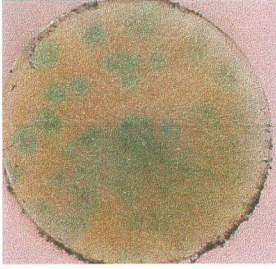


A)

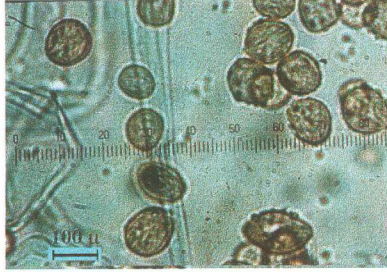


B)

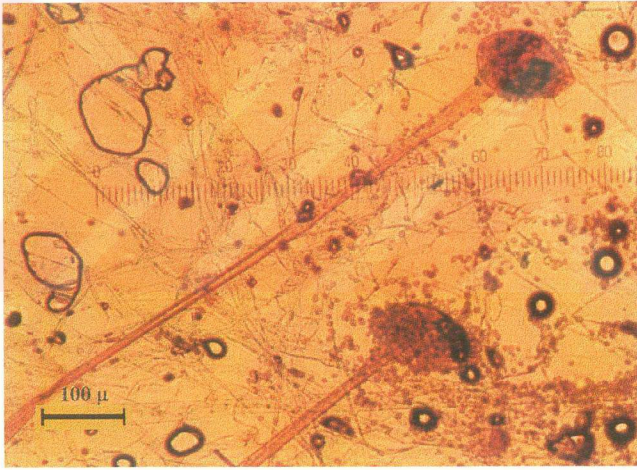
Şekil 4.2.69 *Mucor circinelloides* f. *circinelloides* A) Malt agarda koloni
B) Sporangiofor, sporangia ve sporangiosporlar



A)



B)



C)

Şekil 4.2.70 *Rhizopus stolonifer* var. *stolonifer* A) Malt Extract Agar'da koloni görünümü B) Sporangiosporlar C) Sporangiofor ve sporangia.

sonra krem renkte, koloni ters yüzeyi yeşil renktedir. Dışta krem renkli bazal miselyum görülür (Şekil 4.2.67 A).

Konidioforlar düz, üzeri siğilli, 200-250 x 3-5 µm, interkalar oluşuklukler 7-8,5 µm çapında, ramokonidia 22-35 x 2,5-3 µm, şişman konidia 5-8 x 3-4,5µm ebadında, genellikle bölmesiz, bazen 1 bölmeli, çok ince dikenlidir. Konidiofor septalı 2,5-3 µm enindedir (Şekil 4.2.6 C).

Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler, 3-4,5 cm çapında, koyu yeşil kadifemsi, kenarlarda ince, merkezde küçük bir umbo oluşturur. Umbodan kenarlara doğru yarıklar mevcuttur. Keskin küf kokulu, koloni tersi yeşil-siyah renktedir (Şekil 4.2.67 B).

4.2.68 *Fusarium javanicum* Koord

Czapex Dox Agar'da 25°C de iki hafta inkübe edilen koloniler tüm koloni yüzeyini kaplayan beyaz pamuksu bir miselium oluşturur. Koloni alt yüzey rengi sarımsı-kremdir (Şekil 4.2.68 A).

Konidioforlar 7-15 x 2-2,5 µm, makrokonidia 45-50 x 3-3,5 µm, uçları kıvrık iğ şeklinde 3-5 hücreli, klamidosporelar 8-10 x 7,5-9 µm, clamidospor zinciri 600-800 µm'dur (Şekil 4.2.68 C).

Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler yeşil renkte, ve etrafında beyaz miselyum gözlenir (Şekil 4.2.68.B).

4.2.69 *Mucor circinelloides f. circinelloides* van Tiegh

Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler tüm petri yüzeyini kaplar, koloni yüksekliği 5 mm'den daha fazla olup gri-kahverengidir. Koloni ters yüzeyi sarımsı renktedir (Şekil 4.2.69 A).

Sporangioforlar 14-16 µm genişliğinde, tekrarlanan simpodial dallanmalar gösterir. Sporangia 80-110 µm, kahverengi, kolumella 42-50 x 37-40 µm, oval, globoz, sporangiofor 14-16 µm genişliğinde, sporangiosporlar 4-8 x 3 µm elips şekillidir (Şekil 4.2.69 B).

4.2.70 *Rhizopus stolonifer* var. *stolonifer* (Ehrenb. : Fr.) Vuill.

Malt Extract Agar'da 25° C de iki hafta inkübe edilen koloniler hızla gelişerek tüm petri yüzeyine yayılır. Miseller şeffaftır (Şekil 4.2.70 A). Konidioforun altında pigmentli iyi gelişmiş bir rizoid içerir. Stolon üzerinde sporangioforlar 1900-2650 x 10-16 µm, duvarı düzgün, içi granüllü görünümlü, sarı-kahverengi ve kolumellaya doğru hafifçe genişlemiştir. Kolumella 90-150 x 60-120 µm, grimsi-kahverengidir. Sporangium siyah, tozumsu görünümlü, 250-270 µm çapında, sporangiosporlar 7-13 x 7-11 µm, globoz, veya elipsoid, sarımsı-kahverengi, üzeri çizgilidir. Genç evrede sporangiosporlarla dolu bir sporangium mevcuttur. Olgunlaşma ile sporangiumları patlar ve kolumella basıklaşır (Şekil 4.2.70 B,C).

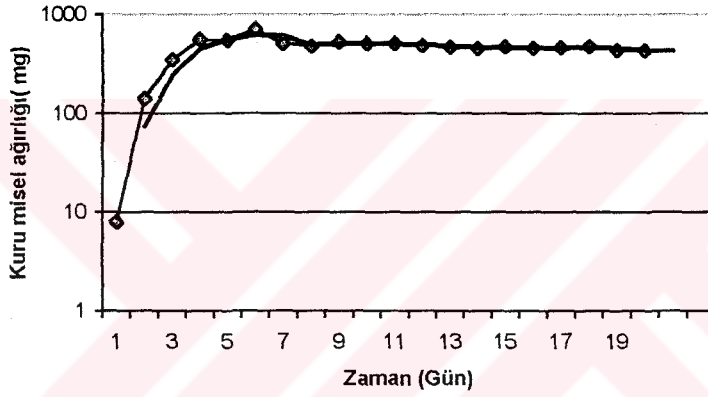
4.3 Küf Büyüme Eğrisinin Belirlenmesi

Tablo 4.3 *Aspergillus alutaceus* MUCL 39539 misel ağırlığı/zaman çizelgesi

Zaman (Gün)	Kuru Misel Ağırlığı (mg)
1.	8
2.	141
3.	350
4.	566
5.	553
6.	712
7.	514
8.	483
9.	531
10.	512
11.	511
12.	487
13.	472
14.	460
15.	475

Tablo 4.3 (devam)

16.	458
17.	468
18.	478
19.	441
20.	434



Şekil 4.3 *Aspergillus alutaceus* (MUCL 39539) Büyüme Eğrisi

4.4 HPLC ile Okratoksin-A üretiminin Belirlenmesi

4.4.1 Katı Kültürde Okratoksin Üretiminin Saptanması

Standart suşlar (*Aspergillus alutaceus* MUCL 39539 ve *Aspergillus alutaceus* MUCL 39534) ve tanıladığımız *Aspergillus ochraceus* 37-10 önce katı ortam (pirinç) kullanılarak yapılan çalışmada, iki seri olarak paralel denenmiştir. *Aspergillus alutaceus* MUCL 39539'da 0.3 ppb bizim izole edip tanıladığımız *Aspergillus ochraceus* 37-10 da 5.0 ppb OA üretimi saptanmış ancak *Aspergillus alutaceus* MUCL 39534'da Okratoksin üretimi saptanmamıştır.

Tablo 4.4.1 Katı Ortamda Okratoksin-A Üreten ve Üretmeyen Suşlar

SUŞLAR	KOD	OA(ppb)
<i>Aspergillus awamori</i>	10-8	Saptanmadı
<i>Aspergillus carbonarius</i>	4-1	2.0
<i>Aspergillus ficuum</i>	10-2	Saptanmadı
<i>Aspergillus ficuum</i>	10-4	Saptanmadı
<i>Aspergillus foetidus var. acidus</i>	46-4	Saptanmadı
<i>Aspergillus foetidus var. pallidus</i>	42/7	0.3
<i>Aspergillus foetidus var. pallidus</i>	10-7	0.2
<i>Aspergillus foetidus var. pallidus</i>	12-2	0.2
<i>Aspergillus foetidus var. pallidus</i>	18-2	0.2
<i>Aspergillus foetidus var. pallidus</i>	23-4	0.2
<i>Aspergillus foetidus var. pallidus</i>	35-1	0.2
<i>Aspergillus foetidus var. pallidus</i>	44-4	0.2
<i>Aspergillus foetidus var. pallidus</i>	51-6	0.3
<i>Aspergillus foetidus var. pallidus</i>	53-3	0.2
<i>Aspergillus heteromorphus</i>	10-1	Saptanmadı
<i>Aspergillus japonicus</i>	4/2	Saptanmadı
<i>Aspergillus japonicus</i>	15-1	Saptanmadı
<i>Aspergillus alutaceus</i>	MUCL 39539	0.3
<i>Aspergillus alutaceus</i>	MUCL 39534	Saptanmadı
<i>Aspergillus ochraceus</i>	37-10	5.0
<i>Aspergillus tubingensis</i>	31-6	Saptanmadı
<i>Penicillium commune</i>	10-3	Saptanmadı
<i>Penicillium viridicatum</i>	44-8	Saptanmadı
<i>Penicillium viridicatum</i>	52-6	0.3

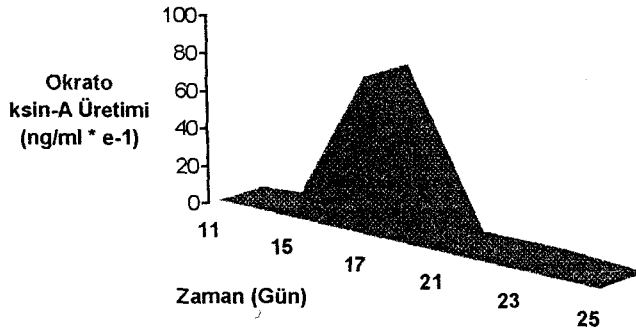
OA üretiminin diğer suşlarda denenmesine ilişkin yaptığımız çalışmada literatürde daha önce yer almayan bizim izole ettiğimiz 9 ayrı *Aspergillus foetidus* var. *pallidus* suşu ile birlikte toplam 24 suş OA üreticisi olup olmadıkları yönünden katı ortama (pirinç) aşıl原因 olarak incelenmiştir. Elde edilen OA miktarları Tablo 4.2.4.1’de görülmektedir. Ayrıca , HPLC analiz raporları, kalibrasyon tablosu ve kalibrasyon eğrisi ile birlikte EK-A ‘da yer almaktadır. görülmektedir.

4.4.2 Sıvı Kültürde Okratoksin-A Üretiminin Saptanması

Çalışmamızda izole edip tanıladığımız ve katı ortamda Okratoksin-A üreticisi olarak belirlediğimiz *Aspergillus ochraceus* 37-10 suşu ile sıvı kültürde yaptığımız zamana bağlı Okratoksin-A üretiminin belirlenmesi çalışmasının sonuçları Tablo 4.4.2 ve Şekil 4.4.2’de görülmektedir.

Tablo 4.4.2 *Aspergillus ochraceus* 37-10’un Zamana Bağlı Olarak Okratoksin-A miktarı değişimi çizelgesi

Günler	11	15	17	21	23	25
OA üretimi (ng/ml x 10 ¹)	0.0	3.73	82.7	3.54	4.23	1.67



Şekil 4.4.2 *A.ochraceus* 37-10’un Ochratoxin-A üretiminin zamana bağlı olarak değişimi

4.4.3 Ekstraksiyon Metodunun Geri Kazanım Yüzdesi (%R)

Materyal metotta bahsedildiği gibi hazırlanan örnek diğer örneklerde olduğu gibi sodyum bikarbonatla ekstraksiyon işlemine tabii tutulmuştur. OA miktarı HPLC’de 9,6 ng/ml olarak okunmuştur. Bu durumda ekstraksiyon metodunun geri kazanım yüzdesi (%R): %96 olarak bulunmuştur.

$$\%R = 9,6/10 \times 100 = 96$$

4.4.4 HPLC ile Okratoksin-A üretiminin Saptanması

Büyüme eğrisi ile saptanan stasyoner faz yaklaşık 10. günden sonra başlamaktadır. Bizim izole ettiğimiz *A. ochraceus* ile yapılan iki ayrı denemede OA üretiminin maksimuma ulaşması 17. günde olmuştur. *Aspergillus alutaceus* MUCL 39539 suşu da iki seri olarak bu çalışmayla birlikte paralel olarak denenmiştir ancak OA üretimi saptanamamıştır.

OA üretiminin diğer suşlarda denenmesine ilişkin yaptığımız çalışmada literatürde daha önce yer almayan, bizim izole ettiğimiz 9 ayrı *Aspergillus foetidus* var. *pallidus* suşu denendi. Elde edilen OA miktarları, HPLC analiz raporları, kalibrasyon tablosu ve kalibrasyon eğrisi ile birlikte EK-A ‘da yer almaktadır.

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda 11 farklı bölgedeki 23 bağa ait 20 kuru ve 38 yaş üzüm örneğinin 1 gram'ındaki küf sayısı materyal metotta belirtilen şekilde tayin edilmeye çalışılmış, genel küf florası ortaya konmuştur. Bu çalışmada yaş ve kuru üzümlerde potansiyel okratoksin-A üreticileri ortaya konmaya çalışılmış, bu nedenle küf floraları ve küf yoğunlukları tespit edilmiştir. Yeni OA üreticisi olan türler araştırılmış ve örnek olarak seçilen türlerin OA üretim süreleri ve miktarları büyüme eğrisine bağlı olarak araştırılmıştır.

Çalışmamızda tanısı yapılan 323 izolatın %55'i (178 izolat), *Aspergillus* genusuna, %29 u (92 izolat) *Penicillium* genusuna, %16'sı (53 izolat), Fungi Imperfecti 'ye aittir. Eşemli üreme devrelerine rastlanmamıştır.

Genel mikrofungus florası içinde *Aspergillus tubingensis* en sık rastlanan tür olarak (% 11,4) saptanmıştır. Bunu ikinci sırada *A. foetidus* var *pallidus* (%9,9), üçüncü sırada *Cladosporium cladosporoides* (%8,04) ve dördüncü sırada *A. aculeatus* (%6,19) ile *Cladosporium herbarum* (%6,19) takip etmektedir. Üzüm örneklerinin yaş ve kuru olma durumlarına göre bakıldığında ilk dört sırayı alan küflerin genelde her iki koşulda da bulunduğu fakat yaş üzümlerde rastlanma sıklığının daha fazla olduğu gözlenmiştir.

Çalışmamızda ortaya koyduğumuz bağların küf yükleri ile bağ özellikleri karşılaştırıldığında ortaya çıkan sonuçlar; en düşük küf yüküne sahip 11, 14 ve 31 no'lu yaş üzümlerin toplandığı bağlar ile 40, 41 ve 43 no'lu kuru üzümlerin toplandığı bağların ortak özellikleri hepsinin bakımlı, kurutmalık ve mücadele yapılıyor olmasıdır.

En yüksek küf yüküne sahip 10, 7 ve 13 nolu yaş üzüm örneklerinin toplandığı bağlar ile 35, 45 ve 47 no'lu kuru üzüm örneklerinin toplandığı bağların

ortak özelliği (Tablo 3.1.1.2'de de görüldüğü gibi) ise en düşük küf yüküne sahip bağların özelliklerini taşımaktadır. Bu bağlarda bakımlım, kurutmalık ve mücadele yağılan bağlardır. Bu bağlardaki küf yükünün yüksek çıkması toprakta var olan zengin küf florasına ilave olarak iklime bağlı faktörlerin de işe karışması, küf sporlarının yağmur, vektörler ve rüzgar vasıtasıyla taşınması olarak açıklanabilir

Farklı yönlerden alınan üzüm örneklerinin küf yükleri karşılaştırıldığında ise asmanın doğusundan alınan örneğin küf yükü ile asmanın batısından alınan arasında belirgin bir farklılık dikkati çekmektedir. Asmanın doğusundan alınan örneklerin küf yükü asmanın batısından alınanlara göre hayli yüksektir. Benzer durum asmanın kuzeyinden alınan örneklerin küf yükü ile asmanın güneyinden alınan örneklerin küf yükleri arasında gözlenmemektedir. Asmanın batısı ve güneyinde mevcut rüzgar esintileri ile nemin bir ölçüde uzaklaştırılabilmiş olabileceği ihtimali, küf yükünün azalması yönünde olumlu bir etki yapmış olabileceğini düşündürmektedir.

Asmanın tepesinden alınan örneklerin küf yükleri ile asmanın altından alınan örneklerin küf yükleri arasında da belirgin bir farklılık gözlenmemektedir. Asmanın ortasından alınan örneklerin küf yükleri de bu iki değer arasında yer almaktadır.

Çalışmamızda ortaya koyduğumuz bağların küf yükleri ile bağ özellikleri karşılaştırıldığında ortaya çarpıcı sonuçlar çıkmıştır. En yüksek küf yüküne sahip 10, 7 ve 13 nolu yaş üzüm örneklerinin toplandığı bağlar ile 35, 45 ve 47 no'lu kuru üzüm örneklerinin toplandığı bağların ortak özelliği (Tablo 3.1.1.2'de de görüldüğü gibi) mücadele yapıyor olmasıdır. Bu bağlardaki küf yükünün yüksek çıkması toprakta var olan zengin küf florasına ilave olarak iklime bağlı faktörlerin de işe karışması, küf sporlarının yağmur, vektörler ve rüzgar vasıtasıyla taşınması olarak açıklanabilir

Her ne kadar siyah *Aspergillus*'ların ciddi sağlık riski taşımadığı kabul edilse de fermentasyon endüstrisinde kullanılan fungal suşların mikotoksin üretimine büyük önem verilmesi gerekmektedir(71).

Okratoksin üreten funguslar *Penicillium* ve *Aspergillus* genuslarına ait türlerdir. Soğuk iklimlerde OA, *Penicillium* türleri tarafından oluşturulurken tropik ve subtropik alanlarda *Aspergillus*' lar tarafından oluşturulduğu bilinmektedir.(69)

Bizim çalışmamızda genel küf florası içinde *Aspergillus* genusuna ait küflerin dominant olarak *A.niger* grubuna ait (%65) olduğu görülmektedir. Bu durum çalışma alanının *A.niger* grubunun tercih ettiği için ılıman iklime ve neme olması ile açıklanabilmektedir (5).

Taksonomik çalışmamızda, bu konuda çalışan birçok araştırmacının da aynı problemle karşılaştığı, doğru taksonomik sınıflandırma yapabilmekte karşılaşılan güçlükler bizim için de sıkıntı yaratmaktadır. Bu konuda farklı otoritelerin sınıflandırmaları her zaman aynı değildir. Örneğin Raper et al. sınıflandırmasındaki *Penicillium divaricatum*'un özellikleri Samson ve ark. tarafından tanımlanan *Penicillium verrucosum* Dierckx var. *verrucosum*'a uymaktadır (97). Ayrıca bazı *Penicillium* suşlarının morfolojik özelliklerinin de her zaman sabit olmayışı bu konuda çalışan araştırmacıların çok sıklıkla karşılaştıkları problemlerdendir.

Samson ve Pitt tarafından da belirtilen isimlendirmeden ileri gelen taksonomik problemlerde tip örneğinin türü en iyi yansıtan örnek olmayışı ve isimlendirmede türe ait önceliklere yer verilmeyişi (87) burada bizim de zaman zaman karşılaştığımız bir problem olmuştur.

Bununla birlikte herhangi bir türün alt gruplarına uymayan türler de mevcuttur. Bunun nedeni bazı türlerin genetik olarak stabil olmaması olabilir. Günümüzde küfler üzerinde yapılan identifikasyon çalışmalarında yalnızca morfolojik, mikroskopik ve türlerin ürettikleri maddeler (mikotoksinler, pigmentler, enzimler gibi) kullanılmamakta aynı zamanda genetik özellikleri de araştırılmaktadır. Genlerin klonlanması ve biyokimyasal özelliklerinin araştırılması farklı *Aspergillus*'ların sınıflandırılmasına yeni kriterler getirmektedir (87).

Okratoksin-A'yı saptamak için pek çok metot kullanılabilir. Günümüzde bu amaçla en çok yüksek basınç sıvı kromatografisi (HPLC) cihazı kullanılmaktadır. Bundan başka ince tabaka kromatografisi ve enzim bağlı immuno absorpsiyon denemeleri de yapılabilmektedir. Temiz bir ekstrakt elde edilebilmesi bakımından

ürünün immunoaffinite kolon ile saflaştırılması avantajlı bir yöntemdir. Analitik çalışmalar analitik datanın bütünlüğünün korunması için önemlidir. Referans materyalinin kullanılması bu açıdan önemli rol oynamaktadır (110).

OA saptanması için pek çok metot geliştirilmiştir. Bunlar ince tabaka kromatografisi, HPLC, Gaz kromatografisi, Enzim bağlı immuno absorbent assay (ELİSA)'dır. Ekstraksiyon ve örneklerin temizlenmesi analizlerin en önemli ve en fazla zaman alan bölümünü oluşturmaktadır. Bu safhadan kaynaklanan olumsuzluklar direkt olarak sonuç üzerinde etkili olmaktadır. Matrikste kalan örneğin alınması da problemlere neden olabilmektedir. Literatürde bu konu ile ilgili pekçok yöntem bulunmakla birlikte uygulanabilir olması ve geri alım yüzdesinin yüksek olması gibi beklentileri karşılayan yöntemler oldukça sınırlıdır. Son zamanlarda geliştirilen immunoaffinite kolonları OA'nın tutulması için spesifik özellik taşımakla beraber rutin kullanımlar için henüz çok pahalıdır. Bu durum da çok sayıda analiz yapabilmeyi sınırlamaktadır. Enzim bağlı immunoabsorbent (ELİSA) çalışmaları ise pestisitler, kan ve idrar ile ilgili çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak pek çok antikorun spesifik olmaması ve çapraz reaksiyon vermesi bu metodun dezavantajlarından (111).

Büyüme eğrisi ile saptanan stasyoner faz dönemi yaklaşık 10. günden sonra başlamaktadır. Bizim izole ettiğimiz *A. ochraceus* ile yapılan iki ayrı denemede OA üretiminin maksimuma ulaşması 17. günde olmaktadır

Farklı substratlar toksin üretimini optimize etmek için kullanılmaktadır. Filtenborg ve arkadaşları toksin üretimi için Czapek Yeast Agar'ı ve YES (Yeast-Extract-Sucroz Agar) önermektedir (33). Bizim çalışmamızda kullandığımız YES Broth' ta toksin üretimi açısından oldukça iyi sonuçlar vermiştir.

Zirai ürünlerde mikotoksin problemi bütün dünya ülkeleri için ciddi bir tehlike oluşturmaktadır. Mikotoksinle kontamine olmuş gıdaların temizlenmesi için sadece fiziksel ve kimyasal değil aynı zamanda mikroorganizmaların mikotoksini parçalama yeteneği de incelenmektedir. *A.niger* türünün ince tabaka, HPLC ve immunokimyasal tekniklerle incelenmesi sonucunda Okratoksin-A'yı etkileyebilen bir organizma olduğu, katı ve sıvı ortamlardaki OA' yı parçaladığı gösterilmiştir(109).

Immunoaffinite kolonları genellikle silika, agaroz veya diğer yumuşak jeller ile hazırlanmıştır. Destek materyalinin bağlanmayı sağlamak amacıyla kolayca aktive olabilen, kimyasal ve mekaniksel olarak stabil, non-spesifik etkileşimleri önlemek amacıyla hidrofilik ve eş partikül büyüklüğüne sahip olması gerekmektedir(111).

Visconti ve arkadaşları tarafından biralarda OA saptanması amacıyla yapılan çalışmada ise ticari immuno affinite kolonlar temizleme ve HPLC ile OA saptanmasında kullanılmıştır (64). Biralarda gazı uzaklaştırıldıktan sonra polietilen glikol ve sodyum hidrojen karbonat ile dilue edilen örnekler Ochra Test immunoaffinite kolonundan geçirilerek metanol ile OA alındıktan sonra florimetrik dedektörlü ters faz HPLC ile OA saptanmıştır. Bizim çalışmamızla karşılaştığımızda her iki çalışmada kullanılan mobil faz çözeltisinde asetonitril su ve asetik asit kullanılmakla beraber farklı bileşimlerde hazırlanmıştır. Bu çalışmada da mobil fazda asetonitril : su: asetik asit (45.5:49.5:1), çalışmamızda ise (49:49:2)'dir. Bu çalışmada ekstraksiyon çözeltisi olarak NaCl ve NaHCO₃ birlikte kullanılmıştır. NaHCO₃ çalışmamızda da ekstraksiyon çözeltisi olarak kullanılmıştır. Her iki çalışmada da OA metanol ile kolondan alınmıştır.

Biancardi ve arkadaşlarının tahıllar ve hayvan yemlerinde OA saptanması üzerine yaptıkları çalışmada ise ekstraksiyon çözeltisi olarak asetonitril ve %0.2 ortofosfat kullanılmıştır (110). Yöntemimiz ile karşılaştırıldığında, mobil fazda kullanılan asetonitril: su: asetik asit (51:47:2) oranı, bizimkinden (49:49:2) az farklıdır. Her iki yöntemde de akış hızı dakikada 1 ml ve çözeltiler tamamıyla bidistile su kullanılarak hazırlanmıştır. Analizler oda sıcaklığında yapılmıştır. Bu çalışmada OA konsantrasyonu 6 konsantrasyon düzeyi kullanılarak standart eğri oluşturulmuştur. Bizim çalışmamızda ise 3 farklı OA konsantrasyonu kullanılarak (1,2,4 ppm) standart eğri oluşturulmuştur. Pik alanına dayalı kalibrasyon aralığı bu yöntemde 0.15 ng ve spike geri alımı %97 iken iken bizde 0.16 ng ve %96'dır.

Okratoksin-A belirlemek için piyasada birbirinden farklı enzim immunoassay kitleri mevcuttur. Bu kitlerde metanol ile ekstraksiyon filtrasyon ve dilusyon adımları yer almaktadır. Çözeltiler membrandan filtrelenmekte ve renklendirme yoluyla sonuçlar gözlenmektedir. Saptanan OA sınırları 4-50 µg/kg arasında değişmektedir. Ancak bu kitlerle yapılan ortak çalışmalar sonucunda karşılaşılan problemlerden bazıları; üretim hatası olarak yanlış dilusyonlu tampon

çözeltilerinin immun çözelti olarak verilmesi, cam viallerin dilusyonlar için çok küçük olması, talimat broşürlerinin karmaşık olması ve yanlış yorumlara yol açabilmesi, kitlerin hatalı pozitif ve negatif sonuçlar vermesi (bunlar kural olarak ancak %10 sınırını aşmadığı sürece yeniden değerlendirilmek üzere teste alınabilmektedirler), renk ölçümünün bazı faktörlerle değişmesi (ölçüm süresince örneğin içindeki materyalin rengi ve renk reaksiyonu meydana geldikten sonra geçen süre) farklı renk değerleri elde edilmesine neden olmaktadır (111).

Tahıllardaki Okratoksin-A'nın saptanmasında kullanılan analitik metotlar arasına temizleme basamağında C₁₈ veya Si₆₀ kullanıldığı HPLC ekstraksiyonuna dayalı metotlar ile immunoaffinite kolonları yer almaktadır. Avrupa Standardizasyon Komitesi tahıllarda OA saptanması için iki likit kromatografi metodunu benimsemiştir. Bunlar temizleme için silika jel veya C₁₈ kartuşlarının kullanılması ve florimetrik saptama ile zıt faz HPLC' dir (109).

Çalışmamızda gerek mobil fazda gerekse ekstraksiyon aşamasında kullanılan asetik asit organik solventlerde kolayca çözülmekte ve kolayca uzaklaştırılabilmektedir. Ekstraksiyonda kullandığımız asetonitril ise okratoksin alımını arttırmaktadır (110).

Çalışmamızda kullandığımız immunoaffinite kolon ile temizleme tekniği literatürdeki diğer tekniklerle karşılaştırdığımızda, Jornet ve arkadaşları, şarap örneklerinde OA saptanması için uyguladıkları zıt faz HPLC katı faz ekstraksiyonunda C₁₈ kartuşları kullanmış ve florimetrik deteksiyonla OA miktarını saptamışlardır. OA ilave edilmiş şarap örneklerinden (spike) geri kazanım %87.6 olmuştur (110). Çalışmamızda ise ekstraksiyon NaHCO₃ ile yapılmıştır. Örneğin temizlenmesinde %20'lik metanol kullanılmış ve immunoaffinite kolonda gerçekleştirilmiştir. OA'nın elusyonu için %2'lik metanolde çözülmüş asetik asit kullanılmıştır. Spike edilen numunenin geri kazanım yüzdesi ise %96 olarak gerçekleşmiştir.

Üzüm örneklerinden Okratoksin-A saptanmasında OA'nın NaHCO₃ ile ekstraksiyonu uygulanması kolay ve başarılı bir yöntemdir. Ayrıca immunoaffinite kolondan geçirilerek metanol ile örneğin temizlenmesi ve kolayca kolona bağlanması

gerçekleşmiş kullandığımız mobil faz, (asetonitril: su: asetik asit) (49:49:2) ve ekstraksiyon solventleri kolayca ortamdaki uzaklaştırılabilmiştir.

Çalışmamızda gerek mobil fazda gerekse ekstraksiyon aşamasında kullanılan solventler herhangi bir kirliliğe neden olmamışlar ve ilave temizleme basamaklarına gerek duyulmamıştır. Ekstraksiyonda kullandığımız asetonitril ise okratoksin alımını arttırmaktadır (110).

Çalışmamız yaş ve kuru üzümde bulunan küf yükünün ve hakim küf florasının tespitini, potansiyel okratoksijenik küf türleri belirlenerek üzümde en yaygın rastlanan okratoksijenik türlerin ortaya konmasını sağlamış ve OA üretiminin zaman faktörüne bağlı değişimini ortaya koymuştur.

Immunoaffinite kolon kullanılarak OA'nın HPLC ile saptanması yöntemi çok güvenilir ve yüksek verimli olmasına rağmen bugün için tek dezavantajı rutin uygulamalarda kullanılabilmesi için gerek immunoaffinite kolonlarının gerekse HPLC cihazı ve ekipmanının çok pahalı olmasıdır.

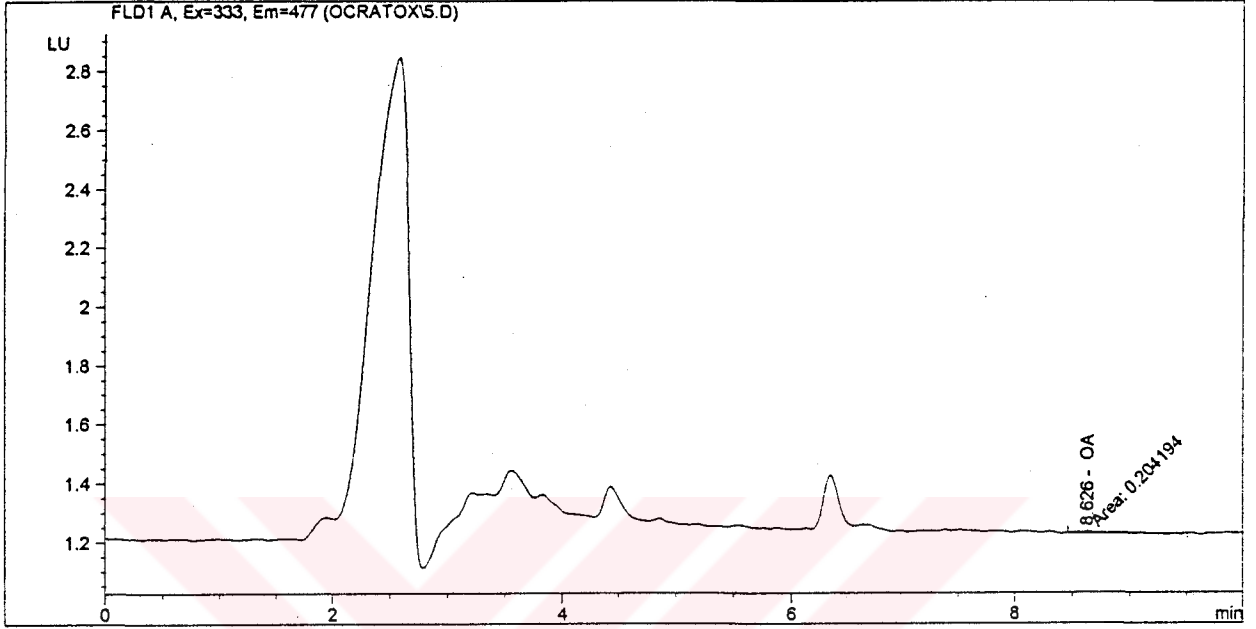
EK-A ÖRNEK 10-7 HPLC GRAFIĞI

Data File C:\HPCHEM\1\DATA\OCRATOX\5.D

Sample Name: 10-7pall

=====
Injection Date : 4/5/02 1:38:34 PM
Sample Name : 10-7pall Vial : -
Acq. Operator : BİYOMÜHENDİSLİK
Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\OKRA2.M
Last changed : 4/5/02 11:44:28 AM by TARIŞ R&D CENTER TOXIN LAB.
(modified after loading)

Okratoksin A2 metodu



=====
External Standard Report (Sample Amount is 0!)
=====

Sorted By : Signal
Calib. Data Modified : 4/5/02 11:44:25 AM
Multiplier : 1.0000
Dilution : 1.0000

Signal 1: FLD1 A, Ex=333, Em=477

RetTime [min]	Type	Area LU	Amt/Area *s	Amount [ng/ml]	Grp	Name
8.626	MM	2.04194e-1	4.05981e-1	8.28988e-2	OA	

Totals : 8.28988e-2 $\times 3 = 0,248664$ ppb

Results obtained with enhanced integrator!

=====
*** End of Report ***

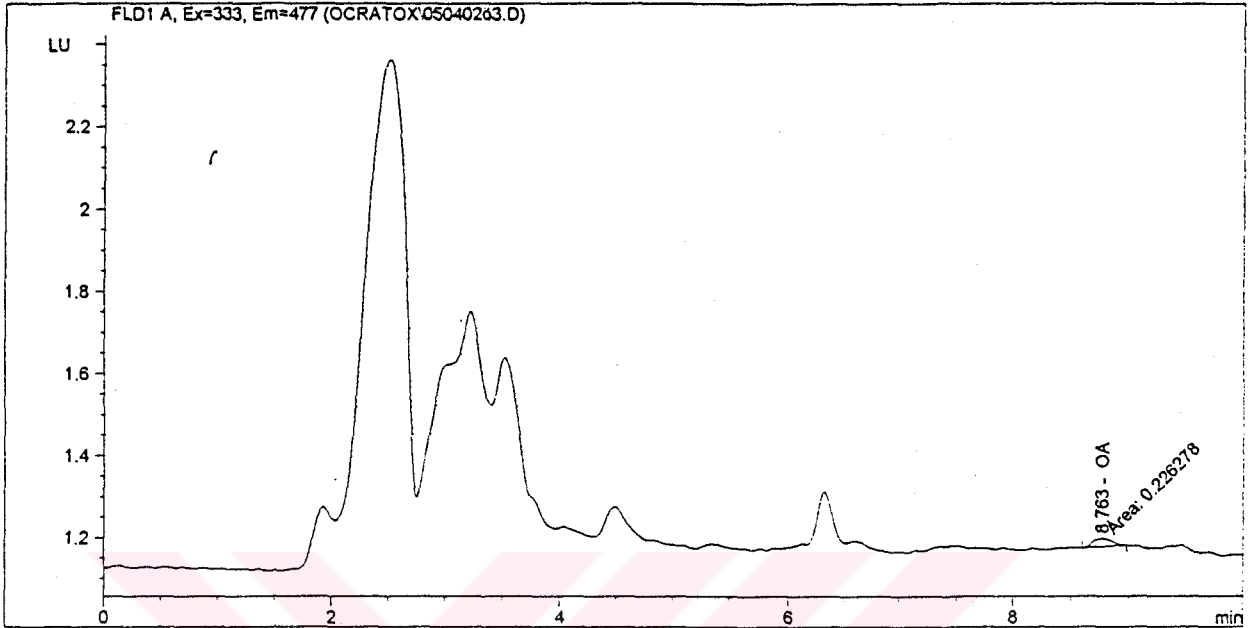
EK-B ÖRNEK 12-2 HPLC GRAFIĞI

Data File C:\HPCHEM\1\DATA\OCRATOX\05040263.D

Sample Name: 12.2

=====
Injection Date : 4/5/02 12:00:45 PM
Sample Name : 12.2 *fu... .. ver pull... ..* Vial : -
Acq. Operator : TARIŞ R&D CENTER TOXIN LAB.
Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\OKRA2.M
Last changed : 4/5/02 11:44:28 AM by TARIŞ R&D CENTER TOXIN LAB.
(modified after loading)

Okratoksin A2 metodu



=====
External Standard Report (Sample Amount is 0!)
=====

Sorted By : Signal
Calib. Data Modified : 4/5/02 11:44:25 AM
Multiplier : 1.0000
Dilution : 1.0000

Signal 1: FLD1 A, Ex=333, Em=477

RetTime [min]	Type	Area LU	Amt/Area *	Amount [ng/ml]	Grp	Name
8.763	MM	2.26278e-1	3.72070e-1	8.41912e-2		OA

Totals : 8.41912e-2 $\times 3 = 0,2525736$ ppb

Results obtained with enhanced integrator!

=====
*** End of Report ***

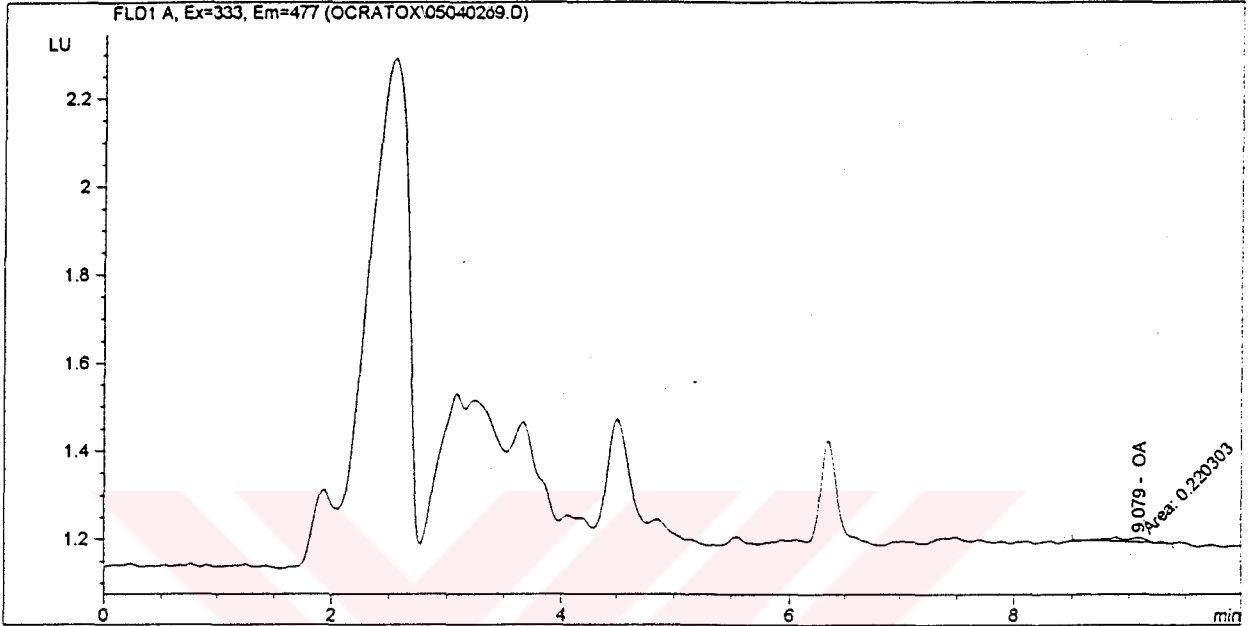
EK-C "ÖRNEK 18-2 HPLC GRAFIĞI"

Data File C:\HPCHEM\1\DATA\OCRATOX\05040289.D

Sample Name: 18-2pall

=====
Injection Date : 4/5/02 1:11:06 PM
Sample Name : 18-2pall Vial : -
Acq. Operator : BİYOMÜHENDİSLİK
Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\OKRA2.M
Last changed : 4/5/02 11:44:28 AM by TARIŞ R&D CENTER TOXIN LAB.
(modified after loading)

Okratoksin A2 metodu



=====
External Standard Report (Sample Amount is 0!)
=====

Sorted By : Signal
Calib. Data Modified : 4/5/02 11:44:25 AM
Multiplier : 1.0000
Dilution : 1.0000

Signal 1: FLD1 A, Ex=333, Em=477

RetTime [min]	Type	Area LU	Amt/Area *s	Amount [ng/ml]	Grp	Name
9.079	MM	2.20303e-1	3.80574e-1	8.38416e-2	OA	

Totals : 8.38416e-2 x 3 = 0.2515248

Results obtained with enhanced integrator!

=====
*** End of Report ***

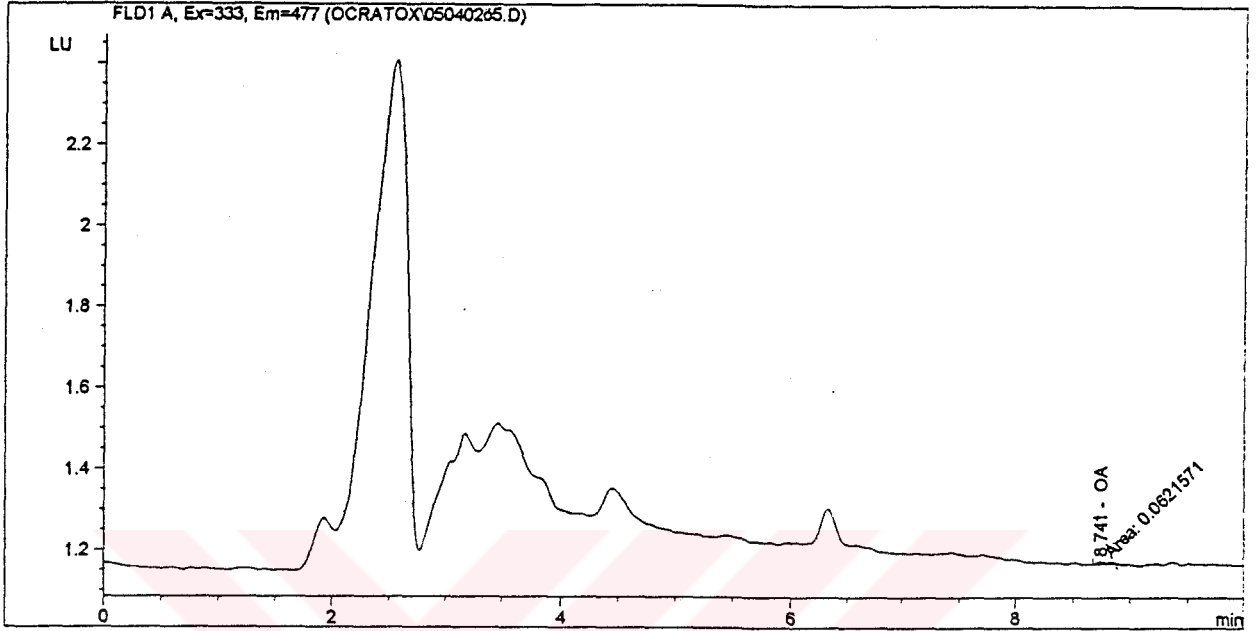
EK-D "ÖRNEK 23-4 HPLC GRAFIĞI"

Data File C:\HPCHEM\1\DATA\OCRATOX\05040205.D

Sample Name: 23-4

=====
Injection Date : 4/5/02 12:25:03 PM
Sample Name : 23-4 *patidus* Vial : -
Acq. Operator : TARIŞ R&D CENTER TOXIN LAB.
Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\OKRA2.M
Last changed : 4/5/02 11:44:28 AM by TARIŞ R&D CENTER TOXIN LAB.
(modified after loading)

Okratoksin A2 metodu



=====
External Standard Report (Sample Amount is 0!)
=====

Sorted By : Signal
Calib. Data Modified : 4/5/02 11:44:25 AM
Multiplier : 1.0000
Dilution : 1.0000

Signal 1: FLD1 A, Ex=333, Em=477

RetTime [min]	Type	Area LU *s	Amt/Area	Amount [ng/ml]	Grp	Name
8.741	MM	6.21571e-2	1.19997	7.45865e-2	OA	

Totals :

7.45865e-2

$\times 3 = 0,2237595 \text{ ppb}$

Results obtained with enhanced integrator!

=====
*** End of Report ***

EK-E "ÖRNEK 35-1 HPLC GRAFIĞI"

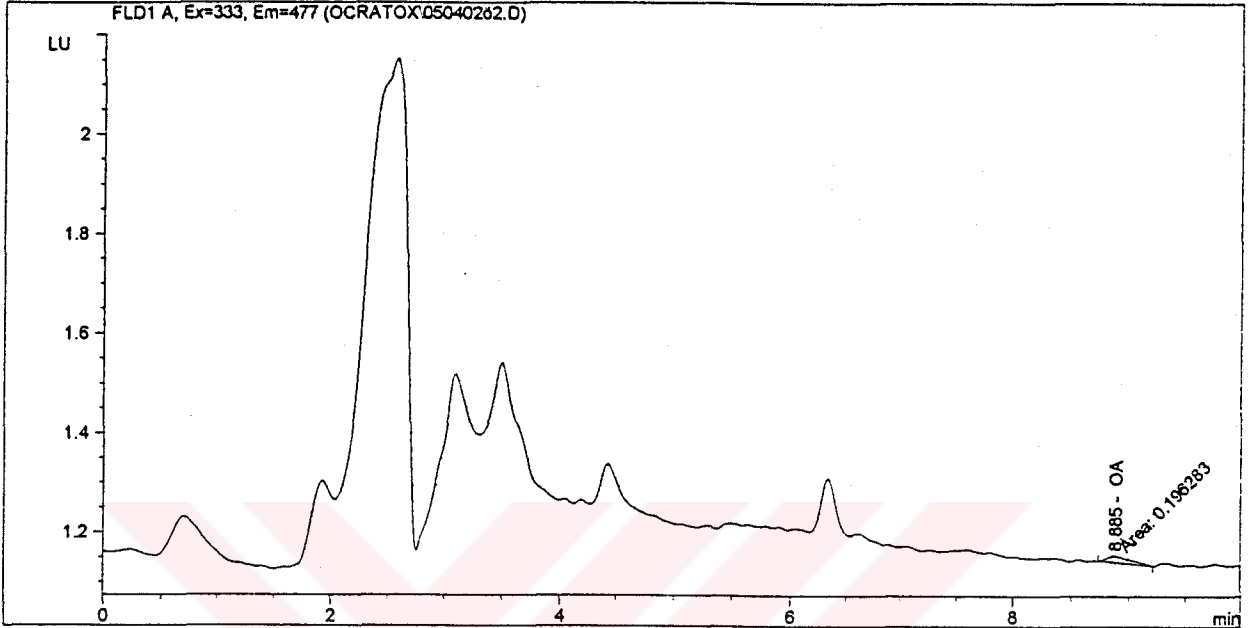
Data File C:\HPCHEM\1\DATA\OCRATOX\05040262.D

Sample Name: 35-1

```

=====
Injection Date   : 4/5/02 11:48:52 AM
Sample Name     : 35-1 paltrus
Acq. Operator  : TARIŞ R&D CENTER TOXIN LAB.
Method         : C:\HPCHEM\1\METHODS\OKRA2.M
Last changed   : 4/5/02 11:44:28 AM by TARIŞ R&D CENTER TOXIN LAB.
                (modified after loading)
    
```

Okratoksin A2 metodu



External Standard Report (Sample Amount is 0!)

```

Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : 4/5/02 11:44:25 AM
Multiplier    : 1.0000
Dilution      : 1.0000
    
```

Signal 1: FLD1 A, Ex=333, Em=477

RetTime [min]	Type	Area LU *s	Amt/Area	Amount [ng/ml]	Grp	Name
8.885	MM	1.96283e-1	4.19984e-1	8.24359e-2	OA	

Totals : $8.24359e-2 \times 3 = 0.2473077$ ppb

Results obtained with enhanced integrator!

*** End of Report ***

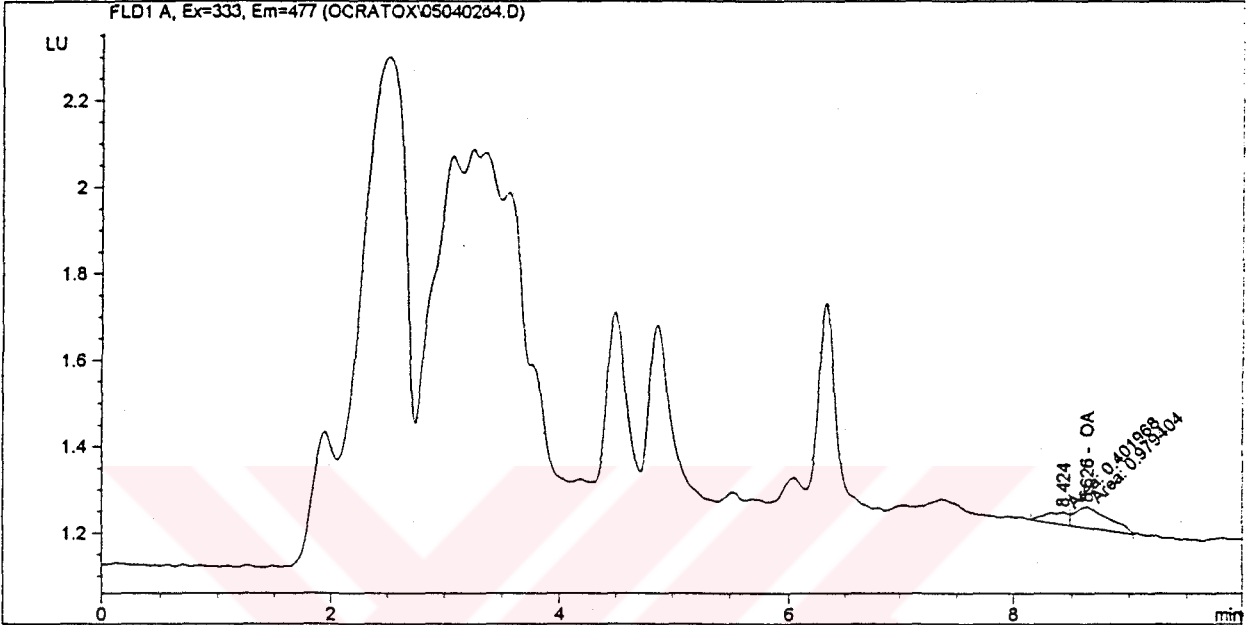
EK-F "ÖRNEK 42-7 HPLC GRAFIĞI"

Data File C:\HPCHEM\1\DATA\OCRATOX\05040284.D

Sample Name: 42-7

=====
Injection Date : 4/5/02 12:13:24 PM
Sample Name : 42-7 *patridus* Vial : -
Acq. Operator : TARIŞ R&D CENTER TOXIN LAB.
Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\OKRA2.M
Last changed : 4/5/02 11:44:28 AM by TARIŞ R&D CENTER TOXIN LAB.
(modified after loading)

Okratoksin A2 metodu



=====
External Standard Report (Sample Amount is 0!)
=====

Sorted By : Signal
Calib. Data Modified : 4/5/02 11:44:25 AM
Multiplier : 1.0000
Dilution : 1.0000

Signal 1: FLD1 A, Ex=333, Em=477

RetTime [min]	Type	Area LU	Amt/Area *s	Amount [ng/ml]	Grp	Name
8.626	FM	9.79404e-1	1.30963e-1	1.28266e-1	OA	

Totals : 1.28266e-1 *0.000266 ng/ml*

Results obtained with enhanced integrator!

=====
*** End of Report ***

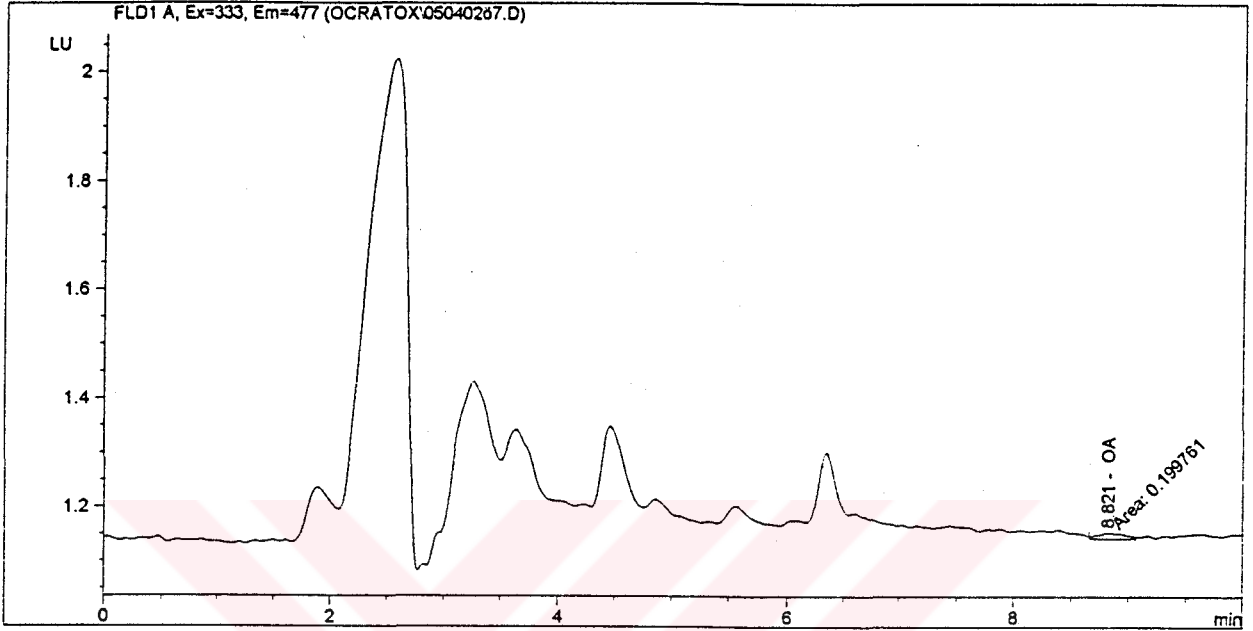
EK-G "ÖRNEK 44-4 HPLC GRAFIĞI"

Data File C:\HPCHEM\1\DATA\OCRATOX\05040267.D

Sample Name: 44-4pall

=====
Injection Date : 4/5/02 12:48:18 PM
Sample Name : 44-4pall Vial : -
Acq. Operator : BIYOMÜHENDİSLİK
Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\OKRA2.M
Last changed : 4/5/02 11:44:28 AM by TARIŞ R&D CENTER TOXIN LAB.
(modified after loading)

Okratoksin A2 metodu



=====
External Standard Report (Sample Amount is 0!)
=====

Sorted By : Signal
Calib. Data Modified : 4/5/02 11:44:25 AM
Multiplier : 1.0000
Dilution : 1.0000

Signal 1: FLD1 A, Ex=333, Em=477

RetTime [min]	Type	Area LU *s	Amt/Area	Amount [ng/ml]	Grp	Name
8.821	MM	1.99761e-1	4.13691e-1	8.26394e-2	OA	

Totals : 8.26394e-2 X3 = 0.247918 ug/ml

Results obtained with enhanced integrator!

=====
*** End of Report ***

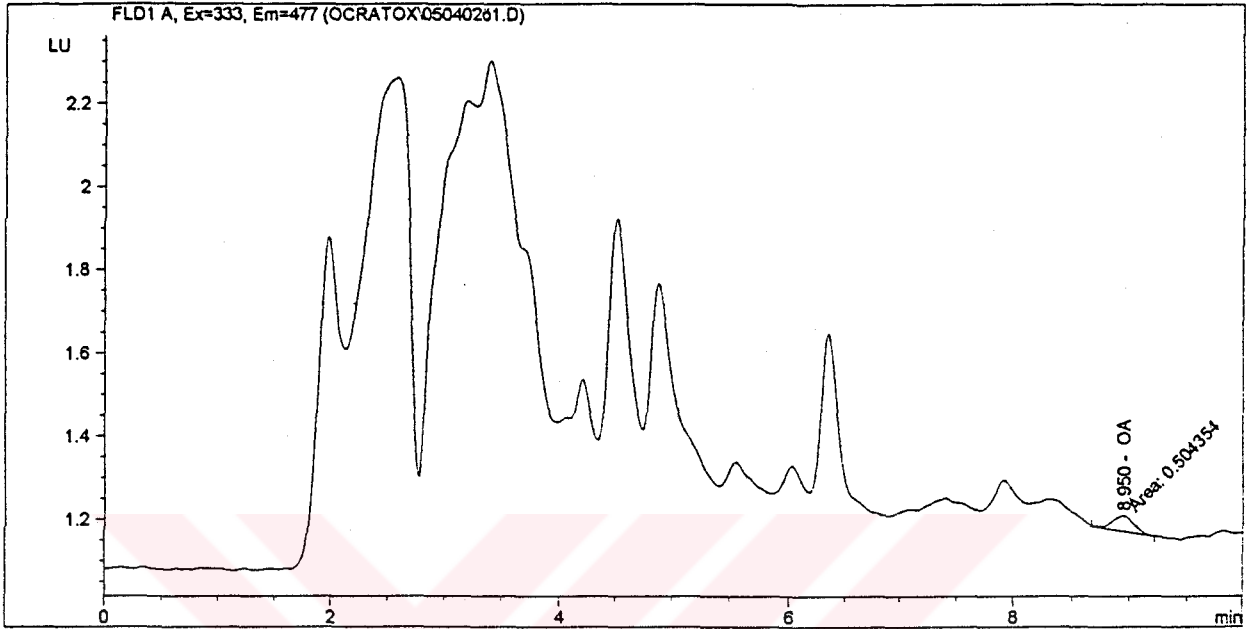
EK-1 "ÖRNEK 51-6 HPLC GRAFIĞI"

Data File C:\HPCHEM\1\DATA\OCRATOX\05040281.D

Sample Name: 51-6

=====
Injection Date : 4/5/02 11:38:11 AM
Sample Name : 51-6 *Bacillus var. Udu* Vial : -
Acq. Operator : TARIŞ R&D CENTER TOXIN LAB.
Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\OKRA2.M
Last changed : 4/5/02 11:44:28 AM by TARIŞ R&D CENTER TOXIN LAB.
(modified after loading)

Okratoksin A2 metodu



=====
External Standard Report (Sample Amount is 0!)
=====

Sorted By : Signal
Calib. Data Modified : 4/5/02 11:44:25 AM
Multiplier : 1.0000
Dilution : 1.0000

Signal 1: FLD1 A, Ex=333, Em=477

RetTime [min]	Type	Area LU	Amt/Area *s	Amount [ng/ml]	Grp	Name
8.950	MM	5.04354e-1	1.99195e-1	1.00465e-1	OA	

Totals : 1.00465e-1 $\times 3 = 0.301395$ ppb.

Results obtained with enhanced integrator!

=====
*** End of Report ***

EK-J "ÖRNEK 53-3 HPLC GRAFIĞI"

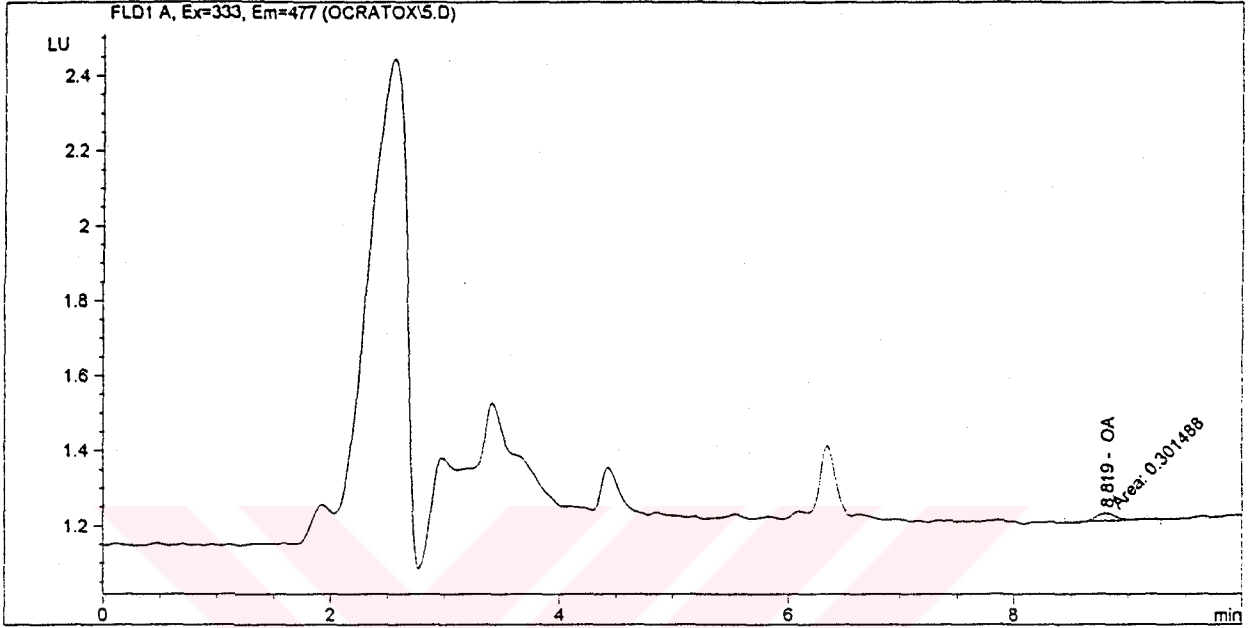
Data File C:\HPCHEM\1\DATA\OCRATOX\5.D

örnek 10

Sample Name: 53-3pall

=====
Injection Date : 4/5/02 1:25:43 PM
Sample Name : 53-3pall Vial : -
Acq. Operator : BİYOMÜHENDİSLİK
Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\OKRA2.M
Last changed : 4/5/02 11:44:28 AM by TARIŞ R&D CENTER TOXIN LAB.
(modified after loading)

Okratoksin A2 metodu



=====
External Standard Report (Sample Amount is 0!)
=====

Sorted By : Signal
Calib. Data Modified : 4/5/02 11:44:25 AM
Multiplier : 1.0000
Dilution : 1.0000

Signal 1: FLDI A, Ex=333, Em=477

RetTime [min]	Type	Area LU *s	Amt/Area	Amount [ng/ml]	Grp	Name
8.819	MM	3.01488e-1	2.93851e-1	8.85927e-2	OA	

Totals : 8.85927e-2 $\times 3 = 0,2657721$ ppb.

Results obtained with enhanced integrator!

=====
*** End of Report ***

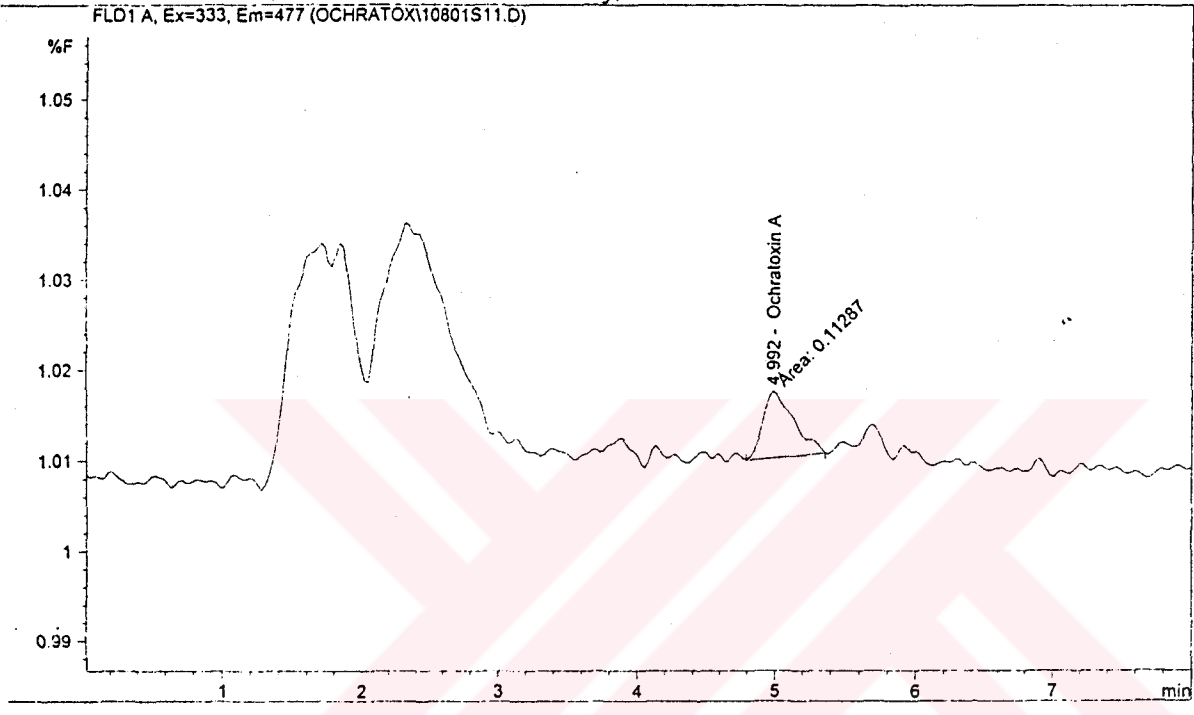
EK K "Aspergillus ochraceus (37-10) OA üretimi 15.gün"

File C:\HPCHEM\1\DATA\OCHRATOX\10801S11.D

Sample Name: 37-10 , 15.gün

```

=====
Injection Date   : 10.08.2001 12:38:04
Sample Name     : 37-10 , 15.gün           Vial : -
Acq. Operator  : TARIŞ R&D CENTER-TOXIN LAB.
Method         : C:\HPCHEM\1\METHODS\OCHRA.M
Last changed   : 10.08.2001 10:08:51 by TARIŞ R&D CENTER-TOXIN LAB.
                (modified after loading)
    
```



External Standard Report

```

=====
Reported By      : Signal
Library Data Modified : 10.08.2001 10:08:51
Multiplier      : 1.0000
Resolution      : 1.0000
    
```

Signal 1: FLD1 A, Ex=333, Em=477

ppm x 1000 = ppb

Time [min]	Type	Area [%F*s]	Amt/Area	Amount [ng/ul]	Grp	Name
4.992	MM	1.12870e-1	3.31034e-3	3.73639e-4		Ochratoxin A

Results : 3.73639e-4

Results obtained with enhanced integrator!

*** End of Report ***

EK L "Aspergillus ochraceus (37-10) OA üretimi 17.gün"

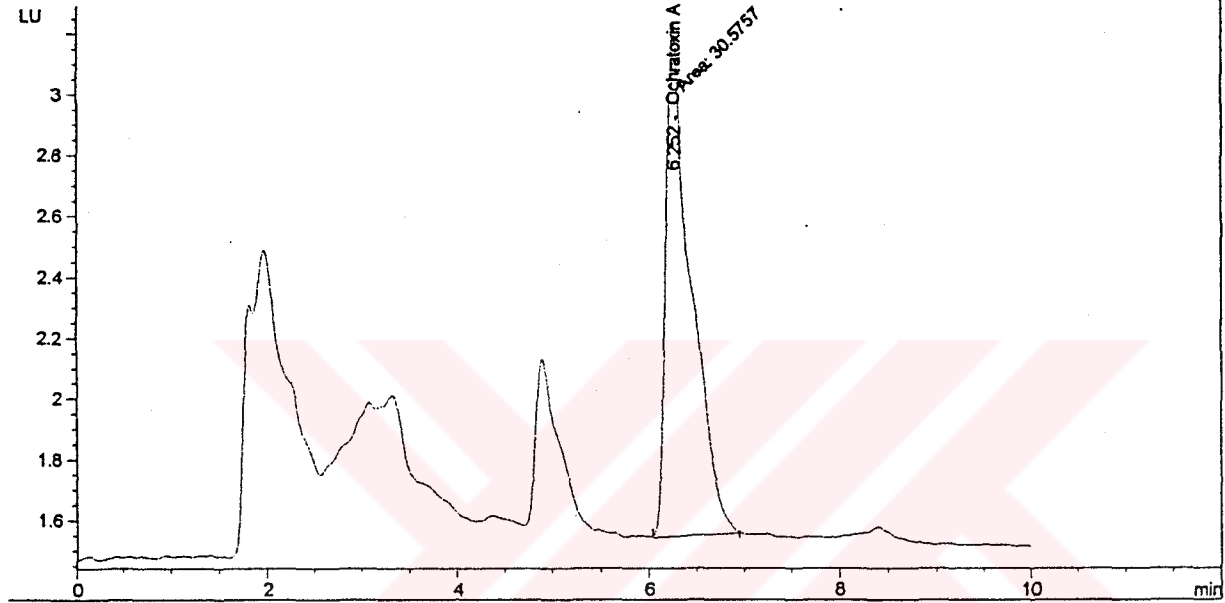
File C:\HPCHEM\1\DATA\OCHRATOX\1-17.D

Sample Name: proje örneği

=====
Injection Date : 10/5/01 3:50:13 PM
Sample Name : proje örneği Vial : -
Acq. Operator : Ege Üniversitesi
Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\OKRA2.M
Last changed : 10/5/01 9:54:12 AM by Ege Üniversitesi
(modified after loading)

Ochratoxin A2 metodu

FLD1 A, Ex=333, Em=477 (OCHRATOX1-17.D)



=====
External Standard Report
=====

Reported By : Signal
Library Data Modified : 10/5/01 9:54:12 AM
Multiplier : 1.0000
Resolution : 1.0000

Signal 1: FLD1 A, Ex=333, Em=477

Retention Time [min]	Type	Area LU *s	Amt/Area	Amount [ng/ml]	Grp	Name
6.252	MM	30.57569	2.70697e-1	8.27675		Ochratoxin A

Totals : 8.27675

Results obtained with enhanced integrator!

=====
*** End of Report ***

EK M "Aspergillus ochraceus (37-10) OA üretimi 21.gün"

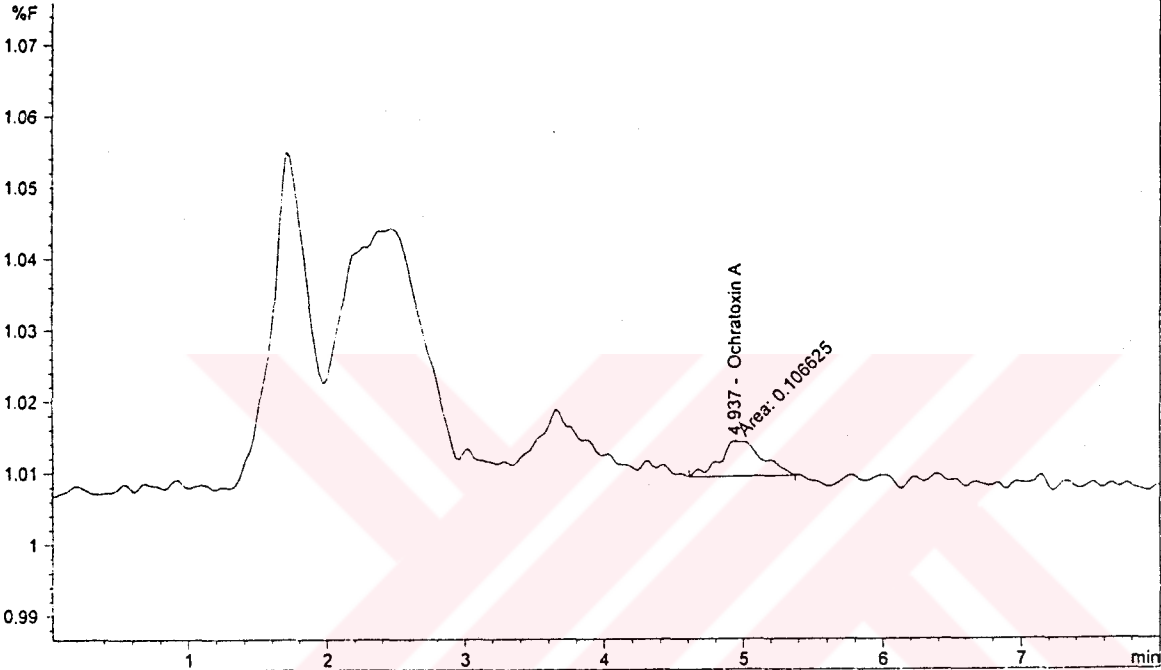
File C:\HPCHEM\1\DATA\OCHRATOX\10801S10.D

Sample Name: 37-10 , 21.gün

=====

Injection Date : 10.08.2001 12:28:14
Sample Name : 37-10 , 21.gün Vial : -
Acq. Operator : TARIŞ R&D CENTER-TOXIN LAB.
Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\OCHRA.M
Last changed : 10.08.2001 10:08:51 by TARIŞ R&D CENTER-TOXIN LAB.
(modified after loading)

FLD1 A, Ex=333, Em=477 (OCHRATOX\10801S10.D)



=====

External Standard Report

=====

Reported By : Signal
Library Data Modified : 10.08.2001 10:08:51
Multiplier : 1.0000
Resolution : 1.0000

Signal 1: FLD1 A, Ex=333, Em=477

Retention Time [min]	Type	Area [%F*s]	Amt/Area	Amount [ng/ul]	Grp	Name
4.937	MM	1.06625e-1	3.32316e-3	3.54333e-4		Ochratoxin A

Totals : 3.54333e-4

Results obtained with enhanced integrator!

*** End of Report ***

EK N "Aspergillus ochraceus (37-10) OA üretimi 23.gün"

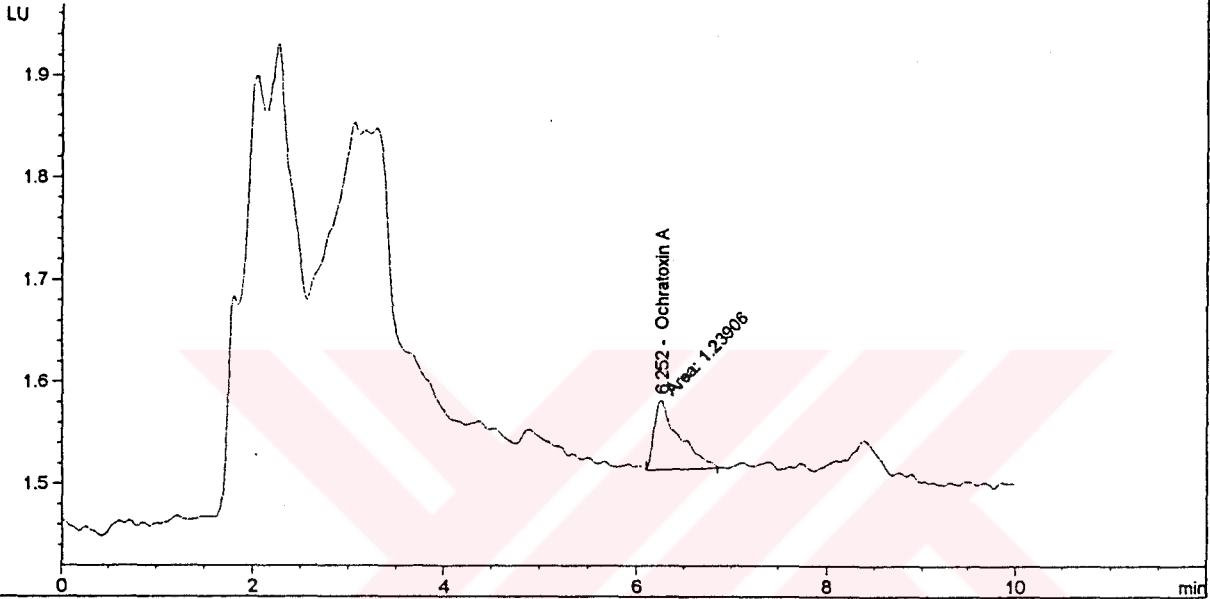
File C:\HPCHEM\1\DATA\OCHRATOX\1-23.D

Sample Name: proje örneği

=====
 Injection Date : 10/5/01 3:19:37 PM
 Sample Name : proje örneği Vial : -
 Operator : Ege Üniversitesi
 Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\OKRA2.M
 Last changed : 10/5/01 9:54:12 AM by Ege Üniversitesi
 (modified after loading)

kratoksin A2 metodu

FLD1 A, Ex=333, Em=477 (OCHRATOX1-23.D)



=====
 External Standard Report
 =====

Sorted By : Signal
 Calib. Data Modified : 10/5/01 9:54:12 AM
 Multiplier : 1.0000
 Dilution : 1.0000

Signal 1: FLD1 A, Ex=333, Em=477

RetTime [min]	Type	Area LU *s	Amt/Area	Amount [ng/ml]	Grp	Name
6.252	MM	1.23906	3.41397e-1	4.23011e-1		Ochratoxin A

Totals : 4.23011e-1

Results obtained with enhanced integrator!

=====
 *** End of Report ***

$$\begin{array}{r}
 0.423 \text{ ng} \quad 1 \text{ ml} \quad 50 \text{ ml} \\
 \times \quad 50 \text{ ul} \quad 100 \quad \times \\
 \hline
 x =
 \end{array}$$

EK O *Aspergillus ochraceus* (37-10) OA Üretimi 25. Gün

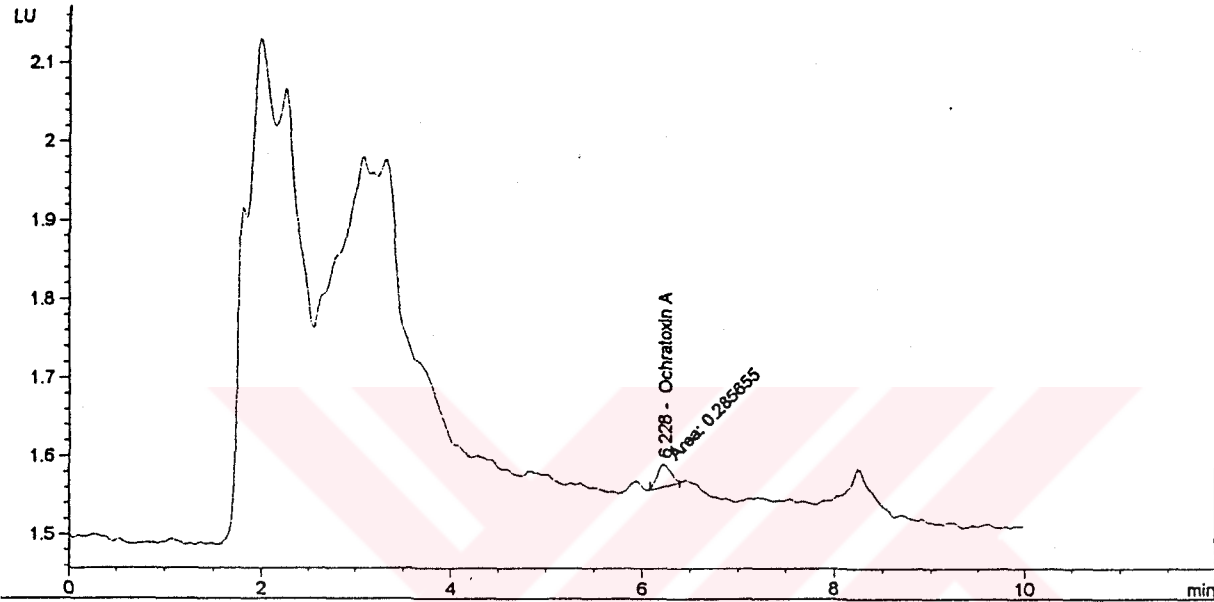
file C:\HPCHEM\1\DATA\OCHRATOX\1-25.D

Sample Name: proje örneği

Injection Date : 10/5/01 3:31:21 PM
Sample Name : proje örneği Vial : -
Operator : Ege Üniversitesi
Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\OKRA2.M
Last changed : 10/5/01 9:54:12 AM by Ege Üniversitesi
(modified after loading)

Ochratoxin A2 metodu

FLD1 A, Ex=333, Em=477 (OCHRATOX11-25.D)



External Standard Report

Reported By : Signal
Library Data Modified : 10/5/01 9:54:12 AM
Multiplier : 1.0000
Resolution : 1.0000

Signal 1: FLD1 A, Ex=333, Em=477

Retention Time [min]	Type	Area LU *s	Amt/Area	Amount [ng/ml]	Grp	Name
6.228	MM	2.85655e-1	5.87332e-1	1.67774e-1		Ochratoxin A

Amounts : 1.67774e-1

Results obtained with enhanced integrator!

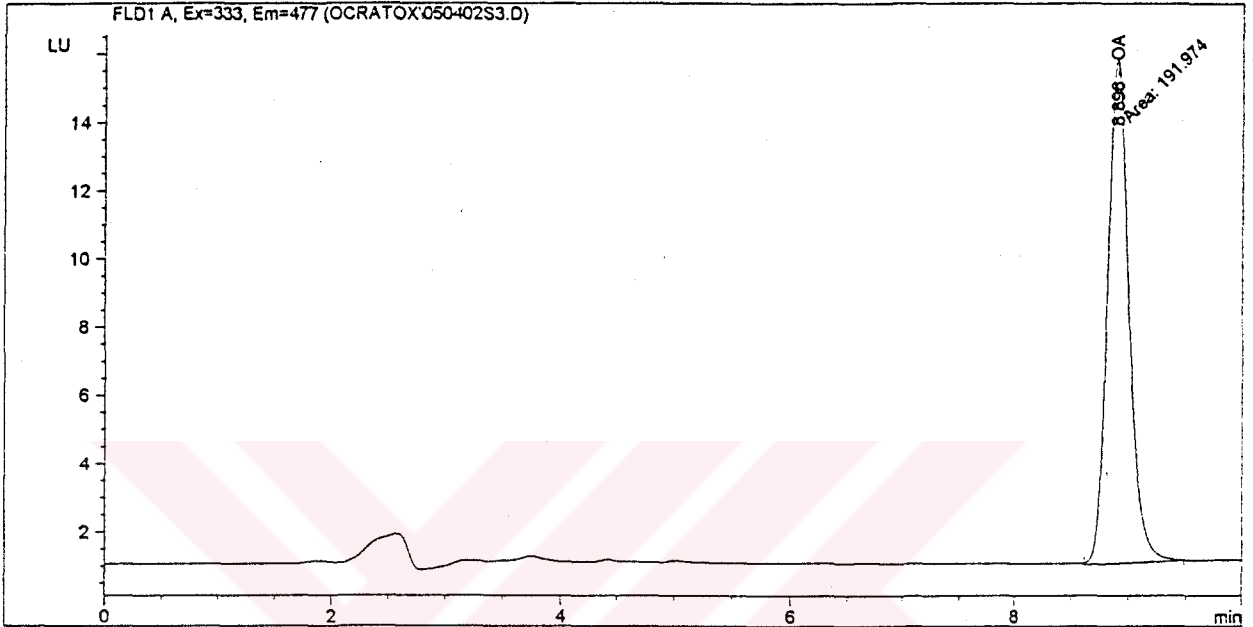
*** End of Report ***

EK P "HPLC Analizi Standart Ölçüm Grafiği-1"

Data File C:\HPCHEM\1\DATA\OCRATOX\050402S3.D

Sample Name: OA std 11,16 ppb

=====
Injection Date : 4/5/02 11:26:05 AM
Sample Name : OA std 11,16 ppb Vial : -
Acq. Operator : TARIŞ R&D CENTER TOXIN LAB.
Acq. Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\OKRA2.M
Last changed : 4/5/02 11:31:26 AM by TARIŞ R&D CENTER TOXIN LAB.
(modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\OKRA2.M
Last changed : 4/5/02 11:39:41 AM by TARIŞ R&D CENTER TOXIN LAB.
(modified after loading)
Okratoksin A2 metodu



=====
External Standard Report (Sample Amount is 0!)
=====

Sorted By : Signal
Calib. Data Modified : Friday, April 05, 2002 11:39:41 AM
Multiplier : 1.0000
Dilution : 1.0000

Signal 1: FLD1 A, Ex=333, Em=477

RetTime [min]	Type	Area LU *s	Amt/Area	Amount [ng/ml]	Grp	Name
8.896	MM	191.97365	5.88917e-2	11.30565	OA	

Totals : 11.30565

Results obtained with enhanced integrator!

=====
*** End of Report ***

EK R "HPLC Analizi Kalibrasyon Tablosu-I"

Method C:\HPCHEM\1\METHODS\OKRA2.M

=====
Calibration Table
=====

Calib. Data Modified : Friday, April 05, 2002 11:39:41 AM

Calculate : External Standard Percent
Based on : Peak Area

Rel. Reference Window : 10.000 %
Abs. Reference Window : 0.000 min
Rel. Non-ref. Window : 10.000 %
Abs. Non-ref. Window : 0.000 min
Uncalibrated Peaks : not reported
Partial Calibration : Yes, identified peaks are recalibrated
Correct All Ret. Times: No, only for identified peaks

Curve Type : Linear
Origin : Included
Weight : Equal

Recalibration Settings:
Average Response : Average all calibrations
Average Retention Time: Floating Average New 75%

Calibration Report Options :
Printout of recalibrations within a sequence:
Calibration Table after Recalibration
Normal Report after Recalibration
If the sequence is done with bracketing:
Results of first cycle (ending previous bracket)

Signal 1: FLD1 A, Ex=333, Em=477

RetTime [min]	Lvl Sig	Amount [ng/ml]	Area	Amt/Area	Ref Grp Name
8.896	1	5.58000e-1	9.74082	5.72847e-2	OA
	2	5.58000	89.01676	6.26848e-2	
	3	11.16000	191.97365	5.81330e-2	

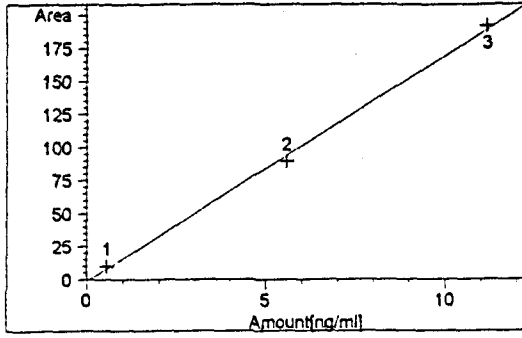
=====
Peak Sum Table
=====

No Entries in table
=====

EK S "HPLC Analizi Kalibrasyon Eğrisi-I"

Method C:\HPCHEM\1\METHODS\OKRA2.M

Calibration Curves



OA at exp. RT: 8.896
FLD1 A, Ex=333, Em=477
Correlation: 0.99924
Residual Std. Dev.: 4.23584
Formula: $y = mx + b$
m: 17.08756
b: -1.21234
x: Amount[ng/ml]
y: Area

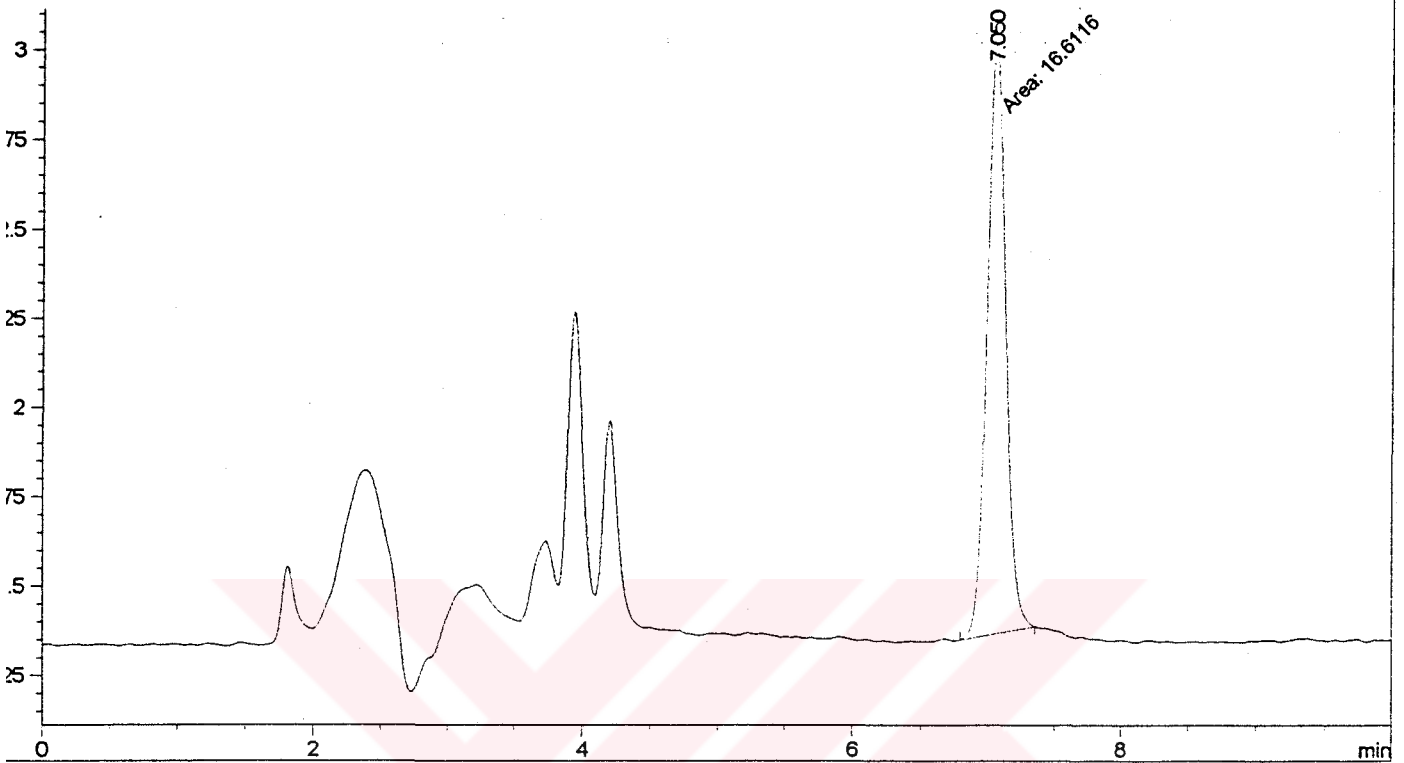
ction Date : 7/3/02 3:07:42 PM

Vial : -

EK T "HPLC Analizi Standart Ölçüm Grafiği-II"

toksin A2 metodu

FLD1 A, Ex=333, Em=477 (OCRATOX307021.D)



External Standard Report (Sample Amount is 0!)

ed By : Signal
b. Data Modified : Wednesday, July 03, 2002 2:16:27 PM
plier : 1.0000
tion : 1.0000

al 1: FLD1 A, Ex=333, Em=477

Time [min]	Type	Area [LU*s]	Amt/Area	Amount [ng/ml]	Grp	Name
7.068	-	-	-	-	-	okratoksin-A

ls : 0.00000

ults obtained with enhanced integrator!
arnings or Errors :

ing : Calibrated compound(s) not found

nt 1 7/3/02 3:25:35 PM BIYOMÜHENDİSLİK

EK U "HPLC Analizi Kalibrasyon Tablosu-II"

\HPCHEM\1\METHODS\OKRA2.M

=====
 Calibration Table
 =====

Data Modified : Wednesday, July 03, 2002 2:16:27 PM
 late on : External Standard Percent
 : Peak Area
 Reference Window : 10.000 %
 Reference Window : 0.000 min
 Non-ref. Window : 10.000 %
 Non-ref. Window : 0.000 min
 ibrated Peaks : not reported
 al Calibration : Yes, identified peaks are recalibrated
 ct All Ret. Times: No, only for identified peaks
 Type : Linear
 n : Included
 t : Equal

ibration Settings:
 ge Response : Average all calibrations
 ge Retention Time: Floating Average New 75%

ration Report Options :
 rintout of recalibrations within a sequence:
 Calibration Table after Recalibration
 Normal Report after Recalibration
 f the sequence is done with bracketing:
 Results of first cycle (ending previous bracket)

l 1: FLD1 A, Ex=333, Em=477

me	Lvl	Amount	Area	Amt/Area	Ref	Grp	Name
Sig		[ng/ml]					
68	1	1.00000	2.54763	3.92521e-1			okratoksin-A
		2.00000	5.85270	3.41723e-1			
		4.00000	9.99285	4.00286e-1			

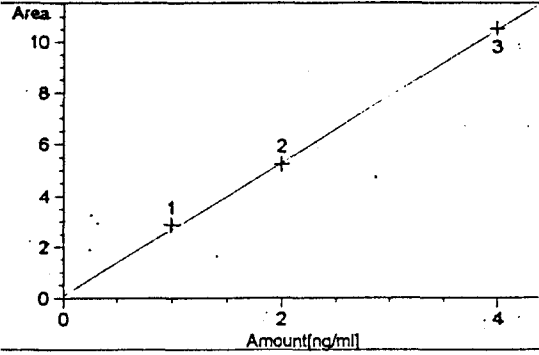
=====
 Peak Sum Table
 =====

Entries in table***
 =====

EK V "HPLC Analizi Kalibrasyon Eğrisi-II"

d C:\HPCHEM\1\METHODS\OKRA2.M

Calibration Curves



okratoksin at exp. RT: 9.959
FLD1 A, Ex=333, Em=477
Correlation: 0.99966
Residual Std. Dev.: 0.14318
Formula: $y = mx + b$
m: 2.60837
b: 8.25747e-2
x: Amount[ng/ml]
y: Area



KAYNAKÇA

1. Edlefsen, M., Brewer, S., "Ochratoxin", Illinois Cooperative Extension Service, EHE-757, University of Illinois at Urbana-Champaign, August, 1996.
2. Obrecht-Pflumio, S., Chassat T., Dirheimer, G., Marzin, D., "Genotoxicity of Ochratoxin A by Salmonella Mutagenicity Test After Bioactivation by mouse kidney microsomes", *Mutat Res*, Oct, 29, 446:1, (1999),95-102.
3. Tsubouchi H., Terada H., Yamamoto K., Hisada K., Sakabe Y., "Caffeine degradation and increased ochratoxin A production by toxigenic strains of *Aspergillus ochraceus* isolated from green coffee beans", *Mycopathologia*, 1985 Jun;90(3):181-6.
4. Neb Guide, Nebraska Cooperative Extension G00-1408-A, Cooperative Extension, Institute of Agriculture and Natural Resources, University of Nebraska, Lincoln, September, 2000.
5. Altındışlı A., Aksoy, U., Çakır, M., Eltem, R., Özer, B.Ö., "Çekirdeksiz kuru üzümde Ochratoxin-A oluşumu ve Etkili Faktörlerin Belirlenmesi Üzerinde Araştırmalar", Türkiye III. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongre Kitabı, Ankara Üniversitesi, ANKARA, 1999.
6. Frank, H.K., "Food Contamination by Ochratoxin A in Germany", *International Agency for Research on Cancer (IARC)*, (1991), 77-81.
7. Betina, V., "Bioactive Secondary metabolite of Microorganisms" Elsevier, Amsterdam, 1994
8. Friesen, M.D., Garren, L., "Mycotoxins, International Mycotoxin Check Sample Survey Program, Part III., Report on Performance of Participating Laboratories for Determining Ochratoxin A in Animal Feed.", *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 66:2, (1983), 256-259.
9. Van der Merwe, K.J., Steyn, P.S., Fourie, L., De Scott, B., Theron, J.J., "Ochratoxin A, A Toxic Metabolite Produced by *Aspergillus ochraceus*", *Nature*, 205, (1965), 1112-1113.
10. Pitt, J.I., and Hocking, A.D., "Fungi and food spoilage". *Academic Press*, London. 1985.
11. Abarca, M.L., Bragulat, M.R., Castellá, G., Cabañes, F.J., "Ochratoxin A produced by Strains of *Aspergillus niger* var. *niger*", *Applied and Environmental Microbiology*, July, 60:7, (1994), 2650-2652.

12. Teren, J., Varga, J., Hamari, Z., Rinyu, E., Kevei, F., "Immunochemical Detection of Ochratoxin A in black *Aspergillus* strains", *Mycopathologia*, 134, (1996), 171-176.
13. Varga, J., Kevei, E., Rinyu, E., Teren, J., Kozakiewicz, Z., "Ochratoxin Production by *Aspergillus* Species", *Applied and Environmental Microbiology*, 62, 12, (1996), 4461-4464.
14. Teren, J., Palágyi, A., Varga, A., "Isolation of Ochratoxin Producing *Aspergilli* from Green Coffee Beans of Different Origin", *Cereal Research Communications*, Fifth European *Fusarium* Seminar, 25, 1997, No3/1.
15. Azaz, A.D., "An Investigation into the Microbial Flora of Field Soils in the Gap (Southeastern Anatolia Project) Irrigation Area of Harran Plain", *Tr. J. Botany* 21, (1997), 165-172
16. Frank, H.K., "Food Contamination by Ochratoxin A in Germany", *International Agency for Research on Cancer (IARC)*, (1991), 77-81.
17. Sarıgül, N., "Çekirdeksiz Kuru Üzümlerde Potansiyel Okratoksijenik Küflerin İzolasyonu ve İdentifikasyonu", Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, (2000).
18. Özkale, E., "Manisa ve Yöresi Sultani Çekirdeksiz Üzüm bağlarının Genel Küf Florası ve Okratoksijenik Küf Varlığının Saptanması", Yüksek Lisans Tezi, Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Manisa (2000).
19. Efendiler, H., "İzmir ve Manisa İllerindeki Çeşitli Çekirdeksiz Kuru Üzüm bağlarında potansiyel Okratoksijenik Küflerin İzlenmesi", Yüksek lisans Tezi-Bornopva, İzmir, (2000).
20. Richard, J.L., Plattaner, R.D., May, J., Liska, S.L., "The occurrence of Ochratoxin A in Dust Collected from a Problem", *Mycopathologia* 146, (1999), 99-103
21. Abarca, M.L., Bragulat, M.R., Castellá, G., Accensi, F., Cabañes, F.J., "New Ochratoxigenic Species in the Genus *Aspergillus*", *J. Food Protec.*, Vol. 60, No. 12 pp., (1997), 1580-1582.
22. Varga, J., Kevei, E., Palágyi, E., Toth, B., Teren, J., "Genetic Variability within The Toxigenic *Petromyces* Genus, Fifth European *Fusarium* Seminar, (1997), 285-289.
23. Chelack, W.S., Borsa, J., Szekely, J.G., Marquardt, R.R., Frolich, A.A., "Variants of *Aspergillus alutaceus* var. *alutaceus* (formerly *Aspergillus ochraceus*) with Altered Ochratoxin A Production", *Appl. And Environm. Microbiol.* Sept. (1991), 2487-2491.

24. Chelkowski, J., Samson, R.a., Wiewiorowska, M., Golinski, P., "Ochratoxin A formation by isolated strains of the conidial stage of *Aspergillus glaucus* Link ex Grey (= *Eurotium herbarum* Wiggers Link ex Grey) from cereal grains" *Die Nahrung*, 31, (1987), 4,267-269.
25. Krough, P., "Causal Associations of Mycotoxic Nephropathy, *Acta Patho. Microbiol. Scand. Section D*, 269(suppl.), (1978), 1-28.
26. Frank, H.K., "Risk Estimation for Ochratoxin A in European Countries", *International Agency for Research on Cancer (IARC)*, (1991), 321-325.
27. Jørgensen, K., Rasmussen, G., Thorup, I., "Ochratoxin A in Danish Cereals 1986-1992 and Daily Intake by The Danish Population", *Food additives and Contaminants*, 13,1, (1996), 95-104.
28. Marquardt, R.R., Frochlich, A.A., "A review of recent advances in understanding ochratoxicosis", *J. Anim. Sci*, 70:12, (1992), 3968-3988.
29. Škrinjar, M., Dimić, G., "Ochratoxigenity of *Aspergillus ochraceus* group and *Penicillium verrucosum* var. *Cyclopium* Strains on Various Media", *Acta Microbiologica Hungarica*, 39:(3-4), (1992), 257-261.
30. Krivobok, S., Seigle-Murandi, F., Steiman, R and Creppy, E.E., "Fungal flora and Ochratoxin-A Production in various Food and Feed in France", *System. Appl. Microbiol.*, 18, (1995), 455-459.
31. Madhyastha, M.S., Marquardt, R.R., Frolich, A.A., "Growth and ochratoxin production of *Aspergillus alutaceus* on seed of wheat and rapeseed cultivars", *Can. J. Plant Sci*, 73: (1993), 163-166.
32. Ueno, Y., Kawamura, O., Sagiura, Y.Y., Horiguchi, K., Nakajima, Y., Yamamoto, K., Sato, S., "Use of Monoclonal Antibodies, Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay and Immunoaffinity Column Chromatography to Determine Ochratoxin-A in Porcine Sera, Coffee Products and Toxin Producing Fungi" IARC-Science Publishers, (1991), 115:71-75.
33. Filtenborg, O., Frisvad, J.C., Svendsin, J.A., "Simple Screening Method for Mold Producing Intracellular Mycotoxins in Pure cultures", *Applied and Environmental Microbiology*, 45:2, (1983), 581-585.
34. Committee on Toxicity of Chemicals in Food, Consumer Product and the Environment "Ochratoxin a in Dried Vine Fruits", Department of Health, 1997.
35. Zohri, A.A., Khayria, M.A., "Survey of Mycoflora and Mycotoxins of some dried fruits in Egypt", *J. Basic Microbiology*, 33: 4, (1993), 279-288.

36. Ege İhracatçı Birlikleri, 1998 İktisadi Raporu, 1998 c, İzmir Ticaret Borsası, 1998.
37. NDFTA, The Formation of OT-A in Dried Vine Fruits, October, 1998.
38. Flieger, A., Dörrenhaus, A., Golka, K., Schulze, H., Föllman, W., "Genotoxic Effect of The Mycotoxin Ochratoxin a in Cultured Human Urothelial Cells", *Occupational Hygiene*, 4 (3-6), (1998), 297-307.
39. Peraica, M., Domijan, A.M., Fuchs, R., Lucic, A., Radic, B., "The Occurance of Ochratoxin A in blood in general population of Croatia", *Toxicol Lett*, Oct, 29:110 (1-2), (1999), 105-112.
40. Solti, L., Salamon, F., Barna-Vetró, I., Gyöngyösi, Á., Szabó E., Wölfling, A., "Ochratoxin A Content of Human Sera Determined by a Sensitive Elisa", *Journal of Analytical Toxicology*, 21:1, Jan/Feb, (1997), 44-48.
41. Refai, M.K., Aziz, N.H., El-Far, F., Hassan, A.A., "Detection of ochratoxin Produced by *A.ochraceus* in Feedstuffs and its Control by γ Radiation", *Appl.Radiat.Isot.*, 47, (1996), 617-621.
42. Geisen, R., Glenn E., Leistner, L., Two "*Penicillium camembertii* mutants affected in the production of cyclopiazonic acid", *Appl. Environ. Microbiol.*, 56, (1998), 3587-3590.
43. Basilico, MZ., Basilico JC., "Inhibitory Effects of Some Spice essential Oils on *Aspergillus ochraceus* NRRL 3174 growth and ochratoxin", *Lett. Appl. Microbiol.*, 29, (1999), 238-41.
44. Creepy, E.E., Baudrimont, I.A-M., "How Aspartam prevents the toxicity of Ochratoxin A", *Toxicol*, 23(suppl. 2), (1998), 165-172.
45. Dirheimer G., Creepy E.E., "Mechanism of action of ochratoxin A", *IARC Sci Publ*, 115,(1991), 171-186.
46. Belmadani A., Steyn, P.S., Tramu G., Betbeder A.M., Baudrimont I., Creepy, E.E., "Selective toxicity of Ochratoxin A in primary cultures from different brain regions", *Arch. Toxicol.*, Mar, 73: 2, (1999), 108-114.
47. Turner, W.B., "Fungal Metabolites", Academic Press, London, 1971, 120-121.
48. Marquardt, R.R., Frochlich, A.A, Abramson, A., "Ochratoxin-A: an Important Wesern Canadian Storage Mycotoxin, *Can. J. Of Physiol. Pharmacol.* 68: (1990), 991-999.
49. Hadidane, R., Bacha, H., Creepy, E.E., Hammami, M., Ellouze, F., Dirheimer, G., "Isolation and Structure determination of natural

analogues of mycotoxin Ochratoxin A produced by *Aspergillus ochraceus*", *Toxicology*, 76, (1992), 233-243.

50. Schwerdt G., Freudinger, R., Silbernagl, S., Genkle, M., "Ochratoxin A binding proteins in Rat Organs and Plasma and in Different cell Lines of The Kidney", *Toxicology*, July, 1,135:1, (1999),1-10.

51. European Commission, Directorate-Generale VI, "VI.B.II.1 Legislation relating to Crop Products and Animal Nutrition" Agriculture Public Animal and Plant Health, 1999.

52. IARC Anticipated Carcinogens: "Ochratoxin A", file:///A/Ochratoxin-a.htm, WHO/IARC, IARC Scientific Publications No.10, (1976).

53. World Health Organisation Toxicological evaluation of certain food additives and contaminants. WHO Food Additives Series,(1991), 28:365-417.

54. Scott, P.M., Kanhere, S.R., Lau, B.P., Lewis, D.A., Hayward, S., Ryan, J.J., Kuiper-Goodman, T., "Survey of Canadian Human Blood Plasma for Ochratoxin A", *Food Addit Contam.*, Jul, 15:5, (1998), 555-562.

55. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, "A Survey of Human Exposure to Ochratoxin A", *Food Safety information Bulletin*, April, 172, (1999),1-13.

56. Skaug, M.A.; Eduard, W.; Størmer, F.C., "Ochratoxin A in airborne dust and fungal conidia" *Mycopathologia*,151:2, (2001), 93 – 98.

57. Kuiper-Goodman, T., Scott, P.M., "Risk Assessment of The Mycotoxin Ochratoxin A", *Biomed. Environ. Sci.*, 2, (1989), 179-248.

58. Hohler, D., Sudekum, K.H., Wolfram, S., Frochlich, A.A., Marquardt, R.R., "Metabolism and excretion of Ochratoxin A Fed to Sheep", *J. Anim. Sci.*, , May, 77:5, (1999), 1217-23.

59. Pohland, A.E., Nesheim, S., Friedman, L., "Ochratoxin A: A Review (Technical Report)", *International Union of Pure and Applied Chemistry, Applied Chemistry Division, Commission on Food Chemistry, IUPAC*, (1992), 1029-1046.

60. Gentles, A., Smith, E.E., Kubena, L.F., Duffus, E., Johnson, P., Thompson, J., Harvey, R.B., Edrington, T.S., "Toxicological evaluations of Cyclopiazonic acid and Ochratoxin A in Broilers", *Poult Sci*, Oct, 78:10, (1999), 1380-4.

61. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, 1998 "Survey of Retail Products For Ochratoxin A", *Food Safety information Bulletin*, November, 185, (1999),1-15

62. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, "Survey of Aflatoxins and Ochratoxin A in Cereals and Retail Products", *Food Safety Information Bulletin*, November, 130, (1997), 1-9.
63. Jørgensen, K., "Survey of pork, poultry, coffee, beer and pulses for Ochratoxin A", *Food Addit Contam.*, Jul, 15:5, (1998), 550-554.
64. Visconti, A., Pascale M., Centonze, G., "Determination of Ochratoxin A in Domestic and Imported Beers in Italy by Immunoaffinity Clean-up and Liquid Chromatography", *Journal of Chromatography A*, 888 (2000) 321-326.
65. Codex Alimentarius Commission, Position Paper on Ochratoxin A, Joint FAO/WHO Food Standards Programme, Codex Committee on Food Additives and Contaminants, Agenda Item 14 (a), November (1998), 1-9.
66. Int. Agency Cancer Research, "IARC Monographs On The Evaluation Of Carcinogenic Risks To Humans: Some Naturally Occurring Substances: Food Items and Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins", *International Agency for Research on Cancer* (Publisher), Geneva, (1993), 489-521.
67. IARC (Int. Agency Cancer Research), WHO/IARC, IARC Scientific Publications No.7 (1987).
68. ROC (Report on Carcinogens, "Reasonably Anticipated To Be Carcinogen: Ochratoxin A (Cas No. 303-47-9)", *NTP (National Toxicology Program) Eighth Report on Carcinogens*", 2001,
69. ÜnlüTürk, A., Turantaş, F., "Gıda Mikrobiyolojisi" Mengi Tan Basımevi, Birinci baskı, 1998.
70. Moreau C., "Moulds, Toxins and Food", A Wiley Interscience Publication New York, 1985, 174-189.
71. Varga, J., Teren, J., "Recent Progress in Mycotoxin Research", *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 46(2-3), (1999), 233-243.
72. Woloshuk, C.P., Mainer, D.E., "Blue Eye in Corné, Purdue University Extension Service, Grain Quality Fact Sheet 18, September 16, Indiana, 1994.
73. Food Safety and Hygiene, "A bulletin for the Australian Food Industry", February-1998, Food Science Australia Information Services, 1998.
74. De Koe, W.J., "Regulations of the European Union for mycotoxins in foods", *Arh. Hig. Rada. Tokiol.*, March, 50:1, (1999), 37-46.

75. WHO publications: Food Safety, "Summary of Evaluations Performed by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA)", (1996), 284.
76. Bridson E.Y., "The Oxoid Manual", 6th Edition, Unipath Limited, Hampshire, England, 1990.
77. Merck KGaA, Laboratory Product Division, D-64271 Darmstadt, 1996.
78. Difco Laboratories, Detroit, MI, 48232-7058 USA, EXPL 1997.
79. Gams, W., van der Aa, H. A., van der Plaats-Niterink, A.J., Samson, R.A., Stalpers, J.A., "CBS Course of Mycology", Institute of Royal Netherlands Academy of Arts and Sciences, Centraalbureau Voor Schimmelcultures, Baarn, Third Edition, 1987, p136.
80. Rhone Diagnostics Technologies, "Application Note for Analysis of OT-A in Dried Fruit Using Ochraprep", Ref. NO: A2,"p14,VI., (1998).
81. TAMSOP3, "Kuru Meyvelerde Okratoksin-A Saptanması (SOP3)", Tariş Arge Müdürlüğü, (2001), 1-10.
82. Martin, J.P., "Use of acid, Rose Bengal and Streptomycin in Plate Method for Estimating Soil Fungi", *Soil Science* 69, (1949), 215-232.
83. Raper, K.B., and Fennell, D.I., "The genus *Aspergillus*", The Williams and Wilkins Company, Baltimore, 1965.
84. Domsch, K.H., Gams, W., Anderson, T.H., Compendium Of Soil fungi, Academic Press, London, 1980.
85. Samson, R.A., Hoekstra, E.S. and Oorschot, C.A., "Introduction to food-borne fungi". Centraalbureau Voor Schimmelcultures. Baarn, Delft, 1981.
86. Von Arx, J.A., "The genera of fungi sporulating in pure culture", A.R., Gartner Verlag K.G., F.L., 9490 Vaduz, Printed in Germany by Strauß and Cramer GmbH D-6901, Leutershausen, 1974.
87. Samson, R.A., Pitt, J.I., "Modern Concepts in Penicillium and *Aspergillus* Classification", Plenum Press, New York, 1990.
88. Hasenekeoğlu, İ., Toprak Mikrofungusları.II, Atatürk Üniversitesi Yayınları No.689, Kazım Karabekir Eğitim Fakültesi Yayınları No.11, 1991.
89. Raper, K.B., and Thom, C., "A manual of the Penicillia" The Williams and Wilkins Company, Baltimore, 1949.

90. Fassatiová O., "Moulds and Filamentous Fungi in Technical Microbiology", Elsevier, Amsterdam, 1986
91. Hasenekeoğlu, İ., Toprak Mikrofungusları.V, Atatürk Üniversitesi Yayınları No.689, Kazım Karabekir Eğitim Fakültesi Yayınları No.11, 1991.
92. Barnett, H.L., "Illustrated genera of imperfect fungi", Burgess Publ. Co., Library of Congress Catalog No. 60, Minneapolis,U.S.A., 1960,12998.
93. Hasenekeoğlu, İ., Toprak Mikrofungusları.IV, Atatürk Üniversitesi Yayınları No.689, Kazım Karabekir Eğitim Fakültesi Yayınları No.11, 1991.
94. Buttler, E.E., Mann, M.P., "Use of cellophane for mounting and photographing Phytopathogenic fungi", *Phytopat.* 49, (1959), 231-232.
95. Gerhardt, P., Murray,R.G.E., Wood, W.A., Noel, R.K., "Methods for General and Molecular Bacteriology, 1994.
96. Pelczar, M.J., Chan, E.C.S., "Laboratory Exercises in Microbiology" Mc Graw-Hill Book Company, Fourth Edition, 1977.
97. Shotwell, O.L., Hesseltine, C.W., Stubblefield, R.D.,Sorenson, W.G., "Production of Aflatoxin on Rice. *Applied Microbiology*, 14,3,(1996), 425-428.
98. Eltem, R., Öner, M., "Salamura Tipi Sofralık Siyah Zeytinlerin Küf Florasının İncelenmesi", *Tr. J. of Biology*,20, (1996),251-256.
99. Castegnaro, M. et al., "Laboratory Decontamination and Destruction of Aflotoxins B1, B2, G1 and G2 in Laboratory Wastes", WHO/IARC, IARC Scientific Publications (1989), No 37.
100. Ciegler, A., Lee, L.S., Dunn, J.J.,"Production of Naphthoquinone Mycotoxins and Taxonomy of *Penicillium viridicatum*", *Appl. Environm, Microbiol.*, 42, (1981), 446-449.
101. Van Egmond, H.P., "Analytical Methodology and Regulations for Ochratoxin A", *Food Additives and Contaminants*, 13, Supplement, (1996), 11-13.
102. Stevenson,D., "Immuno-Affinity Solid-Phase Extraction", *Journal of Chromotography B*, 745 (2000) 39-48.
103. Varga J., Rigo,K.,Teren, J.,"Degradation of ochratoxin A by *Aspergillus* species", *Int J Food Microbiol* 59:(1-2), 2000 Jul 25;1-7.

104. Biancardi, A., Riberzani, A., "Determination of Ochratoxin A in Cereals and Feed by Sax-Spe Clean-up and LC Fluorimetric Detection", *J.Liq. Chrom & Rel. Technol.*, 19: 15, (1996), 2395-2407.

105. De Saeger, S., Sibanda, L., Desmet, A., Van Peteghem, C., "A Collaborative Study to Validate Novel Field Immunoassay Kits for Rapid Mycotoxin Detection"

106. Solfrizzo, M., Avantaggiato, G., Visconti, A., "Use of various clean-up procedures for analysis of ochratoxin A in cereals" *Journal of Chromatography A*, 815, (1998), 67, 73.

107. Jornet, D., Busto, O., Guasch, J., "Solid-Phase Extraction Applied to The Determination of Ochratoxin-A in Wines by Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography", *Journal of Chromatography A*, 882, (2000) 29-35.

108. Hasenekeoğlu, İ., *Toprak Mikrofungusları.VI*, Atatürk Üniversitesi Yayınları No.689, Kazım Karabekir Eğitim Fakültesi Yayınları No.11, 1991.



**TE. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
BİRDİMANTASYON MERKEZİ**