



**T.C.  
RİZE ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**RİZE'DE ÇAY İŞLEME AŞAMALARINDA İZOLE EDİLEN  
MAYA MANTARLARININ TANIMLANMASI**

**Hacer TAŞKIRAN**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**RİZE-2011**

**T.C.  
RİZE ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**RİZE'DE ÇAY İŞLEME AŞAMALARINDA İZOLE EDİLEN  
MAYA MANTARLARININ TANIMLANMASI**

**Hacer TAŞKIRAN**

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Şengül ALPAY KARAOĞLU

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**RİZE 2011**

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

RİZE'DE ÇAY İŞLEME AŞAMALARINDA İZOLE EDİLEN MAYA  
MANTARLARININ TANIMLANMASI

Hacer TAŞKIRAN

YÜKSEK LİSANS

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 13/06/2011  
Tezin Savunma Tarihi : 20/07/2011

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Şengül ALPAY KARAOĞLU  
Jüri Üyesi : Doç. Dr. İlknur TOSUN  
Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. Elif SEVİM

Enstitü Müdürü: Doç. Dr. Fatih YILMAZ



RİZE 2011

## ÖNSÖZ

Rize’de Çay İşleme Aşamalarından İzole Edilen Maya Mantarlarının Tanımlanmasını amaçlayan bu çalışma Rize Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda ‘Yüksek Lisans Tezi’ olarak hazırlanmıştır.

Yüksek lisans tez danışmanlığımı üstlenerek, gerek konu seçimi gerekse çalışmaların her aşamasında titizlikle yürütülmesinde ve değerlendirilmesi sırasında yardımlarını ve ilgisini esirgemeyen Rize Üniversitesi Moleküler Biyoloji Ana bilim Dalı Başkanı sayın hocam Doç. Dr. Şengül ALPAY KARAOĞLU’na şükranlarımı sunmayı bir borç bilirim.

Bu çalışmayı yapabilmem için her türlü laboratuvar imkanlarını kullanmamı sağlayan Karadeniz Teknik Üniversitesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı, sayın Prof. Dr. Ali Osman BELDÜZ’e, laboratuvarında çalışmamızda teknik yardımlarını ve güler yüzünü esirgemeyen Araştırma Görevlisi Kadriye İNAN’a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yaptığım tüm araştırmalarda her zaman maddi ve manevi desteğini esirgemeyen Rize Ticaret Borsası Başkanı Mehmet ERDOĞAN’a ve Laboratuvar Müdürüm İsmail HAKKI SOBA’ya teşekkürlerimi borç bilirim.

Tez çalışmalarımın hem laboratuvar hem de yazım aşamalarında bana her zaman yardım eden Rize Üniversitesi Biyoloji Bölümü öğrencisi Emel UZUNALIOĞLU’na sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Akademik çalışma yapabilmem için bu aşamaya gelinceye kadar bana daima destek olan öncelikle fedakâr anneme ve aileme minnet, şükranlarımı sunarım.

Tezin hazırlanması aşamalarında deney sonuçlarının fotoğraf çekimleriyle katkı yapan, sabırla, anlayışla bitirmem için elinden gelen destek ve fedakarlığını esirgemeyen her zaman yanımda olan en büyük destekçim sevgili eşim Vedat GENC’e çok teşekkür ederim.

Bu Yüksek Lisans Tez çalışması Rize Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeler Birimi tarafından “Rize’de Çay İşleme Aşamalarında İzole Edilen Maya Mantarlarının Tanımlanması” başlıklı ve 2010.102.03.1 Nolu proje olarak desteklenmiştir.

**Hacer TAŞKIRAN**

**Rize, 2011**

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ.....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
ÖZET.....	V
SUMMARY.....	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
TABLolar DİZİNİ.....	IX
SEMBOLLER DİZİNİ.....	X
1. GENEL BİLGİLER .....	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Mantarların Genel Özellikleri.....	3
1.2.1. Karbon Metabolizması.....	7
1.2.2. Azot Metabolizması.....	8
1.2.3. Mantarların Fizyolojik Özellikleri.....	8
1.3. Mantarların Tarihçesi ve Sınıflandırılması.....	10
1.4. Mantarlarda Üreme Özellikleri.....	11
1.4.1. Eşeyli (Vegetatif) Üreme .....	11
1.4.2. Eşeyli Üreme.....	12
1.5. Mantarların Yayılışı.....	13
1.6. Maya Mantarlarının Genel Özellikleri.....	13
1.6.1. Maya Mantarlarının Sınıflandırılması.....	18
1.6.1.1. Askomiçetöz ( Ascomycota) Mayalar .....	18
1.6.1.2. Bazidiomycetöz ( Basidiomycota) Mayalar.....	20
1.7. Maya Mantarlarının Tanımlanmasında Kullanılan Bazı Kriterler.....	21
1.8. Mayalarda Üreme.....	21
1.8.1. Mayalarda Eşeyli(Aseksüel) Üreme.....	21
1.8.2. Mayalarda Eşeyli (Seksüel) Üreme.....	23
1.9. Mantar Hücrelerinde Ölüm.....	23
1.10. Mantarların Önemi.....	25
1.11. Çay Bitkisi Botanikteki Yeri ve Çeşitleri.....	25
1.12. Literatür Çalışması.....	28

2.	YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	33
2.1.	Kullanılan Araç Gereç ve Sarf Malzemeler .....	33
2.2.	Kullanılan Kontrol Suşlar ve Suşların Saklanması.....	34
2.3.	Kullanılan Ayıraçlar ve Boyalar.....	34
2.3.1.	Safranin Solsusyonu.....	34
2.3.2.	Malaşit Yeşili Boya Solusyonu.....	34
2.3.3.	Kovac's Ayıracı.....	34
2.3.4.	Metil Kırmızısı Ayıracı.....	35
2.3.5.	Voges- Proskauer Ayıraçları.....	35
2.3.6.	Lugol Solusyonu.....	35
2.3.7.	1N'lik NaCl Çözeltisi.....	35
2.3.8.	Kongo Kırmızısı.....	36
2.4.	Çalışmada Kullanılan Besiyerleri.....	36
2.4.1.	Potato Dekstroz Agar (PDA) Besiyerinin Hazırlanması.....	36
2.4.2.	Malt Ekstrat Agar (MEA) Besiyerinin Hazırlanması.....	36
2.4.3.	Nutrient Yeast Dektroz Agar (NYDA) Besiyerinin Hazırlanması.....	37
2.4.4.	Slime Agar (SA) Besiyerinin Hazırlanması.....	37
2.4.5.	Glukoz Pepton Yeast Ekstrat (GYPA) Agar ve Sıvı (GYPB) Besiyerleri.....	37
2.4.6.	Kligger Agar Besiyerinin (KIA) Hazırlanması.....	38
2.4.7.	Üre Agar Hazırlanması.....	39
2.4.8.	Nitrat Redüksiyon Testi.....	39
2.4.9.	%50 ve %60 Glukoz Agar.....	40
2.4.10.	Nişasta (Starch) Üretme Testi.....	40
2.4.11.	Esculin Sıvı Besiyeri Hazırlanması.....	41
2.4.12.	Fermentasyon Test Besiyeri.....	41
2.4.13.	İndol Test Besiyeri.....	41
2.4.14.	Metil Kırmızısı/Voges-Proskauer (MR-VP) Besiyeri.....	42
2.4.15.	Sitrat Agar Besiyeri.....	42
2.4.16.	Karboxymethyl Cellulose (CMC) Agar.....	43
2.4.17.	Jerm Tüpü Oluşumu.....	43
2.4.18.	Spor Boyama.....	44
2.4.19.	Farklı Sıcaklıklarda Üreme Özelliği.....	44
2.4.20.	Sıcaklık Tolerans Testi.....	44

2.4.21.	Vitek YBC Doğrulama Testi.....	44
2.5.	Materyal Temini.....	45
2.6.	Mayaların Tanımlanması.....	45
2.6.1.	Morfolojik ve Mikroskopik Tanımlama.....	45
2.6.2.	Kimyasal ve Fiziksel Özelliklerine Göre Tanımlama.....	46
3.	BULGULAR.....	48
4.	TARTIŞMA .....	72
5.	SONUÇ VE ÖNERİLER.....	82
	KAYNAKLAR.....	84
	ÖZGEÇMİŞ.....	93

## ÖZET

Bu çalışmada, siyah çay işleme aşamalarında izole edilen maya mantarlarının tanımlanması ve bir dizi özelliklerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada toplam 72 maya izolati karakterize edildi ve konveksiyonel yöntemler ile Vitek YBC testi kullanılarak tür tanıları yapıldı. Bu izolatların %18'inde slime aktivitesi pozitifliği, %51,4'ünde hifa ya da pseudohifa varlığı ve %40,0'ında sikloheksimit direnci belirlendi. Suşların 70'inde %50 glikoz, 67'si %60 glikoz varlığında üreyebildiği, %44,4'ünün ise her iki ortamda da iyi üreyebildiği (ozmotolerant) gözlemlendi. Üreme sıcaklıklarına bakıldığında 45 °C'de üreyemedikleri ancak, 42 °C'de %36,1'in üreyebildiği ve 25-37 °C ve altında ise tümünün ürediği belirlendi. Suşların sıcaklığa toleransı araştırıldığında, 60°C'de 10 dakikada %100'nün, 80 °C'de %40,3'ünün ve 100 °C'de ise %6,9'unun canlılığını koruduğu tespit edildi. Şuşların %51,4'ü test edilen 10 farklı karbonhidrattan en az birini, RÇM 17C ise 7 farklı karbon kaynağını fermente edebildiği belirlendi. Enzim aktivitelerine bakıldığında suşların %34,7'si üreaz, %97'si selüloz aktivitesi sahip oldukları ve %20,8'si ise glikozdan nişasta üretebildiği tespit edildi.

Çalışmada hızlı tanı testi (Vitek YBC) kullanıldı ve izolatların 71'i, %50-99 doğrulukta tanımlanırken bir izolat tanımlanamadı. Beş farklı cins (*Candida*, *Geotrichum*, *Cryptococcus*, *Saccharomyces* ve *Trichosporan*) ve 13 farklı tür tespit edildi. En sıklıkta rastlana türler sırasıyla *Candida tropicalis* (%27,7), *C. famata* (%13,8), *C. krusei* ile *Cryptococcus laurentii* (%11,1), *Candida parapsilosis* (%9,7) olarak gözlemlendi. Ayrıca %2,8 oranında *Saccharomyces cerevisiae* ve *Trichosporan pulluans* belirlendi.

Yapılan çalışma sonucunda çay işleme aşamalarında maya mantarlarının varlığı ve bu maya mantarlarının ekonomik önemi olan birçok özelliğe sahip oldukları gözlemlendi.

**Anahtar Kelimeler:** Siyah çay, Maya mantarı, Biyokimyasal identifikasyon, Vitek -YBC



## SUMMARY

### Identification of yeast fungi isolated from tea processing levels in Rize

In this study, identification of several characteristics of yeast fungi isolated from black tea processing levels was intended.

In this study, total 72 yeast isolates were characterized and species diagnoses using Vitek YBC test with conventional techniques were made. Of those, positive activity of the slime at 18 percent, presence of hypha or pseudohypha at 51.4 percent and cycloheximide resistance at 40 percent were determined. It was observed that could breed in the presence of glucose 50 percent of 70 and 60 percent of 67 of strains and breed well 44.4 percent in both environments. Considering the reproductive temperature, it was identified that they could not growth at 45°C but growth 36.1 percent at 42°C and could growth all of them at 25-37°C. Temperature tolerances of the strains were found living of 100 percent at 60°C, 40.3 percent at 80°C and 6.9 percent at 100°C. 51.4 percent of the strains could ferment at least one of ten different carbohydrates tested but RÇM 17C could ferment 7 different carbon source. It was found that had enzyme activities urease 34.7 percent, cellulose 97 percent and 20.8 percent of the strains could produce starch from glucose.

The rapid diagnostic test (Vitek YBC) was used in this study and 71 of isolates identified accuracy between 50-99 percent but 1 isolate could not identify. Five different genres (*Candida*, *Geotrichum*, *Cryptococcus*, *Saccharomyces* and *Trichosporan*) and 13 different species were identified. The most frequently encountered species, respectively, *Candida tropicalis* (27.7 %), *C. famata* (13.8 %), *Cryptococcus laurentii* with *C. krusei* (11.1 %), *Candida parapsilosis* (9.7 %) were found. Furthermore, *Saccharomyces cerevisiae* and *Trichosporan pulluans* were found at the rate of 2.8 percent.

In the result of this study was found presence of yeast fungus at tea processing stages and several economic features of them.

**Key Words:** Black tea, Yeast fungi, Biochemical identification, Vitek- YBC

## ŞEKİLLER DİZİNİ

### Sayfa No

Şekil 1. Maya mantarlarının yapı ve organelleri.....	14
Şekil 2. Maya mantarlarının bazı koloni görünüşleri ve renkleri.....	15
Şekil 3. Maya mantarlarında tomurcuklanma görünüşleri.....	15
Şekil 4. Maya morfolojilerinin terminolojik diyagramı.....	16
Şekil 5. Askomiçetöz mantarlarda askospor ve askus oluşumu.....	18
Şekil 6. Bazidiomiçetöz mantarlarda bazidium ve bazidiospor oluşumu.....	20
Şekil 7. Maya identifikasyonunda kullanılan testlerin görünüşü.....	46
Şekil 8. Kullanılan besiyerlerinde maya kültürleri.....	51
Şekil 9. <i>Candida tropicalis</i> , RÇM 18A <sub>2</sub> , jerm tüpü görünüşü.....	52
Şekil 10. <i>Candida tropicalis</i> , RÇM 4A <sub>x</sub> , çimlenme ve ballitospor görünüşü. ....	53
Şekil 11. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , HTM 16, askospor görünüşü .....	53
Şekil 12. <i>Cryptococcus laurentii</i> , HTM 18, artrospor görünüşü .....	54
Şekil 13. Maya izolatlarının karbonhidrat fermentasyon testlerinin görünüşü.....	57
Şekil 14. Bazı biyokimyasal testlerin görünüşü.....	57
Şekil 15. Üreaz besiyeri görünüşü.....	60
Şekil 16. Nişasta Üretimi Besiyeri görünüşü.....	60
Şekil 17. Selülaz üretimi testi görünüşü .....	61
Şekil 18. Vitek doğrulama kitinin alt ve üst taraftan görünüşü.....	61
Şekil 19. <i>Candida tropicalis</i> , RÇM 38B, kültür görünüşü.....	66
Şekil 20. <i>Candida parapsilosis</i> , RÇM 4A <sub>1</sub> , kültür görünüşü.....	67
Şekil 21. <i>Cryptococcus humicolus</i> , RÇM 4A <sub>2</sub> kültür görünüşü.....	67
Şekil 22. <i>Geotrichum capitatum</i> , RÇM 9B, Jerm tüpü kültür görünüşü .....	68
Şekil 23. <i>Candida albicans</i> , RÇM 37D, kültür görünüşü.....	68
Şekil 24. <i>Candida lusitanae</i> , RÇM 7B, daki kültür görünüşü.....	69
Şekil 25. <i>Candida guilliermondii</i> , RÇM 19B1, kültür görünüşü.....	69
Şekil 26. <i>Trichosporon pullulans</i> , HTM 28, kültür görünüşü.....	70
Şekil 27. <i>Cryptococcus luteolus</i> , RÇM 21B kültür görünüşü.....	70
Şekil 28. <i>Candida krusei</i> , RÇM 86H kültür görünüşü.....	71

## TABLolar DİZİNİ

	<b><u>Sayfa No</u></b>
Tablo 1. Fungal hücre duvarlarındaki başlıca polimerler.....	6
Tablo 2. Maya mantarlarının sınıflandırılması .....	19
Tablo 3. Mayaların vejetatif üreme şekilleri .....	22
Tablo 4. Çay numunelerinin alındığı noktalar ve maya izolasyon sayısı.....	48
Tablo 5. İzole edilen maya suşlarının morfolojik özellikleri.....	49
Tablo 6. Maya izolatlarının çeşitli özellikleri.....	55
Tablo 7. Maya suşlarının biyokimyasal özellikleri.....	58
Tablo 8. Maya suşlarının vitek testine göre tanımlama sonuçları.....	62
Tablo 9. Vitek doğrulama test sonuçlarına göre cins ve tür dağılımı.....	65
Tablo 10. Siklohegzimit direnci pozitif olan türlerin dağılımı.....	66

## SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ

$\mu\text{m}$	: Mikrometre
$^{\circ}\text{C}$	: Santigratderece
dk	: Dakika
$\geq, \leq$	: Büyük ve Küçük eşittir
%	: Yüzde
Å	: Amstrong
ark.	: ve arkadaşları
kDa	: Kilodalton
cm	: Santimetre
m	: Metre
Hsps	: Isı şoku proteinleri
$a_w$	: Su aktivite değeri
PDA	: Potato Dekstroz Agar
HTM	: Hacer Taşkiran Maya Suşları
RÇM	: Rize Çay Maya Suşları
SDA	: Saboraud Dextrose Agar
DBRC	: Dichloran Rose Bengal Agar
KIA	: Kligger Iron Agar
YEB	: Yeast Eksrat Broth
MEA	: Malt Eksrat Agar
GYPA	: Glukoz Pepton Yeast Agar
NYDA	: Nutrient Yeast Dextroz Agar
SA	: Slime Agar
NaCl	: Sodyum klorür
BHI	: Beyin Kalp İnfüzyonu
$\text{KNO}_3$	: Potasyum Nitrat
TSIA	: Triple sugar iron agar
$\text{K}_2\text{HP0}_4$	: Di-potasyum hidrojen fosfat
NaOH	: Sodyum hidroksit
NADH	: Nicotineamide Adenine Dinukleotid
FAD	: Flavin adenine dinucleotide

MP	:Monopolar
ML	: Monolateral
BP	: Bipolar veya bilateral,
MTP	:Multipolar veya multilateral,
Glu	:Glukoz
Gal	:Galaktoz
Mlt	:Maltoz
Lak	:Laktoz
Suk	:Sükroz
Mel	:Mellobioz
Cel	:Sellobioz
Raf	:Rafinoz
Sel	:Selülaz
Niü	:Nişasta üretimi
Vp	:Voges proskaver,
Mr	:Metilred
Nat	:Nitrat
Nit	:Nitrit
K1a	: Üç şeker
Esc	: Eskulin hidrolizi
Sit	:Sitrat
Üre	:Üreaz aktivitesi
İn	:İndol
A/Alk*	: 24-48 saatteki sonucu
NT	: Test edilemedi.
Amg	: Metil D-glikozit,
Xyl	: Ksilol
Ara	: Arabinoz,
Tre	: Trehaloz,
Mlz	: Melezitoz,
Raf	: Rafinoz,
Nag	: N-acetil glukozamin
Dul	: Dulkitol

Ado	:Adonitol
Pal	: Palatinoz
Gly	: Gliserol
Sor	: Sorbitol
Ery	: Eritrol
Mel	:Mellebiyoz
Cyc	:Siklohekzimit
Glu	:Glukoz
Ino	:Inositol
Nit	:Nitrat
2kd	:2-keto-D-glukonat,
Ure	:Ure medium
*	: Kapsüllü.
**	: Hidrofobik özellik
+*	: 48. Saat sonunda pozitif olanlar
+ <sup>b</sup>	: Ballitospora sahip olan

## 1. GENEL BİLGİLER

### 1.1. Giriş

Antik dönemden beri, mayalar fermentasyon olarak isimlendirilen bir işlem aracılığıyla üzüm suyundan şarap oluşturmada kullanılmıştır. 18.yy.da Fransız kimyacı Antonie Lavoisier (1734-1794), şekerleri fermentasyonla etanole dönüştürüldüğünü göstermiştir. Theodor Schwan (1810-1882) ve Charles Cagniard Latour (1777-1859) mikroskobik olarak fermentasyon karışımını incelemişler tomurcuklanmayla çoğalan küçük kürecikleri kütleli üremeleri sonucu oluşan fermentasyon gücünü gözlemişlerdir (Maheshwari, 2005).

Fransız bilim adamı Lois Pastour (1822-1895) hem kimyasal hem de mikrobiyolojik olarak yaptığı kontrollü ve başarılı çalışmalarıyla alkolik fermentasyona neden olan ajanı *Saccharomyces cerevisiae* olduğunu belirlenmiştir.

Doğada yaklaşık 50.000-100.000 mantar çeşidi bulunmakta olup bunların ancak 200 kadarı bazı koşullarda insan patojeni olmaktadır. Bazı mantarlar ise besin olarak yetiştirilmekte, bazıları da besinlerin hazırlanmasında (şarap, bira gibi) ekmek yapımında, çeşitli enzimleri ve antibiyotiklerin üretiminde kullanılmaktadır. Enzim kullanımı çok eski tarihlere dayanmaktadır. Hatta insanlık tarihinin başlangıç dönemlerinden bu yana işlevleri bilinmeden de kullanılmışlardır.

Maya ve benzeri mikroorganizmalar saprofit veya parazit yaşam süren mikrofunguslardır. Filogenetik olarak oluşturdukları spor şekillerine göre; *Saccharomyces* gibi askospor oluşturanlar askomisetoz (ascomycetous), *Rhodospiridium* gibi bazidiospor oluşturanlar bazidimisetoz (basidiomycetous) ve *Torulopsis* gibi eşeyli üreme fazı olmayanlar fungi imperfect (anamorfic) mantarlar içinde incelenirler. Bazı türleri uygun şartlarda misel (bifazik mantarlar) oluşturur, büyük kısmı ise daima maya (monofazik), bazıları türleri ise maya ya da küf (bifazik) formunda bulunur. Makroskopik olarak mayalar koloni renklerine göre iki gruba ayrılır. Birinci grup türleri pembe, somon veya kırmızı koloni oluşturanlar birkaç istisna dışında bazidiomisetoz içinde yer alırlar. Diğer grup ise beyaz veya krem renkli koloniler içerirler ve bu gruplar hem askomisetoz hem de bazidiomisetoz içinde yer alırlar. Morfolojik şekilleri oval, yuvarlak, limon veya mermi şekillerinde olabilir. Vejetatif üreme formu tomurcuklanma, füzyon veya tomurcuk füzyonu şeklinde gerçekleşir.

Mantarlar heterotrofik organizmalar olup, pH 2-11 ve sıcaklık 0-42 C° aralıklarında üreyebilirler. Bazı cinsler sadece oksidatif metabolizmaya sahiptir, fakat birçok maya cinsi aerobik fazla gelişmeye başlar anaerobik fazla (fermantasyon) devam eder. Gelişmeleri için hem mikro besinlere (iz elementleri, büyüme maddeleri, vitaminler vb.) hem de makro besinlere (enerji ve özümleme için karbon ve azot kaynağı) gereksinim duyarlar. Ekosistemde iyi bir ayrıştırıcı olması, çok sayıda hücre dışı enzim salgılayabilmesi nedeniyle karbon gereksiniminin farklı dış kaynaklarından sağlayabilmektedir (Carlile ark., 2001; Skinner ark., 1980). Mayalar çeşitli karbon bileşiklerini hidroliz/fermente etme yetenekleri, lipaz ve proteinaz üretebilme ve farklı ortam koşullarında gelişebilme kabiliyeti gibi fenotipik özellikler bakımından heterojen mikroorganizmalardır (Petersen ve Jespersen, 2004).

Mayalar yiyecek ve içecek ekosistemlerinde tek kültür olarak nadiren bulunurlar. Genellikle maya, bakteri, filamentous mantar ve virüsler ile karışık habitatlar oluştururlar. Son yıllarda mayaların ekolojik, fizyolojik ve biyokimyasal yapılarının daha iyi anlaşılması, yiyecek ve içecek sektöründeki (bira, ekmek, şarap vb.) önemini daha da arttırmıştır (Viljoen, 2006). Bilinçli tüketici için gıda güvenliği, diyet ve sağlık arasındaki bağlantı önemli ilgi alanını oluşturmakta olup mayalar bu bağlamda da ön plana çıkmaktadırlar.

Bu bilgiler doğrultusunda bölgemizin önemli geçim kaynağı olan ve de ülke ekonomisinde önemli bir yer tutan çayın maya florasının belirlenmesi hem ticari hem de sağlık açısından önemli olacağı düşünülmektedir. Bu amaçla, 2004-2005 yıllarında Çay-Kur'a bağlı iki çay fabrikasından işleme aşamalarında alınan çay örneklerinden ve Rize Ticaret Borsası, Özel Gıda Kontrol Laboratuvarı'na gelen kuru siyah çay numunelerinden izole edilen maya izolatlarının tanımlanması ve çeşitli özelliklerin belirlenmesi hedeflenmiştir. Çay örneklerinde bulunabilen maya türlerinin belirlenebilmesi ve çeşitli özelliklerin araştırılması, mayaların çaydaki önemi açısından bize yol gösterici olacağı, daha kaliteli çay üretiminde fayda sağlayacağı ve endüstriyel alanda önemli olabilecek potansiyel mikroorganizmaların gıda ve enzim sektörüne kazandırılacağı düşünülmektedir.



## 1.2. Mantarların Genel Özellikleri

Mantarlar, Latince’de “Fungus” (tekil), “Fungi” (çoğu) ve Yunanca’da “Myces” sözcüklerinden türetilmiş, ökoryatik ve karbon heterotrof organizmalardır. Mantarları inceleyen bilim dalına mikoloji adı verilir. Daha büyük, daha zehirli ve hakiki çekirdeğe sahip olmaları bakımından bakterilerden, fotosentetik pigmentleri olmadığı için bitki, alg ve *Cynobacteria*’dan ayrılırlar. Mantarlar tek hücreli maya mantarları, çok hücreli iplikli yapı oluşturulabilen küf mantarları ve çok hücreli şapkalı mantarlar olmak üzere üç farklı morfolojik görünüme sahip organizmalardır.

Mikromantarların büyük çoğunluğu hayatlarının tüm evrelerini ya maya ya da küf şeklinde sürdürürler ki bunlara monofazik mantarlar, küçük bir grubu ise 25 °C’de küf, 35°C’de maya formunda bulunurlar ki bunlara difazik mantarlar adı verilir. Difazik mantarlar oda ısısından veya doğada küf olarak, insan vücudunda maya şeklinde bulunurlar, *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis* ve *Sporothrix schenckii* gibi.

Mantar hücreleri çok hücreli ve nükleuslu, genellikle de birden fazla nükleus içeren, klorofilsiz, çoğu zaman renksiz ancak bazı türlerin özellikle çeperlerinde melanin maddesinin birikmesi nedeniyle koyu bir renk içerebilen mikroorganizmalardır. Saprofit veya parazit olarak yaşarlar. Yedek depo maddesi olarak glikojen, yağ ve bazen de mannit biriktirirler, nişasta depo etmezler.

Elektron mikroskopuyla yapılan ince kesitlerin incelenmesi sonucunda hücre duvarının altında üç tabakadan yapılmış ve ünit membran özelliği gösteren, her biri yaklaşık 25-30 amstrong (Å) genişliğinde bir sitoplazmik membran (plazma membranı) bulunur. Geçirgenlik özelliği gösterdiğinden emilim ve salınım da büyük kolaylıklar sağlamaktadır. Yapısında; fosfolipid, protein ve steroller bulunduğu görülmüştür. Proteinlerin çoğunu, substansların geçişlerinde önemli fonksiyonlara sahip olan permeaz enzimlerinden oluşmaktadır. Steroller, amfipatik bir karaktere sahip olup hem polar (suda eriyebilir) ve hem de nonpolar (yağda eriyebilir) bölgelere sahiptirler. Bunlar, fosfolipid çift katmanı içine girmiş durumdadırlar (Mehrotra ve Aneja, 2005; Arda, 2000).

Küf fazındaki mantarların dallanmış iplikler halinde, çapı 5.0-10.0 µm arasında değişebilen, vejetatif yapılara hif (hyphae) adı verilir. Besiyerinin içerisinde veya üzerinde gelişerek, besinlerin alınmasını ve tutunmasını sağlayan yapıya substrat miseli adı verilir. Aynı koloni içinde bulunan hiflerden beslenmeyi sağlayanlara vejetatif hif, dışarıda kalanlara aerial hif ve çoğalmada görev alanlara üreme (reproduktif hif, fertil hif) hifa adı verilir (Arda, 2000).

Hiflerin oluşturduğu vejetatif yapıya tallus, tallusun oluşturduğu topluluğa ise misel (mycelium) adı verilir. Miseller genetik olarak genellikle aynı tip nükleusa sahip olup homokaryotik, bazen de farklı tip nükleusa sahip olup heterokaryotik olarak isimlendirilir. Bazı mantar türlerinde misel, özel bir dokunuş arz ederek farklı dokular meydana getirebilir. Böyle hallerde miselin gevşek dokunmuş kumaş halini almış şekline plektenkima (plectenchyma) denir ve iki tipi görülür. Bunlardan biri prosenkima olup hifler birbirine paralel ve gevşek bir doku meydana getirirken, diğeri pseudoparankima olup hifler çok sıkı ve birbirlerine girmiş şekilde bulunurlar. Dokular sıkı ve sert olup, hem somatik hem de üreme organları gelişir. *Zygomycotina* grubu üyeleri hariç küf fazındaki mikrofunguslar hücre duvarı enine bölmeler oluşturarak septalı (tekili; septum) hifalar oluşturur. Septa hücre duvarının merkeze doğru büyümesi ve bir dizi deliklerin oluşmasıyla şekillenir. Septalı hücreler tek, iki tane veya daha fazla nükleus içerebilirler.

*Ascomycotina* ve *Deuteromycotina* mantarlarda hifa belli aralıklarla özel septumlar (basit septa) aracılığı ile bölünmüş, septumun ortasında veya ortasına yakın yerde 0.005-0,5 µm çapında bir tek delik (por) yer almaktadır. Deliği gerektiğinde kapatan ve her hücrede bir veya daha fazla sayıda “woronin cisimciği” bulunmaktadır.

*Basidiomycetes* sınıfına ait mantarlarda dolipor septum adı verilen, ortasında çok dar (100-200 nm) bir delik, deliğin etrafı amorf ve kabarık bir kenarla (yaka) çevrilidir. Bunu da dışarıdan çok ince ve delikli bir membran (parentosom) sarar. Bu tip septalar da sitoplazma bir hücreden diğerine geçirmesine karşın, çekirdeği geçirmez. Flament özellik taşıyan *Mastigomycotina* ve *Zygomycotina* ait mantarlarda, hifalar septumsuz olup kesintisiz düz bir borucuk (septumsuz hifa, coenocytic hypha) halindedir (Öner, 1986; Maheashwari, 2005).

Hifalarda büyüme, tepe veya uç (apikal) kısımlardan gerçekleşir, bu kısımda stoplazma içinde spitzerkörper adı verilen bir yapı bulunur ve hifanın devamlı uzamasına yardım eder. Hifanın tepe kısımlarında bol miktarda mitokondri, golgi aparatı, endoplazmik retikulum, mikrotubuli, aktin, veziküller ve bol miktarda sentez bileşikler bulunur. Veziküller membran ve hücre duvarı öncül maddelerini, büyüme için gerekli olan çeşitli proteinleri içerirler. Gelişme için genellikle selüloz, hemisellüloz, nişasta ve lignin gibi polimerik bileşikler içerir. Olgun hifa sert bir yapıya sahipken, gelişmekte olan hifanın uç kısımlarında ince bir hücre duvarına sahip olup büyümesi ve uzamasını kolaylaştırmaktadır (Maheashwari, 2005).

Bazı kök istilacı mantarlarda ve odun parçalayıcı mantarlarda normal hifalardan daha uzun, içiçe geçmiş, dallanmayan rizomorf denilen yapılar bulunur. Birçok bitki patojeni mantarlarda, enfeksiyonun ilk evrelerinde gelişen ve konağa tutunmaya yarayan “appressoria” adı verilen hifalar bulunur. Çoğu biyotrof ve bazı fakültatif parazit türlerde konak hücrenin içine giren değişik şekillerde bulunabilen (tek veya çok hücreli, basit veya loblu) hücre içi hifalar oluşur ki bu yapılara “haustoria” adı verilir. Protozolar, Rotiferler ve Nematodlar gibi küçük hayvanlar için yırtıcı olan parazit mantarlarında mekanik olarak veya yapışarak tutunan tuzak (traps) adı verilen hifalar gelişmiştir. Bu mantarların bazıları *Zygomycetes* (*Zoopagales*), büyük çoğunluğu da Fungi-imperfect mantarlar içinde yer alırlar (Mehrotra ve Aneja, 2005).

Mantar hif sitoplazması ökaryotik sitoplazmaya benzer olup nükleus, mitokondri, mikrocisimcik, golgi aparatı, ribozom, vakuol, veziküller, endoplazmik retikulum, lizozom, mikrotübüller, lamozomlar içerir. Çekirdek iki tipik ünit membranla çevrili, her biri endoplazmik membrana benzer. Nukleolus çekirdek merkezide olup bol miktarda RNA içerir. Mitokondri farklı şekillerde bazen yuvarlak (1 µm çapında) bazen uzunlamasına (30 µm uzunluğu) olabilir. Golgi cisimciği ya da diktiyozom nadiren gözlenir, endoplazmik retikulum sitoplazmada tonoplast ve plazma membranı arasında bir ağ oluşturur, bazıları ribozom içerir. Sitoplazmik mikrotübüller sitoplazmanın her tarafında gözlenebilir. Sitoplazmada orijini bilinmeyen, yuvarlak ya da oval (1.5-2.0 µm çapında) tek bir ünit membranla çevrili, lizozom, peroksizom (glioksizom) öncülerini veya benzerlerini içeren, kısmen katalaz, glioksilat döngüsü enzimleri veya hidrolitik enzimleri içeren mikrocisimcikler bulunur. Ribozomlar hem sitoplazmada hem de mitokondride bulunur. Sitoplazmada çoğunlukla orijini bilinmeyen bir dizi vakuoller bulunur, fonksiyonlarının gelişme ve büyümede turgor basıncı oluşturdukları, pigment, aminoasit, hidrolitik enzimler ve polimetafosfat (mayalarda) gibi depo maddeleri biriktirdikleri varsayılır (Mehrotra ve Aneja, 2005).

Mantarların hücre duvarı, genellikle çok katlı (multilaminer) ve fibriler bir özellik gösterir. En dıştan amorf gluklan tabakası, ortada glikoprotein, iç tabakada mikrofibrillerin bir araya gelmesiyle oluşan protein kılıf bulunur. Yapısında, başlıca polisakkaridler (% 80), daha az olarak protein (% 5-15), lipid’ler (% 3-10), polifosfosfat ve inorganik iyonlar bulunmaktadır (Tablo 1). Bunların miktarları, mantar türlerine, besiyerinin birleşimine ve çevresel koşulların durumuna göre az çok değişmektedir. Polisakkaridler arasında gluklan, kitin, galaktoz, kitosan, mannan ve selüloz en fazla bulunanlarıdır. Bu komponentler bazen

birlikte olabilmektedirler. Kitin ve selüloz çoğu mantar türünün hücre duvarında bulunan başlıca mikrofibril ya da iskeletini oluşturmaktadır. Örn, *Basidiomycetes* ve *Chytridiomycetes*'lerde kitin-glukan, *Zygomycetes*'lerde kitin-kitosan, *Ascomycetes*'lerde kitin-glukan bulunur. Mantar hücrelerinde endomembran sistem arasında yer alan lizozomların içlerinde hidrolitik enzimleri bulunur. Son yıllarda saptanan kitosom ise kitin, mikrofibrillerinin sentezinde etkinlikleri olan kitin sentetaza sahiptirler (Carlile, 2001; Arda, 2000; Maheshwari, 2005; Mehrotra ve Aneja, 2005).

Tablo 1. Fungal hücre duvarlarındaki başlıca polimerler

<b>Taksonomik grubu</b>	<b>Fibroz polimerler</b>	<b>Jel benzeri polimerler</b>
Basidiomycetes,	Kitin,	Mannoproteinler
Ascomyceteslerde	$\beta(1-3)$ , $\beta(1-6)$ Glukan	$\alpha(1-3)$ Glukan
Mitosporik mantarlar		
Zygomycetes	Kitin, Kitosan	Poliglukoronikasit Mannoprotein
Chytridiomycetes	Kitin, Glukan	?
Hyphochytriomycetes	Kitin, Seluloz	?
Oomycetes	$\beta(1-3)$ , $\beta(1-6)$ Glukan, Seluloz	Glukan
Ascomycetes(maya)	Glukomannan	
Fungi imperfect(maya)	Glukomannan	
Basidiomycetes(maya)	Kitin, Mannan	

Mantar hücre nükleusu çok küçük olup sitolojik çalışmalarda ışık mikroskopunda görmek güçtür, elektron mikroskobu ile gözlenebilir. Mitoz esnasında nükleer membran normalde kaybolmaz, dilsiz zil şekline benzer ve iki kardeş nükleusa ayrılır. Nükleolus da iki kardeş hücreye bölüştürülür, bazı mantarlarda bölünme esnasında kaybolurlar. Sentriyol veya dönen kutup cisimcikleri (spindle pole bodies, SPB's) adı verilen yapılar bölünmede iğ ipliklerin kutuplara çekilmesinde etkilidirler. Kromozomlar küçük ve sıklıkla gözlenmez, metafaz safhasında ekvator bölgesinde rastgele bir şekilde dağılır. Mayoz bölünmede profaz safhasının sonuna doğru hem çekirdek hem de çekirdek membranı parçalanır, kromozomlar metafazda iğ iplikleri etrafında genellikle düzensiz bir şekilde dağılırlar ve bu evreden sonra mayoz bölünme gerçekleşir (Mehrotra ve Aneja, 2005).

### 1.2.1. Karbon Metabolizması

Mantarlar karbon ve enerji kaynaklarını birçok substratlardan temin edebilirler. Doğada serbest olarak yaşayan fungusların birçoğu enerji için bitkisel orijinli kaynaklardan yararlanırlar. Basit organik molekülleri (monosakkaridler, aminoasitler vs.), hücre membranlarından kolaylıkla içeri alabilirken, makromolekülleri (disakkaridler, polisakkaridler, polipeptid ve proteinler vs.), dışarıda enzimatik olarak ayrıştırıldıktan ve membrandan geçebilecek bir düzeye parçalandıktan sonra içeri alırlar. Mantarların büyük bir çoğunluğu glikoz, sakkaroz, nişasta, maltozu ayrıştırabilir ve bunlardan yararlanabilir. Bazıları da yağ asitlerini, organik asitleri ve gliserolu enerji kaynağı olarak ve ayrıca hekzoz ve pentoz sekerlerinin türevlerini de (uronik asit ve seker alkollerini) kullanabilirler (Arda, 2000).

Mantarlar kemoorganotrof olup enerjilerini organik bileşikleri parçalayarak elde ederler. Birkaç maya türü hariç, karbonu ve enerji kaynağı olarak kullandıkları monomerleri, önceden saldıkları enzimleri aracılığıyla ekstrasellüler ortamdaki polimerik yapıları parçalayarak elde ederler. Bu yüzden nispeten büyük (20-30 kDa) enzimleri, özellikle hifa uç kısımlarındaki golgi aparatı aracılığıyla taşınabilir veziküllerle ekstrasellüler ortama bırakırlar. Hidrolitik, oksidatif, peroksidatif ve serbest radikalleri parçalayabilecek bazı enzimleri üretilen polimerik bileşikleri parçalarlar. Örneğin nişastayı amilaz ve glukoamilaz, selülozu selulaz, hemiselulaz ve ksilanaz ile glukoz, inulini inulinaz ile fruktoza, lipitleri lipazla yağ asitlerine, proteinleri proteinaz ile aminoasitlere çevirirler.

Bazı mantarlar oksidatif (laktoz dahil) ve peroksidatif enzimlerin bir karışımına sahip olup hidrojen peroksit üreten enzim sistemleriyle lignin polimeri içinde bulunan en az 15 farklı bağı parçalayabilirler. Kahverengi ve yumuşak kök mantarları odundan hem seluloz hem de hem selulozu parçalayabilme yeteneğine sahiptirler. Selulozu parçalama, endoglukonaz (selulozun iç bağlarını parçalayan), ekzoglukonaz (zincirin ucundan sellobiyoz birimini kesen) ve glukozidaz (sellobiyozu glukoz hidrolize eden) enzimlerinin sinerjik etkisiyle gerçekleşir. Mantarlarda glukoz, glikoliz ile 2 purivik asite ve öncül maddelere (2ATP, 2NADH ve H iyonu) dönüştürülür. Maya hücreleri anaerobik koşullarda NAD'yi tekrar NADH'tan elde eder. Aerobik koşullarda piruvat mitokondriye girerek sitrik asit döngüsüne dahil olur. Piruvatın tam oksidasyonu ile karbondioksit kadar indirgenir. Dehidrogenaz enzimleri açığa çıkan H atomlarını NAD ve FAD ye aktararak elektron taşıma zincirine aktararak ATP üretilir (Kavanagh, 2005).

### **1.2.2. Azot Metabolizması**

Çoğu mantarlar, azot ve gelişmesi için gerekli değişik esansiyel mineral elementleri, organik ve inorganik kaynak olarak kullanarak kendi proteinlerini sentez edebilirler. Genel olarak alifatik karbon bileşiklerini (özellikle karbonhidratları) aromatik olanlardan daha hızlı kullanabilirler. Glukoz en iyi karbon kaynağıdır. Bazı mantarlar organik azotu (özellikle protein ve aminoasitleri), diğer bazıları inorganik azot bileşiklerini (amonyum veya nitrat azotu) kullanabilirler. Genel olarak organik azot, birçok tür için en iyi azot kaynağıdır. Bazı mantarlar için tiamin, biyotin gereksinim duyulan gelişme faktörleridir. Mantarların büyük çoğunluğu gelişme faktörlerini kendileri üretir (Mehrotra ve Aneja, 2005).

Mantarlar azot kaynaklarını, protein ve aminoasitlerin biyosentezi için asimile ederler. Örneğin amonyum iyonları hızlıca glutamat ve glutamin asitlerine çevrilir ve aminoasitlerin biyosentezi için öncül bileşikler olarak görev yaparlar. Proteinler, ekstraselüler proteaz enzimleriyle hücre içine alınacak büyüklüğe kadar parçalanırlar. Glutamat azot ve karbon metabolizmasının her ikisinde de anahtar bileşiktir. Glutamin sentetaz, birçok hücre içi makro molekül sentezinde önemli bir basamaktır. Azot metabolizmasında diğer önemli fungal enzim, 2-oksoglutarat-aminotranferaz olup ATP için gereklidir. Bazı maya ve küf mantarları nitrat redüktaz ve nitrit redüktaz aktivitesiyle nitratı tek azot kaynağı olarak kullanabilir. Bunun sonucu olarak amonyum iyonları glutamat ve glutamine dönüştürülür. Üre, aminohidrolaz aracılığıyla amonyuma ve sonrada kullanılabilir üre formuna dönüştürülebilir. Aminoasitler ayrıca dekarboksilasyon, deaminasyon, transaminasyon ve fermentasyon aracılığıyla proteine dönüştürülürler. Maya ve filamentoz mantarlar amonyum ve glutamatın her ikisinde aminoasitlere parçalayabilirler. Fermentasyon sırasında mayalar aminoasit deaminasyon ve dekarboksilasyon yoluyla izopentanol ve izobutanol gibi alkol veya zehirli alkol karışımlarına (fusel oils) dönüştürebilirler. Bu aminoasitleri fermente içeceklerde önemli uçucu bileşiklere dönüştürebildiklerini göstermektedir (Kavanagh, 2005).

### **1.2.3. Mantarların Fizyolojik Özellikleri**

Çoğu maya ve diğer mantar türleri, sıcak, şekerli, asidik ve aerobik koşullarda gelişirler. Mantar gelişmesi için gerekli olan başlıca fiziksel etkenler arasında; sıcaklık, yeterli su veya nem, oksijen miktarı, karbondioksit miktarı, asitlik-alkalilik (pH), hava basıncı, ışık ve ışıma (radyasyon) bulunmaktadır.

Gelişme ısıları oldukça geniş olup çoğu türler 25°C de en iyi üreme gösterir. Optimum ısı istekleri 20-30°C arasında üreyenlere mezofil (ılık seven), soğuk ortamda ( $\leq 20^\circ\text{C}$ ) üreyenlere psikofil,  $\geq 40^\circ\text{C}$ 'nin üzerinde üreyenlere termotolerant olarak tanımlanır. Birçok küf mantarı 0°C ve altında gelişebilir. Bazı maya mantarları -10 ve -18°C'de (*Geotrichum candidum*) gelişebildikleri, buna karşılık *Aspergillus fumigatus*'un 50°C'de, *Chaetomium thermophile*'nin 62°C'de gelişebildiği bildirilmektedir. Aşırı kış soğukluğunda mantarlar, kışlama formlarını oluşturarak dayanır. Aşırı sıcaklıktan ölüm vejetatif hücre için 45-70°C, sporlar için 100°C üstüne çıkabilir. Isı şokuna karşı mantarlar, bazı özel proteinler üretirler. Bu proteinlere ısı şoku proteinleri (heat-shock proteins=Hsps) denir. Hsps proteinleri ısıya karşı koruyuculukta fizyolojik olarak büyük öneme sahipler (Sümer, 2006; Öner, 1998; Kavanagh, 2005).

Çoğu mantarların gelişmesi için yüksek su aktivitesine gereksinimleri vardır. Su aktivitesi ( $a_w \geq 0,65-0,75$ ) düşük olan mantarlara “kserotolerant” (kuraklığa dirençli) denir, örneğin *Zygosaccharomyces rouxii* gibi. Mantarlar genelde su aktivite değeri 0,85-0,90 aralığında optimum gelişme gösterirler. Mantarlar sert hücre duvarlarına sahip olmaları nedeniyle, çok değişik çevre koşullarında gelişebilirler. Eğer mantarlar yüksek sodyum klorür yoğunluğuna dayanma gücü gösteriyorsa tuzcul (halofil veya halotolerant), yüksek şeker ( $\geq 50\%$ ) konsantrasyonuna dirençli ise “ozmotolerant” adı verilir. Örneğin; *S. cerevisiae* osmotolerant olmayan bir suştur. Tatlı suda, yüksek veya düşük ozmolaritede geliştirildiğinde hücre intraselüler veya ekstraselüler ortamdaki potasyum iyonu veya gliserol moleküllerinin yardımıyla ortam koşullarına adapte olabilir. Trehaloz, arabitol, mannitol benzer şekilde maddeler, ozmotik strese karşı hücreleri korur.

Funguslar genellikle düşük pH derecelerinde kolayca üreyebilir, spor çimlenmesini teşvik edebilir. Mantarların gelişmesi, bir kere başladıktan sonra metabolizma ürünlerinin birikmesinden dolayı ortamın pH'sı çoğunlukla değişikliğe uğrar. Bu sebeple fungusların minimal ve maksimal pH limitleri 2-11, optimum 4-6 arasında değişir. Asit karakterdeki meyveler veya suları (domates, portakal, limon, greyfurt, mandalina vs.) buzdolabı ısısında olsalar bile fungusların üremeleri için iyi bir ortam oluştururlar. Mantarların gelişmesine etki eden diğer bir faktör ışık olup, genellikle vejetatif gelişmeyi mutlak karanlıkta, üreme yapılarının oluşumunu ise ışık ortamında gerçekleştirirler. Orta derecede aydınlanma miselde renk maddesinin oluşumunu teşvik eder. Mantarlarda mor ötesi (ultraviöle) ışıklara uzun süre maruz kalma, hem miselin hem de sporların ölümüne neden olur. Böyle durumlarda koyu

renkli sporlar, soluk veya renksiz olanlardan daha dirençli olmaktadır. Canlı kalanlar ise mutasyona maruz kalır (Sümer, 2006; Öner, 1998; Kavanagh, 2005).

### 1.3. Mantarların Tarihçesi ve Sınıflandırılması

Mantarların dünyada hangi tarihten beri var oldukları bilinmemektedir. Eski mikologlar, mantarların filogenetik detaylarını, basit tahminler üzerine yapmakta ve bitkiler alemi içinde sınıflandırmaktaydılar. Aleksopolus ve Mims (1979) tarafından yapılan çalışmalarda ilk olarak mantarların ne bitki nede hayvan olduğu bildirilmiştir. Dayal (1975), mantarın sınıflandırmasında başlıca yedi karakter kullanmış olup bunlar; morfolojik özellikleri, konak özgüllüğü, fizyolojik özellikleri, sitolojik ve genetik karakterleri, serolojik özellikleri, biyokimyasal karakterleri ve nümerik taksonomileridir. Kuraishi ve ark. (1985), mantar taksonomisinde ubikinon (coenzim Q) sentezinin önemini vurgulamışlardır (Sharman, 2006).

Uluslararası mantar komitesi mantarların sınıflandırılmasında; Bölüm (Division); *mycota*, Alt bölüm (Subdivision); *mycotina*, Sınıf (Classes); *mycetes*, Alt sınıf (Subclasses); *mycetidea*, Takım (Orders); *ales*, Aile (Families); *aceae* olarak son ek ilave etmeyi önermektedir. Cins ve tür için standart bir isimlendirme verilmemektedir. Mantarların sınıflandırılması, orijinleri ve evrimleri hakkındaki farklı detaylar nedeniyle oldukça değişkendir. Bilimsel araştırmalar çoğaldıkça mantarların morfolojisi, fizyolojisi, kimyasal yapısı ve diğer yapıları hakkında bilgiler artmakta, bunun sonucunda yeni ve değişik bakış açıları gelişmekte ve buna göre yeni sınıflandırmalar önerilmekte veya ortaya çıkmaktadır.

#### BÖLÜM 1 : GYMNOMYCOTA (Cıvık mantarlar)

Sınıf1: *Acrasiomycetes* (Selüler cıvık mantarlar)

Sınıf2: *Myxomycetes* (Aselüler cıvık mantarlar)

#### BÖLÜM 2 : MASTICOMYCOTA (Kamçılı Basit Yapılı Mantarlar)

Sınıf1: *Chytridiomycetes*

Sınıf2: *Hyphochytridiomycetes*

Sınıf3: *Plasmodiophoromycetes*

Sınıf4: *Oomycetes*

#### BÖLÜM 3 : AMASTIGOMYCOTA (Toprak mantarları)

Sınıf1: *Zygomycetes*

Sınıf2: *Ascomycetes* (Askuslu, torbalı mantarlı)

Sınıf3: *Basidiomycetes* (Topuzlu veya çomaklı mantarlar)

Sınıf4: *Deuteromycetes* (Fungi Imperfecti)



Son yüzyılda birçok sınıflandırma önerilmiş ancak en son ve kabul edilen sınıflandırma Alexopolus'a göre olanıdır. Bu sınıflandırmaya göre *Myceteae* krallığı içinde üç bölüm (*Gymnomycota*, *Mastigomycota* ve *Amastigomycota*), 8 adet alt bölüm sınıflandırılmıştır. Bu sınıflandırmada gerçek mantarları *Amastigomycota* bölümünde ele alıp *Zygomycotina*, *Ascomycotina*, *Basidiomycotina* ve *Deuteromycotina* alt bölümünlerinde toplanmıştır (Sharman, 2006).

#### 1.4. Mantarların Üreme Özellikleri

Mantarlarda eşeyli ve eşeysiz çoğalma görülür. Bazı mantar türlerinde, hem eşeysiz hem de eşeyli çoğalma görülürken, bazılarında sadece eşeysiz veya sadece eşeyli çoğalma görülür (Öner, 1986). Mantarların üreme yapılarında spor meydana gelirken; bazı eşeysiz oluşumlarda çekirdek değişimi olmaz, böyle oluşumlara anamorf (Eşeysiz üreme yapılarının gözlemlendiği evre). Eşeyli oluşumlarda ise çekirdek değişimi olur, bu oluşumlara telemorf (Eşeyli üreme yapılarının gözlemlendiği evre); hem eşeyli ve hem de eşeysiz yapılara sahip olarak her ikisini de gerçekleştiren mantar oluşumlarına da holomorf denilmektedir (Arda, 2000).

##### 1.4.1. Eşeysiz (Vejetatif) Üreme

Mantarlarda en çok görülen üreme şekli sırasıyla bölünme (bazı maya türlerinde), tomurcuklanma (mayalar için tipik) ve spor oluşumu (eşeysiz üremede en önemli yapıları) şeklinde belirtilebilir.

Eşeysiz üreme de rol oynayan spor tipleri:

**Blastospor:** Tomurcuklanma sonucu oluşan sporlardır. Tomurcuk büyür, ana hücre kadar olunca ondan ayrılır veya bağlı kalarak yalancı hif (pseudohifa) oluşturur. Tomurcuk ana hücrenin her tarafından olursa buna çok yanlı (multilateral), sadece bir tarafında olursa buna uçsu (polar) tomurcuklanma denir. En çok maya mantarlarında gözlenir.

**Arthrospor (Oidiospor):** Bölmeli hifin zarları kalınlaşarak hücrelerin birbirinden ayrılması ile oluşan sporlardır.

**Klamidospor:** Bazı türlerde artrosporun, kalın hücre duvarı ve zengin depo maddelerine sahip, kötü şartlara dayanıklı sporlara dönüşmesine denir.

**Sporangiospor (Endospor):** Spor kesesi (sporangium) içerisinde oluşan sporlara sporangiospor denir. Sporlar olgunlaştığında kese yırtılır ve hareketsiz sporlar dışarı çıkar. Bu tip spora *Mucor* cinsi mantarlar örnek verilebilir.

**Konidiospor (Ekzospor):** Konidium taşıyıcısı (Konidiofor) üzerinde oluşan sporlara denir. Konidioforlar basit veya dallanmış, bölmeli veya bölmesiz, renkli veya renksiz olabilir. Konidiumlar konidioforun ucunda tek tek, küme veya zincirler halinde gelişebilir.

#### 1.4.2. Eşeyli Üreme

Gamet adı verilen cinsel hücrelerin birleşmesi ve sonrasında mayoz (redüksiyon) bölünme sonucu, cinsel sporların meydana gelmesi şeklinde olur. Burada esas olan cinsel bakımdan farklı iki çekirdeğin birleşmesidir. Bu önce sitoplazmaların birleşmesi (plazmogami) yani çift çekirdekli evre, çekirdeklerin birleşmesi (karyogami) yani çift takım kromozomun bulunduğu evre ve daha sonra indirgenme (redüksiyon, mayoz) bölünmesi geçirme ile tek takım (haploid) sporların meydana geldiği evreler olmak üzere üç safhada meydana gelir. Eşeyli çoğalmanın üç tipi bilinmektedir. Bunlar;

**Gamet birleşmesi:** Morfolojik olarak aynı (izogamet) veya farklı (heterogamet) iki cinsel hücrenin birleşmesidir. Basit yapılı, özellikle suda yaşayan mantarlarda hareketli (kamçılı) gametlerin birleşmesi şeklinde olur.

**Gametangium birleşmesi:** Genellikle *Oomycetes*'lerde görülür. Gamet serbest hale geçemez. Cinsel bakımdan farklı (+) ve (-) ile gösterilen gametangium adı verilen yapılar birleşir.

**Somatik birleşme:** Birçok yüksek yapılı mantarlarda görülür. Cinsel organ teşekkül etmez. Morfolojik bakımdan farklı vejetatif (vücut hücreleri) hücreler birleşir.

Eşeyli üreme ile meydana gelen sporlar;

**Askospor:** *Ascomycetes* mantarlarında seksüel sporlar (ascus) denen genişlemiş ve uzamış hücre keseleri içinde oluşurlar. *Aspergillus* sp. de olduğu gibi, aynı veya ayrı hifalarda, birbirine komşu iki hücrenin (askogonium ve anteridium) uzaması ve bunların birbirleriyle birleşmesi sonu oluşan sporlardır.

**Basidiospor:** *Basidiomycetes* mantarlarda görülen, basidiumların gelişmesi ve basidiosporların oluşması görülen sporlardır. Önce, birbirine komşu olan iki hücre uzayarak birleşir ve aralarındaki membran kaybolur. Sonra, bir hücre çekirdeği diğerine girerek birleşir ve tek nukleuslu hale gelirler. Tek çekirdek, mayoz geçirerek 4 haploid çekirdek oluşturur. Basidiumların uç kısmında, her çekirdek içinde bir tane olmak üzere sterigmata (basidium) meydana gelir ve çekirdeklerin her biri kendine ait olan sterigmata içine girer ve böylece basidiosporları oluşurlar.

**Zigospor:** *Phycomycetes* mantarlarından *Zygomycetes* sınıfına ait türlerde, gemetangiumlar (+ ve – hücreler) somatik hifaların dallanma bölgelerinden orijinlerini alırlar ve aynı mantar hifaları üzerinde gelişırlerse homotallik, farklı mantar hifaları arasında meydana gelirse heterotallik adı verilir. Bunlarda, belli bir görünüme ve biçime sahip erkek veya dişi karakteri gösteren hücreler oluşmazlar. Birbirine benzeyen iki cins gametin birbirine doğru uzaması ve birleşmesi sonu seksüel spor (zigospor) teşekkül eder. Birleşme sırasında, hücreler arası bölmeler kaybolur ve çekirdekleri kaynaşır. Sonra, sporun etrafı kalın bir muhafaza ile çevrilir. Zigospor uygun koşullar altında filizlenerek yeni hifa ve mantarı teşkil eder.

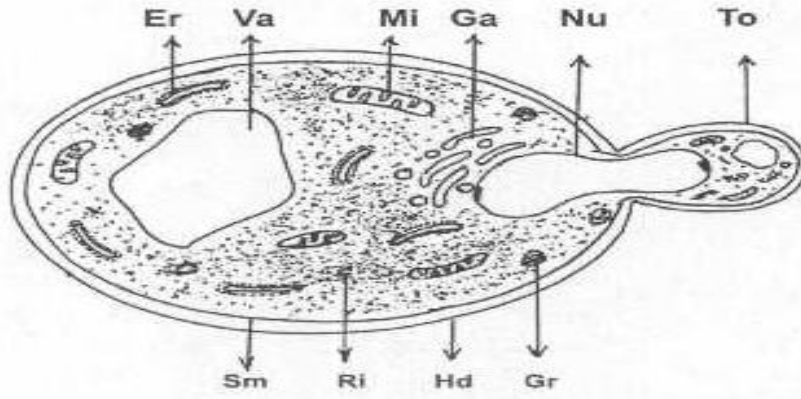
**Oospor:** *Phycomycetes* mantarlarından *Oomycetes* sınıfına ait türlerde, seksüel çoğalma sporlarıdır. Bu mantarlarda erkek gamet anteridium (antheridium), dişi gametten (oogonium) daha küçüktür, ayrı karaktere ve görünüme sahiptir. Oosporlar, bu gametlerin birleşmesi sonucu meydana gelirler. Oosporlar kalın duvarlı, yuvarlak, dış etkilere dayanıklı ve içleri gıda ile doludur.

### 1.5. Mantarların Yayılışı

Mantarlar tatlı sularda, karalarda, nadiren denizlerde ve havada yaşarlar. Hayvan ve bitkilerde parazit olarak yaşayıp hastalıklar meydana getirirler. Bir kısmı alkol fermentasyonu yapar. İlaç ve antibiyotik üreten türleri vardır. Yüksek yapılı mantarlardan şapkalı mantarların bir kısmı yenilmektedir. Bazı memleketlerde mantarlar insanlar için önemli bir besin kaynağıdır. Şapkalı mantarların bir kısmı zehirlidir. Ascomycota ve Basidiomycota bölümlerine ait bazı mantar türleri, Cyanophyta (Mavi-yeşil algler) ve Cholorophyta (yeşil algler) ile beraber likenleri meydana getirirler.

### 1.6. Maya Mantarlarının Genel Özellikleri

Mayalar tek hücreli, tomurcuklanma (blast formasyonu) veya füzyon (ortadan ikiye bölünme) ile çoğalan mantarlardır. Klinik önemi olan mayaların çoğu yuvarlak veya yuvarlağımsı, ender olarak uzamış, üçgen veya şişe şekilli olabilirler. Çapları 2-20 µm, boyları 2-50 µm arasında değışir. *S. cerevisiae*, en iyi bilinen maya olup, genellikle büyük, elipsoid şekilli, büyük hücreleri 5-10 µm, küçük hücreleri 1-7 µm boyutunda mayalardır. Boyutları, genellikle bakterilerden daha büyüktürler (Şekil. 1).



Şekil 1. Maya mantarlarının yapı ve organelleri (URL-1)

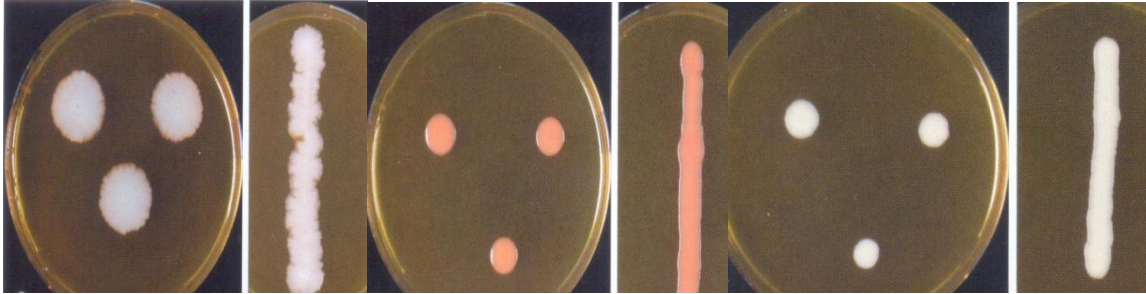
Bir maya hücresinin bir veya birkaç noktasından tomurcuklanma meydana gelir, olgunlaşan yapı ana hücreden ayrılarak yavru hücreler oluşturur. Yavru hücreye blastokonidiyum adı verilir. Bazı mayalarda (örneğin: *Candida* türleri) oluşan blastokonidiyumlar ana hücreden ayrılmadan peşi sıra uzar gider. Bir ana hücreden peşi sıra uzayarak oluşan yavru hücrelere yalancı hif (psödohif) adı verilir.

Hücre duvarı, kalınlıkları değişik olan 3 tabakadan oluşur, maya hücrelerinin karakteristik şeklini verir ve oldukça sert bir kimyasal yapıya sahiptir. Bileşimindeki glikoz ve mannoz polimerleri (manan) ile birlikte az oranda lipid, protein ve kitin bulunmaktadır. Stoplazmik membran, ünit membran karakteri taşır ve geçirgenliği oldukça fazladır. Ayrıca, stoplazmik membran enzimlerce de oldukça zengindir. Nükleer membran ise yaklaşık 1 µm çapında delikleri olan bir yapı şeklindedir. Hücre içinde, üremenin aktif olduğu dönemde sayıları az olan ve üremenin sonuna doğru artan sayıda granül ve globullere rastlanılmaktadır. İçlerinde transparant bir sıvı bulunan büyükçe vakuoller, boyutları 0.25- 0.5 mikrometre kadar olan mitokondriyumlar ve çok sayıda ribosomlar da yer almaktadır (Carlile, 2001; Yarrow, 1999).

Gerçek maya hiflerinde hücre duvarları birbirlerine paraleldir. Yalancı hifte ise tomurcuklanma bölgesine yakın bir yerde içbükey bir yapı görülür. Bazı mayalar hem tomurcuklanır hem de ikiye bölünerek çoğalır. Bu şekilde oluşan hücrelere artrokonidiyum (örneğin: *Trichosporon* spp.) denir. Bazı maya hücrelerinde, antijenik özellik ve virulans kazandıran, kapsül vardır (örneğin: *Cryptococcus neoformans*).

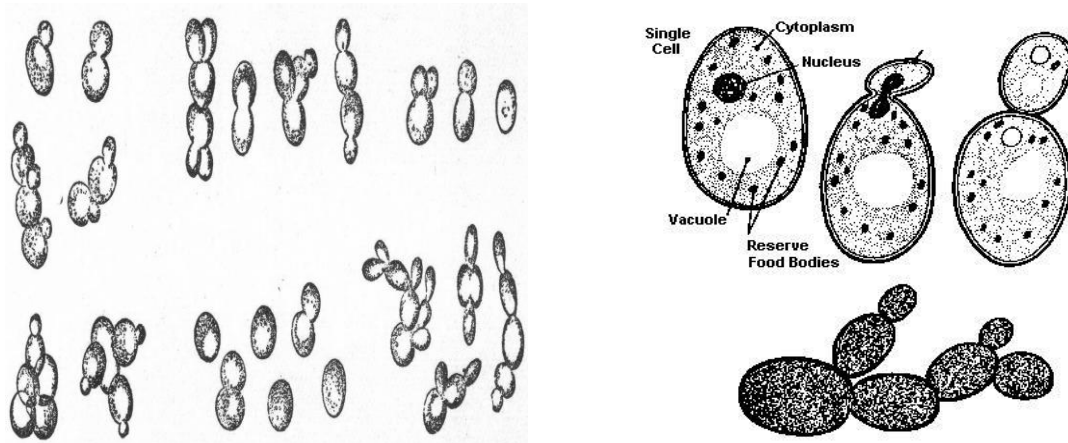
Agar besi ortamında üretilen dev maya kolonilerinin doku ve geometrik morfolojileri renk açısından büyük çeşitlilik gösterir. Birçok maya hücreleri renk pigmentleri içerir ve koloni yüzeyinde görüntülenebilir (Şekil 2).

Bunlardan bazıları agar besiyerinde *S. cerevisiae* krem, *Geotrichum candidum* beyaz, *Aureobasidium pullulans* siyah, *Phaffia rhodozyma* pembe, *Rhodotorula rubra* kırmızı, *Rhodospiridium spp.* turuncu ve *Cryptococcus laurentii* sarı koloni oluştururlar.



Şekil 2. Maya mantarlarının bazı koloni görünüşleri ve renkleri (Samson ve ark., 2010).

Mayalarda vejetatif veya seksüel üreme tomurcuklanma, fizyon ve sterigmata adı verilen kısa bir çubuk üzerindeki konidiaların üretimi ile meydana gelir. Konidiaların nasıl oluştuğunun belirlenmesi suşların identifikasyonu için önemlidir. Tomurcuk maya hücrelerinin her birinde veya hifalarında meydana gelebilir (Şekil 3). Tomurcuklanma hücre yüzeyinin bir noktasından dışa doğru gelişme göstermesiyle başlar. Hücre daha sonraki gelişmeleri sırasındaki büyüklüğü az veya çok sabit kalır (Yarrow, 1999).

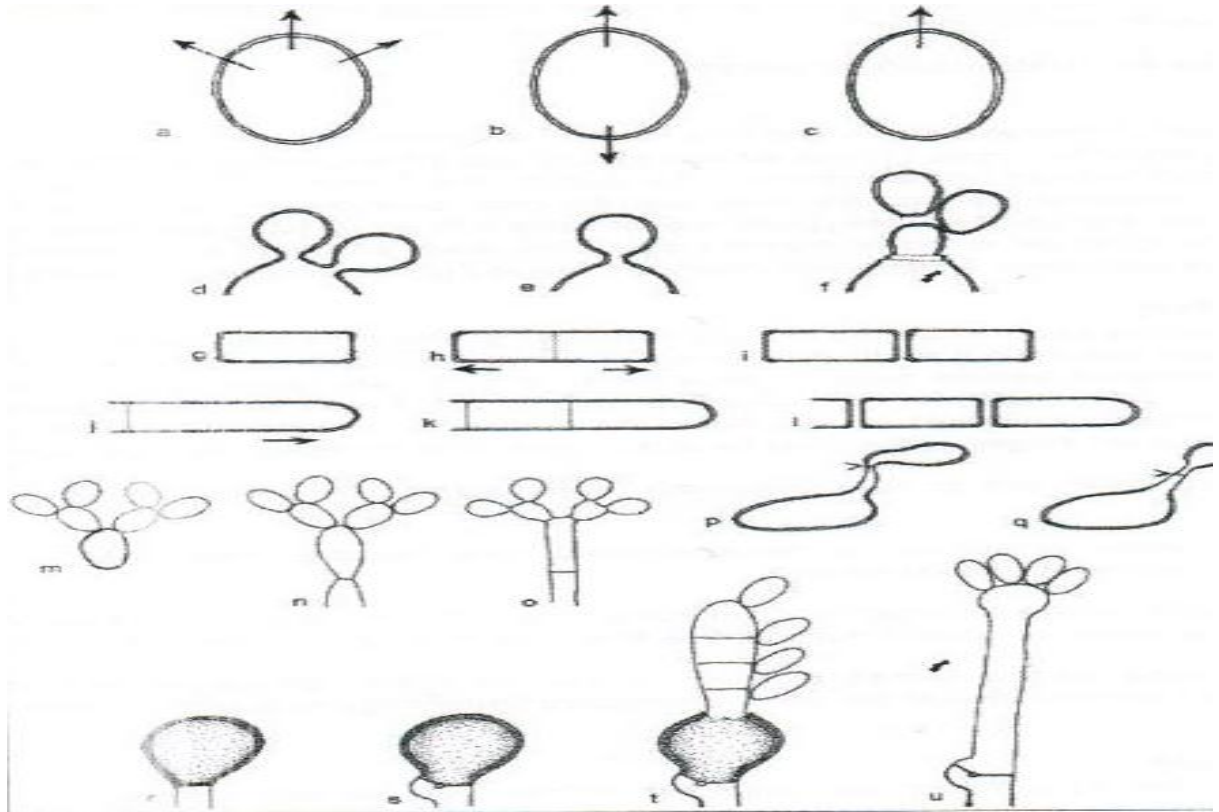


Şekil 3. Maya mantarlarında tomurcuklanma görünüşleri (URL-2 ve 3).

Tomurcuklar hücre duvarı yapısının oluşum şekline göre holoblastik veya enteroblastik olarak isimlendirilir. Holoblastik tomurcukta ana hücrenin hücre duvarı boğumlanır, tüm hücre duvarı yapıları yeni hücrede mevcut olur. Enteroblastik tomurcukta, tomurcuk kısmı genelde küçük bir bölgede oluşur, hücre duvarı yırtılır, hücre duvarının iç

tabakalarından tomurcuk ayrılır, yeni hücre duvarı yapıları sentez edilir. Bir daha bu bölgeden tomurcuklanma olmaz. Enteroblastik tomurcuklanma basidiomycetes mayalarda karakteristiktir (Yarrow, 1999).

Tomurcuklanma bir kutupta kısıtlanmış olursa monopolar, her iki kutupta meydana gelebiliyorsa bipolar adı verilir. Bipolar tomurcuklanma apiculat (dar tepeli) mayalarda karakteristiktir. Hücre üzerindeki değişik bölgelerdeki tomurcuklanma multilateral (çok yönlü) veya multipolar olarak isimlendirilir (Şekil 4). Simpodiyal tomurcuklanma bir konidiofor üzerinde gelişir. Konidium uç kısmında devamlı olarak üretilir, zigzag şeklinde bir görüntü oluşur. Acropetal tomurcuklanma, uç kısımda genç hücreler bir zincir oluşturur. Bazipetal tomurcuklanma ise bir hücreden sürekli tomurcuklanarak yeni hücrelerin ayrılması şeklindedir (Yarrow, 1999).



Şekil 4. Maya morfolojilerinin terminolojik diyagramı. a) Multilatera, b) Bipolar, c) Monopolar, d-f) Tomurcuklanma tipi, d) Tekli (multilateral), e) Soliter, f) Percurrent, g-i) Füzyon tip hücre gelişimi, g) Başlangıç hücre, h) Bilateral uzama, l) Füzyon, j-l) Artrokonidia gelişimi, j) Başlangıç hifa, k) Bölme (septum) oluşumu, l) Septalardan parçalanma, m-o) Birbirine yapışık bölünme tipleri, m) Mayadan yapışık tomurcuklanma hücreleri, n) Yalancı misel (pseudomisel), o) Gerçek misel, p-q) Saplı konidia tipleri, p) Ballitokonidia, q) Sterigmatokonidium, r-u) Canlı tipler ve mitotic yapılar, r) Klamidospor, s) Teliospor, t) Pragmobazidium, u) Holobazidium (Hoog, ve ark. 2010)

Tomurcuklanma mayalarda görülen vejetatif üremenin en yaygın formudur ve Ascomycetes mayalarda multilateral tomurcuklanma tipik formudur. *S. cerevisia*'da DNA sentezinin başlangıcıyla aynı zamana rastlar ve ana hücre kritik hücre büyüklüğüne ulaştığı zaman tomurcuklanma başlar. Tomurcuklanma süreci sonucunda hücre duvarı incelik ve turgor basıncı ile birlikte gerilir, stoplazmik uzamanın olduğu bölgelerde yeni bir hücre duvarı oluşumuyla tomurcuklanma oluşur. Hücre duvarı polisakkaritleri başlıca glukan ve kitin sentetaz aracılığıyla sentezlenir. Kitin, N-asetilglukozaminin bir polimeridir ve bu materyal ana hücre ve tomurcuk arasında bir yüzük şeklinde olur ki, hücre bölünmesinden sonra karakteristik tomurcuk izi oluşur (Carlile, 2001; Yarrow, 1999).

Füzyonla üreme vejetatif hücrenin ikiye bölünmesiyle oluşur. Füzyon mayalar *Schizosaccharomyces spp.* tipik bir örnektir, bir hücre septumu oluşumuyla bölünür, iki eşit büyüklükte kardeş hücre oluşur. *Schizosaccharomyces pampe*'de yeni bölünen kardeş hücreler mitozun başlangıcına kadar uzar. Hücresel füzyon veya enine bölünme bir göz diyaframının kapanmasına benzetilebilir. Bazı maya türlerinde psodohifa ve gerçek hifa varlığı veya yokluğu taksonomik kriter olarak (bazı ascomycetoz mayalar arasında hifal septanın ince yapısı tanımlamada önemli olduğu gibi) kullanılabilir. Bazı mayalar jerm tüpünden başlayan gerçek hifalar ile gelişirken (*Candida albicans*), fakat diğerleri (*S. cerevisia* vb.) besin kıtlığında yalancı hifa biçiminde gelişebilir.

Mayaların hifa veya yalancı hifa uzanması aracılığıyla filamentöz gelişmesi genel olarak değişken olan farklı gelişme yollarını gösterir. Mayalar gerçek veya yalancı hifa şeklinde az veya çok filamentöz veya güç kullanarak boşaltılabilen spor (ballitospor) yapıları oluşturarak üreyebilirler. Pseudohifa tam gelişmemiş, benzer büyüklükte ve şekilde veya farklı uzunluklarda ki hücreden oluşur, her biri blastospor oluşturabilir. Blastosporlar eskiden bazı genusların sınıflandırılmasında kullanılırdı. Psodohifa oluşumu bazı kültür koşullarıyla belirgin şekilde etkilenirler. Psodohifa tek bir filamentöz hücreden oluşur, septa içermez, fakat bazen dallanabilir.

Filementöz mantarların hücre yapısı değişiktir. Apikal (uç) bölge sıklıkla çok nukleusludur ve nukleer bölünme işlemleri ve yeni oluşan hifaya geçişi duplikasyon döngüsü olarak bilinir. Böylece *Aspergillus nidulans*'ın apikal hücresi 50'ye yakın nukleus içerir ve duplikasyon süreci yaklaşık 2 saattir. Devam eden bölünmeler sürecinde birkaç nukleus içeren sub apikal bölünmeler oluşur. Hifalar genellikle dallanır yüksek yapıllarda septumun hemen gerisinde ve hifanın belli uzunluğa ulaştığında genelde

dallanma meydana gelir. Bazı mayalar uygun koşullar altında septa ve dallanma içeren gerçek hifler oluşturabilir (Carlile, 2001; Yarrow, 1999).

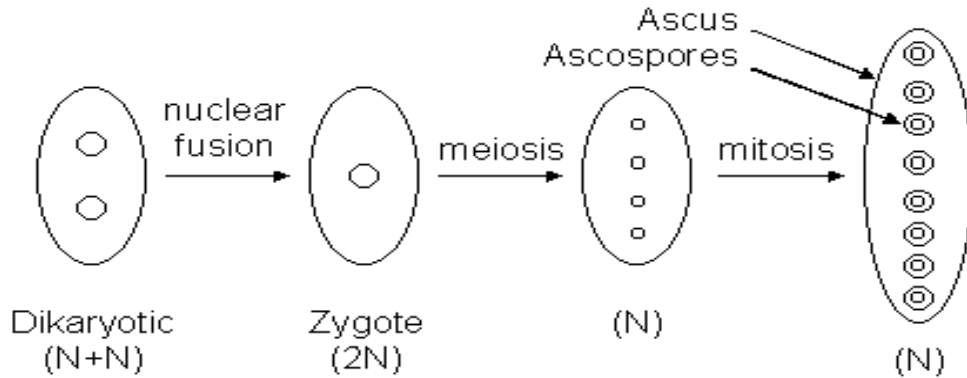
Bu hifalardan artrospor oluşur. Bazen de hifa, basit dallanmamış kısımlarda modifikasyonlarla lateral konidium oluşumu gözlenir. Örneğin, *Stephanoascus species* ve *Pichia burtanii* gibi. Konidiogenaz hücreler *Ambrosiozyma cicatricosa* da olduğu gibi monopolar tomurcuklanma gösterir. Bazı türlerin hifaları çentik (klamp connettion) oluşturur. Klamp, bölünen hücrede hifa üzerinde dışa doğru çıkıntı yükselir ve iki hücre arasında temas kurulur. Amacı nükleer bölünme sırasında kardeş nükleuslar sağlamak, yeni hücreye transfer etmektir. Klamp bazidiomcetöz mantarlarda dikaryotik fazının belirleyicisidir (Wickerham, 1951).

### 1.6.1. Maya Mantarlarının Sınıflandırılması

Son moleküler ve genetiksel teknikler kullanılarak yapılan sınıflandırmada maya mantarı 3 grup içinde toplanmıştır. Bunlar Tablo 2’de görüldüğü gibi, Askosprogenez (*Ascomycete*) mayalar Basidiosporogenez (*Basidiomycete*) mayalar ve fungi imperfekti (*Deuteromycete*) mayalar şeklindedir

#### 1.6.1.1. Askomicetöz (*Ascomycota*) Mayalar

Askomicetöz mayalar (class: *Hymenomyces*) *Ascomycota* grubunun başlıca üyeleridir. Aynı taksonomik seviyedeki *Archioscomycetes* (önemli üyelerinden biri *Pneumocystis*) ve *Euascomycetes* karakteristik olarak fruiting body’den yoksundur. Asci, hifa üzerinde oluşur ve ya tomurcuklanan hücrelerin konjukasyon veya konveksiyonundan (değişiminden) sonra oluşur. Birçok medikal laboratuarda *Candida albicans*’ın hızlı identifikasyonu için kullanılan önemli bir metot jerm tüpü oluşumudur. Jerm tüpü ince filamentöz bir yapı olup hücrenin bir noktasından orjin alır (Şekil 5).



Şekil 5. Askomicetöz mantarlarda askospor ve ascus oluşumu (URL-4)



Tablo 2. Maya mantarlarının sınıflandırılması (Kurtzman, 1998).

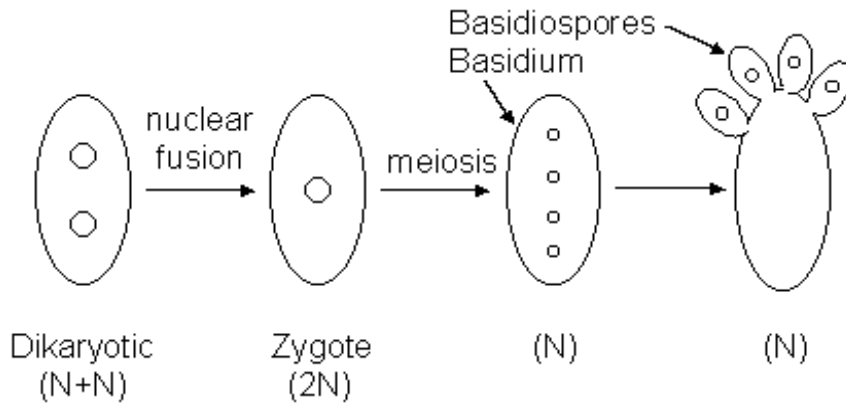
Phylum	Class	Family	Genus		
Ascomycota	Archiascomycetes	Schizosaccharomycetaceae Beijerinck ex Klocker	<i>Shizosaccharomyces</i> , <i>Nadsonia</i> <i>Hanseniaspora</i>		
		Protomycetaceae Gray	<i>Protomyces</i>		
		Pneumocystidaceae O.E. Eriksson	<i>Pneumocystis</i>		
	Hemiascomycetes	Candidaceae Windisch ex van der Walt (Anamorphic)	<i>Aciculoconidium</i> , <i>Arxula</i> , <i>Blastobotrys</i> <i>Botryozyma</i> , <i>Brettanomyces</i> , <i>Candida</i> <i>Geotrichum</i> , <i>Kloeckera</i> , <i>Myxozyma</i> <i>Schizoblastosporion</i> , <i>Sympodiomyces</i> <i>Trigonopsis</i>		
		Saccharomycodaceae Kudryavtsev	<i>Saccharomycodes</i> , <i>Nadsonia</i> , <i>Sacchroomycode</i> , <i>Wickerhamia</i>		
		Saccharomycetaceae G. Winter	<i>Arxiozyma</i> , <i>Kluyveromyces</i> , <i>Saccharomyces</i> , <i>Torulasporea</i> , <i>Torulasporea</i> , <i>Ekkera</i> , <i>Zygosaccharomyces</i> , <i>Clavispora</i> , <i>Cyniclomyces</i> , <i>Lodderomyces</i> , <i>Schwanniomycetes</i> , <i>Saccharomyces</i> , <i>Pachytichspora</i> , <i>Sporopachydermia</i> , <i>Pichia</i> , <i>Debaryomyces</i> , <i>Issatchenkia</i>		
Euascomycetes	Lipomycetaceae E.K. Novak & Zsolt	<i>Bahjevia</i> , <i>Dipodascopsis</i> , <i>Lipomyces</i> <i>Zygozima</i> <i>Lipomyces</i> , <i>Ambrosiozima</i> , <i>Arthroascus</i> , <i>Hyphopichia</i> , <i>Staphanoascus</i> , <i>Guilliermondella</i>			
	Endomycetales	<i>Saccharomycopsis</i> , <i>Hansenula</i> <i>Pachysole</i> , <i>Citeromyces</i> , <i>Wickerhamiella</i>			
	Basidiomycota	Teleomorphic Heterobasidiomycetes	Cryptococcaceae Kiitzing		
Basidiomycota	Heterobasidiomycetes	Cryptococcaceae Kiitzing	<i>Cryptococcus</i> , <i>Bullera</i> , <i>Fellomyces</i> , <i>Kockovaella</i> , <i>Phaffia</i> , <i>Trichosporon</i> , <i>Tschuchiyaea</i> , <i>Udeniomyces</i> , <i>Hyalodendron</i> , <i>Moniliella</i> .		
		Cystobasidiaceae	<i>Colacogloea</i> <i>Cystobasidium</i>		
		Sporidiales R.T. Moore	<i>Leucosporidium</i> , <i>Rhodosporeidium</i> , <i>Sporidiobolus</i> , <i>Flobasidium</i>		
		Cryptobasidiaceae	<i>Conyodyctum</i> <i>Cryptobasidium</i>		
		Filobasidiaceae	<i>Filobasidiella</i> , <i>Filobasidium</i> , <i>Mrakia</i> <i>Xanthophyllomyces</i>		
		Deuteromycota	Anamorphic Basidiomycetous	Sporobolomycetaceae Derx	
		Deuteromycota	Anamorphic Basidiomycetous	Sporobolomycetaceae Derx	<i>Sporobolomyces</i> , <i>Sporidiomycetes</i> <i>Shizoblastosporion</i> , <i>Sympodiomyces</i> , <i>Brettanomyces</i> <i>Bensingtonia</i> , <i>Kurtzmanomyces</i> , <i>Rhodotorula</i> , <i>Sterigmatomyces</i> ,
				<i>Blastomyces</i>	<i>Malassezia</i> , <i>Oosporidium</i>
Deuteromycota	Anamorphic Basidiomycetous	<i>Cryptococcaceae</i>	<i>Rhodotorula</i> , <i>Phaffia</i> , <i>Cryptococcus</i> , <i>Sterigmatomyces</i> , <i>Trichosporon</i> , <i>Candida</i> , <i>Torulopsis</i>		

*Saccharomycetales* ordosuna bağlı *Hemiascomycetes* sınıfına ait askomicetöz mayalarda fruiting body oluşturmaksızın askus oluştururlar. Ekmek mayasıyla yakın ilişkilidirler. *Ascomycetes* mayaların altı familyası anamorf tomurcuklanan (*Candida*) yapıda mantarlarıdır. *Dipodascaceae* çoğunluğu artrokonidia (*Geotrichum*, *Saprochaete*)

oluşturan anamorftir. Çoğu türleri homo ve heterotallik'tir. Genellikle fermentatifdirler. Karbonhidratların az bir kısmını asimile ederler. Multilateral tomurcuklanır, üreaz ve ekstraselüler DNase aktiviteleri negatif olup hücre duvarı üç tabakadan oluşur (Stenderup and Thomsen, 1964; Carlile, 2001).

### 1.6.1.2. Bazidiomycetöz (Basidiomycota) Mayalar

Basidiomyceteslerin yaşam döngüleri ascomycetes mayalardan biraz farklılık dışında benzerdir. *Basidiomycetes* mayalar, jöle (jelly) mantarları (*Hymenomycetes*, *Themellales*) veya siyah (smuts) mantar (*Ustilaginomycetes*, *Ustilaginales*) üyelerinin anamorflarıdır. Üreaz ve ekstra selüler DNase aktiviteleri pozitifdir. İlave olarak ekstraselüler nişasta benzeri bileşikler üretirler. İnositol asimile ederler ve şekerleri fermente etmezler veya yalnızca standart metotlarla tayin edilemeyecek kadar fermente ederler. Tomurcuklanma sürekli vardır. Eşeyli üreme çoğunlukla uygun çiftleşme hücresiyle karşılaştığında gerçekleşir. İnce hücre duvarlı klamp miselyumu oluştururlar. Kahverengi teliosporları üretirler. Septasız basidium (holobasidium) veya septalı basidium (phragmobasidium) ve sapsız basidiosporlar oluştururlar (Şekil 6). *Cryptococcus*, *Malassezia*, *Rhodotorula*, *Sporobolomyces*, *Trichosporon* cinslerinde olduğu gibi.



Şekil 6. Bazidiomycetöz mantarlarda basidium ve basidiospor oluşumu (URL-4)

Basidiomycetöz mayalar üç sınıf içinde incelenir. Çoğu *Basidiomycetes*'ler doğada yenen mantar benzeri, kültürde filamentöz yapı oluşturabilen *Hymenomycetes* subclass içinde sınıflandırılır. İki basidiomycetes grubu (*Urediomycetes* ve *Ustilaginomycetes*) kültürde yaygın tomurcuklanan hücreler gözlenirken, *Hymenomycetes* ve birkaç üyesinde de tomurcuklanan hücreler görülebilmektedir.

Dimorfik basidiomycetesler hem maya, hem de hifa oluşturur. Örneğin insan patojeni *Cryptococcus neoformans* gibi, vejetatif gelişme tomurcuklanan mayalar aracılığıyla oluşur. Seksüel üreme, maya hücrelerinin feromon salgılayan hifaya farklılaşmasını içerir, sonucunda da dikaryotik hifalar oluşur. Bazidiolar hifaların ucunda farklılaşır, karyogamiyi takiben mayoz ve mitoz meydana gelir, sonuçta haploid bazidiosporlar oluşturulur. Salınan sporlar tomurcuklan maya gibi gelişirler. Maya hücreleri azot kıtlığı veya kuraklığa cevap olarak aseksüel sporlanmayla gösterebilirler. Bu koşullarda maya hücreleri hifaya değişir, uçlarında monokaryotik bazidioları oluşturur. Bazidia içinde mitoz meydana gelir, haploid spor oluşturulur ki bunlar daha sonra maya hücrelerine çimlenir (Carlile, 2001).

### **1.7. Maya Mantarlarının Tanımlanmasında Kullanılan Bazı Kriterler**

Mayaların tanımlanmasında üreaz testi önemli olup bazidiyomicetöz mayalarda pozitif, ascomycetöz mayalarda negatiftir. En sık kullanılan identifikasyon kriterleri morfolojik karakterleridir (Tablo 3). Bunlardan bazıları; tallus formları olup filamentöz yığınlardır ve birçoğu tarafından oluşturulmaktadır. Genellikle türe bağımlı bir özelliktir. Filamentler ya gerçek hifa, ya da yalancı (psodohifa) hifa şeklinde görülür (Kavanagh, 2005).

Mayaların taksonomik farklılıklarına karşın bu organizmaların tanımlanması için kullanılan metodlar benzerdir. Mayalar besin fizyolojisine göre rutin olarak belirlenirler. Birçok klinik maya izolatu 26S rDNA sekans analizi ve PCR –RFLP analizleri ile moleküler olarak da tanımlanabilir.

### **1.8. Mayalarda Üreme**

Maya mantarları üreme yönünden aseksüel ve seksüel üreme olmak üzere başlıca iki gruba ayrılırlar. Zengin gelişme koşulları altında bazı diploid hücreler vejetatif olarak ürer, fakat azot ve fermente edilebilir karbon sınırlaması koşullarında diploid hücreler mayoz ve sporulasyonun başlangıcını tetikler.

#### **1.8.1. Mayalarda Eşeysiz (Aseksüel) Üreme**

Bu üreme tarzı yaygın olarak oluşmaz, fakat *Trichosporon*, *Candida*, *Cryptococcus*, *Oosporidium*, *Cystofilobasidium* ve *Leucosporidium* genuslarına ait suşlarda başlıca iki karakter şeklinde gözlenir. Bazı mayalar tomurcuklanmayla ve diğer

bazıları da ortadan bölünerek çoğalma gösterir. Tomurcuklanma ile çoğalmada önce hücrenin bir ucunda kabarcık meydana gelir ve bu zamanla gelişerek esas hücre boyutlarına ulaşır. Bu durumda, yeni oluşan hücre ya ayrılarak serbest kalır veya bitişik olarak yaşamına devam eder. Bu tarzdaki üreme *Saccharomyces* sınıfına ait türlerde (*S. cerevisiae*) gözlenir. Bitişik olan iki hücre de sonradan tomurcuklar oluşturarak üremeye devam ederler. Ortadan bölünerek çoğalma, aynen bakterilerde olduğu gibi, maya hücresi, ortasına doğru uzanan bir bölme (septum) ile ikiye ayrılarak gerçekleşir.

Tablo 3. Mayaların vejetatif üreme şekilleri (Walker,1998 uyarlanış, Kavanagh, 2005)

Üreme Biçimi	Tanımı	Örnek Maya Cinsleri
Multilateral Tomurcuklanma	Tomurcuklar ana hücrenin herhangi bir noktasından çıkar, fakat aynı yerden bir daha asla çıkmaz. Tomurcuklar ayrılmaya başladığında multilateral tomurcuklanma bazen de dallanmış zincirler oluşabilmektedir.	<i>Saccharomyces</i> <i>Zygosaccharomycetes</i> <i>Torulaspota pichia</i> <i>Pachysaten</i> <i>Kluyveromyces</i> <i>Villiopsis</i> <i>Debaryomyces</i> <i>Yarrowi</i> <i>Lipomyces</i> <i>Saccharomycopsis</i>
Bipolar Tomurcuklanma	Tomurcuklanma uzamış hücrelerin uzunlamasına eksenini boyunca kutuplarında oluşur.(apikulat veya limon şeklinde).	<i>Nadsonia</i> <i>Saccharomycodes</i> <i>Haneniaspora</i> <i>Wickerhamia</i> <i>Kloeckera</i>
Unipolar Tomurcuklanma	Tomurcuklanma ana hücre yüzeyinde aynı yönde tekrar eder.	<i>Pityrosporum</i> <i>Trigonopsis</i>
Monopolar Tomurcuklanma	Tomurcuk ana hücrenin yalnızca bir kutbundan köken alır.	<i>Malassezia</i>
Basit İkiye Bölünme (binary fission)	Uzunlamasına gelişmeden sonra belirtilen bir septum (çapraz duvar veya hücre plakası) ve hücreler ikiye bölünür.	<i>Schizasaccharomyces</i>
Tomurcuk Bölünme (fission)	Tomurcuk formunun dibinde geniş çapta duvar oluşur ve ana hücreden tomurcuklar ayrılır.	<i>Saccharomycodes</i> <i>Nadsonia</i> ve <i>Pityrosporum</i>
Saplardan Tomurcuklanma	Tomurcuklar kısa bir çıkıntıdan yada uzun bir saptan oluşur.	<i>Sterigmatomyces</i>
Ballistoconidiogenesis	Ballistoconidia hücre üzerinde dışa doğru sıvırlan yapıdan aktif olarak salıverilir.	<i>Bullera</i> <i>Sporobolomyces</i>

Bazı türlerde artrokonidia adı verilen normal veya özelleşmiş hifalarla eşeysiz çoğalır. Bazen kardeş hücreler kısa bir sap (stalk) üzerinde gelişmeye başlar. Stalk az veya çok silindirik yapıyı andırır, tomurcuklanma ile yeni hücreler oluşturur ki bu tarz eşeysiz üreme hücresine “sterigmatokonidia” denir. Bazı türlerde de “ballitokonidia” adı verilen

bir yapı ile eşeysiz üreme gözlenir. Stalk'lar uç kısma doğru daralır, konidialar stalk üzerinden gelişir, fakat güç kullanarak fırlatma mekanizmasıyla fırlatılır. *Candida albicans* ve *Metschnikowia* türlerinde ise klamidiosporlar karakteristikken, diğer taksonların eski kültürlerinde fark edilemezler (Stenderup ve Thomsen, 1964).

### 1.8.2. Mayalarda Eşeyli (Seksüel) Üreme

Bazidiomicetöz mayalar heterotalliktir, fakat çiftleşme zordur. Misel bir klamp oluşur sonra eşeyli üreme başlar. İnce duvarlı teliosporlar oluşur, çimlenerek misel üzerinde yükselen bazidium, bu yapı üzerinde bazidiosporlar oluşur. Bu bazidiumlar çapraz hücre duvarlarına sahip (pragmobasiidium) veya septasız (holobasidium) bir yapı gösterebilirler.

Askomicetöz mayalar homo veya heterotalliktir. Çıplak kese (aski) içerisinde askosporlar oluştururlar. Üç farklı tipte fertilizasyon bilinmektedir. Bunlar vejetatif bir hücrenin direk değişimiyle (konjuge ascus), ana ve tomurcuk hücrelerinin konjugasyonu ile veya iki bağımsız hücrenin konjugasyonu ile meydana gelir. Oluşan askosporlar düz veya tırtıklı hücre duvarlı, değişik (oval, şapka şeklinde, reniform) şekillerde olabilir. Bu üreme tarzı yine *Saccharomyces* sınıfına ait türlerde (*S. cerevisiae* ve *Schizosaccharomyces octoporus*) görülmektedir. Bu türlerde zigot oluşumu değişik tarzda gelişir ve gerçekleştirilir. Seksüel üreme, ya askosporların oluşmasına yol açan sporulasyonla veya gametlerin birleşmesi (gamet formasyonu) tarzında görülmektedir.

### 1.9. Mantar Hücrelerinde Ölüm

Fungal hücrelerin ölümünün anlaşılması, özellikle mayalarda, mantarlardaki apoptozis ve hücre yaşlanması ile ilgili çalışmada model sistemlerin oluşturulmasında temel öneme sahiptir. Pratik olarak mantarlarda hücre ölümü birçok koşullarla ilişkilidir. Bunlar biyoteknolojik olarak fermentasyon endüstrisinde (canlılığın yüksek kültür koşullarına ulaştığı zaman) gıda muhafazasında (istenmeyen fungal gelişimi önlemek için) ve klinik mikolojide (istenmeyen insan mikozeslerin tedavisinde) mantarların ölümü gerekmektedir. Fungal hücre ölümü biyolojik, kimyasal ve fiziksel faktörlerden büyük ölçülerde etkilenmektedir. Ölümde ilk söylenen aşırı sıcaklık, aşırı soğuk, yüksek elektrik voltajı, iyonize radyasyon veya yüksek hidrostatik ya da ozmotik basınç gelmektedir.

Kimyasal faktörler fungal canlılığı engelleyen önemli faktörlerdendir. Birçok dış kaynaklı fungisidal kimyasal ajanlar (zehirli organik bileşikler, serbest oksijen radikalleri

ve ağır metalleri) fungal ölümdede önemli faktörlerdir. Yaygın kimyasal koruyucular asetik asit ve benzoik asit gibi yiyeceklerdeki zayıf asidik içerikler yaygın olarak çoğunlukla antifungal ajanlar olarak iş görür. Bu ajanlar fungisidal etkenden ziyade fungistatiktirler, maya stoplazmasında iyonlar içine dağıldıklarında hücre pH'sı baskılanır ve plazma membranındaki proton gradrenti kaybolmasına neden olur. Benzer şekilde kükürt dioksit, şaraptaki arzu edilmeyen mayaların (ve de bakteriler) eliminasyonu için uzun yıllardır kullanılmaktadır. Kükürt dioksit,  $SO_2$  ve  $HSO_3^-$  iyonlarına ayrılmakta, sitoplazmada pH düşmekte ve antizimotik olaydan dolayı bazik ortam oluşmaktadır. Fungisidal asitler orta uzunlukta yağ asidi zincirini içerirler (decanoic asit gibi) ve mayaların hücre membran bütünlüğünü bozarak fungal hücre ölümünün hızlanmasına neden olur.

Fermentasyon aktiviteleri sırasında iç kaynaklı kimyasal faktörler, etanol ve diğer toksik metabolitler; (asetaldehit vb.) üreterek, aşırı hücre içi asidite veya alkoliniteye neden olurlar. Oksidatif hasara karşı koruyuculuğun yetersizliği veya toksik metallerin oluşması, fungusların ölümünü tetikleyen faktörler arasındadır. Eğer fungal hücreler detoksifikasyon ya da kimyasalların zarar verici etkilerine karşı koymada yetersiz kalırsa hücreler ölür. Mantarlarda öldürücü biyotik ilişkilere örnek olarak, direk sindirim (böcek, protozoalarla), içine çekme ve liz (eritme) etme (mycoparazitik mantarlarla), direk parçalama (haustori ile ilişkili), protein yapısında toksin sentez eden mayalardır ki bu toksin diğer mayaları öldürür ancak kendisi bu toksine karşı immunité oluşturur.

Öldürücü karakterde birçok maya türü identifiye edilmiştir, fakat en iyi bilineni *S. cerevisia*'deki K1 sistemdir. K1 toksini duyarlı mayaların hücre duvarı reseptörlerine bağlanır, bunu takriben plazma membranında kanallar oluşturur, hücrenin geçirgenliği bozulur ve ölüme sonuçlanır. İç kaynaklı biyotik faktörler dikkate alındığında fungal hücre yaşamını etkileyen birçok fizyolojik, morfolojik, genetik ve biyokimyasal olaylar bulunur ki bunlar hücrenin kendi kendini öldürmesine yol açar. Örneğin fungal otolizinler, fungal hücrenin kendini sindirmesine neden olur. Bir başka etken endojen hidrolitik enzimler (vakouller), özellikle proteazlar ve karboksilazlar olup hücre duvarı polisakkaritlerinin ve sitoplazmik proteinlerin çözünmemesine ve dolayısıyla hücre ölümüne neden olurlar.

Gıda endüstrisinde otolitik enzimatik aktiviteyi, maya ekstraktlarının üretimi sırasında kullanılan yüksek ısı (yaklaşık 45°C), tuz (plazmolizi teşvik etme) ve çözücüler (lipitlerin erimesini) teşvik eder. Dış kaynaklı hidrolitik enzimler de, papain gibi hücre duvarı parçalanmasında kullanılmaktadır. Genetik faktörlerde fungal hücre ölümünü

etkilemektedir. Bu muhtemelen değişik progeni üretim riskinden kaçınmak için, DNA hasarını takiben hücreler intihar eder. Hücre yaşı ve apoptotik hücre ölümü, mayalarda geniş ölçüde çalışılmıştır. Özellikle *S. cerevisia*, memeli hücrelerinin yaş işlemlerinin moleküler genetik esaslarının anlaşılmasında önemli bir model organizmadır.

### 1.10. Mantarların Önemi

Mantarlar birçok yönden insanlara faydalıdır. Bunlardan *Ascomycetes* türlerinin bazıları fermantasyon yan ürünlerinden peynir, ekmek, antibiyotik ve vitamin üretiminde rol aldıkları gibi bazı mantar türleri gliserin, enzim, yağ ve yem üretiminde rol oynarlar. *Basidiomycetes* (şapkalı mantarlar) türlerinin birçoğu başlı başına bir gıda kaynağıdır. Yenilebilen yabani mantarlar iyi birer protein, yağ, karbonhidrat, mineral ve vitamin kaynağıdır. Mayalarda bugün besin olarak kullanabilmekte ve ucuz karbonhidratlardan yararlanarak çok az enerji kaybı ile onlardan protein elde edilmektedir (*Torulopsis utilis*). Bu protein ekmek yapılan unla muamele edildiği için iyi sonuç vermektedir. Mayadan elde edilen protein içine, maya hücreleri içinde sentez edilen Thiamin, Riboflavin, Nikotinic asit, Pantotenik asit, Biotin, Pridoksin ve p-Aminobenzoik asit gibi vitaminler de karıştığından ekmeğin vitamin değeri yükselmektedir. Bazı mantarlar besin maddelerinin hazırlanmasında da önemli role sahiptir. Rokfort (*Penicillium roqueforti*), ve Kamembert (*Penicillium camamberti*) peynirlerinin yapımında kullanılırlar (Öner, 1998).

Diğer taraftan mantarların ekonomik zararı da küçümsenmeyecek kadar büyüktür. Mantarların meydana getirdikleri bitki hastalıkları büyük ekonomik kayıplara yol açmaktadır. Kereste ve keresteden elde edilen eşyaların çürümesinde, elektrik kablolarının, deri eşyaların, optik aletlerin, çeşitli tekstil sanayi ürünlerin aşınması, meyve, sebze, yemek, ekmek v.s. gibi besin maddelerinin bozulmasına, insan ve hayvanlarda hastalıkların oluşmasına neden olurlar (Öner, 1998).

### 1.11. Çay Bitkisinin Botanikteki Yeri ve Çeşitleri

Çay bitkisi botanikte *Angiospermea* çiçek açanlar bölümünden; Dicotyledonea sınıfından ve *Theaceae* ya da *Camellia* familyasındandır. Botanikçiler tarafından çay bitkisinin genellikle kabul edilen adı *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze'dir. Yazıda (L.) harfi sinensis sözcüğünü kullanan Linnaeus isimli botanikçinin ilk harfine; O. Kuntze sözcüğü ise aynı botanikçinin sözcükleri birleştirip çayın ismini gerçekleştirmiş olmasına izafeten yer almıştır. *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze adındaki çay bitkisinin, morfolojik

ayrımllıklar gösteren üç değişik çeşide (varyeteye) sahip olduğu hususunda botanikçiler görüő birliği içerisinde. Bunlar; Çin çayı, Assam çayı ve Kamboçya çayıdır.

Çin çayı (*Camellia sinensis* var. *sinensis*) doğal olarak 1-3 m boyunda ve büyük çalı görünümünde bir bitkidir. Toprak yüzeyine yakın yerlerden çıkan çok sayıdaki güçlü dallar yukarı doğru gelişerek bitkinin kubbemsi bir görünüm kazanmasına neden olur. Yapraklar 3,8-6,4cm uzunluğunda 1,0-2,2 cm genişliğinde, kısa saplı, elips görünümünde olup yaprak kenarındaki diő sayısı genellikle 30'un üzerindedir. Erken ve çok sayıda çiçek açar. Sık dallı olup sağlam yapılıdır. Deniz seviyesinden daha yükseklerde ve yaklaşık 1150 m'ye değin yüksekliklerde yetişebilir. Aromalı ve nitelikli çay elde edilebilir. Soğuğa, hastalıklara ve kurağa dayanıklıdır.

Assam çayı (*C. sinensis* var. *assamica*) doğal olarak 6-18 m boyunda ve ana gövde etrafında seyrek dallı bir ağaç görünümündedir. Yaprak ayası geniş elips şeklinde olup 8-10 cm uzunluğunda ve 3,5-7,5 cm genişliğindedir. Yapraklar yumuşak ve parlak, ince dokulu, damar araları belirgin şekilde ve kabarıktır. Yan damarlar yaprak kenarına varmadan birleşir ve bu birleşme hattından yaprak kenarına değin yaklaşık 0,5-1,0 cm'lik düz bir yüzey oluşur. Yaprak yan damarları 10-14 çift olup kenarları belirgin testere diőlidir ve diő sayısı 30'un altındadır. Meyve ve tohum yönünden Çin çayı ile özdeşlik içerisinde. Assam çayı soğuğa, kurağa ve hastalıklara karşı göreceli olarak daha duyarlıdır. Geç ve seyrek çiçek açar. Uygun gelişme ortamında yaş yaprak ürün verimi Çin çayına oranla çok daha yüksektir.

Kamboçya çayı (*C. sinensis* var. *cambodiensis*) Hindiçini kökenlidir. Ana gövde etrafında eşit şekilde dallanma gösteren, doğal olarak 6-8 m uzunlukta, ağaç görünümündedir. Yaprakları hemen hemen dik durumda, parlak, genç olanları sarımsı yeşil, olgunları açık yeşilimsidir. Sonbaharda yapraklar bakırımsı sarı ya da pembemsi kırmızı renk alır. Yaprak büyüklüğü Çin ve Assam çayı arasındadır. Genellikle yapraklar geniş elips şeklinde olup orta damar yer yer kesintili bir görünüm içerisinde. Meyve ve tohum yönünden öteki çay çeşitleri ile özdeşlik gösterir. İçtiğimiz çay, çay bitkisinin yeşil körpe yaprakları işlenerek yapılır. Genel kural olarak çay üretimi için sürgün ucundan koparılmıő iki yaprak ve bir tomurcuğun kullanılması önerilir ve istenir. O nedenle nitelikli çay üretimi, çay yaprağına ve yaprağın özelliklerine bağımlıdır.

Dünya üzerinde çay bitkisinin yetiőtirildięi ülkeler geniş enlem dereceleri arasında dağılım göstermektedir. Örneğin Kuzey Yarım Küre'de yaklaşık 42 enlem derecesinden Güney Yarım Küre'de 27 enlem derecesine değin çay bitkisi yetiőtirilmektedir. Çay bitkisi,



yağışı bol ve sıcak olan yerlerde yetişebilir. Ancak dünyada ekonomik olarak çay üretiminin yapıldığı yerler sınırlıdır. Hindistan, Çin, Sri Lanka, Bangladeş ve Japonya çay bitkisinin yaygın şekilde yetiştirildiği ve çay üretiminin yapıldığı ülkelerdir. Bu arada çay bitkisi Endonezya, Malezya, Formoza, Birmanya, Niyazaland, Kenya, Tanganika, Uganda, Mozambik, Brezilya, Şili, Arjantin, Gürcistan, Azerbaycan, İnan ve Türkiye’de de ekonomik düzeyde yetiştirilmekte ve çay üretimi yapılmaktadır.

Dünya’da siyah çayın işlenmesinde Ortodoks yöntemi en çok ve yaygın şekilde uygulanmaktadır. Ülkemizde de yaklaşık 70 yıldır Çay Kur tarafından, son 30 yıldır da özel sektörle de dahil olarak Ortodoks yöntemini geliştirmiş, değiştirmiş ve eldeki materyale uygun hale dönüştürülerek üretimde kullanılmaktadır. Bu yöntemde çay imalatı; sırası ile soldurma, kıvrırma, oksidasyon (Fermantasyon), kurutma, tasnif ve ambalaj işlemlerinden oluşmaktadır.

Soldurma, taze kesilmiş çay yapraklarının yaklaşık 6 saatte, 32°C’yi geçmeyen kuru havada %75-82 oranındaki su miktarının % 45-50 seviyesine düşüren bir işlemdir. Kıvrırma; özel makinelerde 15-60 dakika arasında değişen sürelerde ezme, aşındırma, yırtma ve bükme işlemlerine tabii tutulması olayına kıvrırma denir. Bitki öz suyunun hücrelerden dışarı çıkartmak ve bunu kırılmadan kıvrılan çayı yapraklarına bulaştırmaktır. Çeşitli faktörlere bağlı olarak toplam kıvrırma süresi değişebilir.

Fermantasyon (Oksidasyon), Çay yapraklarının yapısında bulunan maddelerin hava oksijeni ile biyolojik değişmelere uğraması ve böylece mamul çayın renk, burukluk, parlaklık, aroma ve test kalitesinin oluşumuna oksidasyon denir. Bu işlemin tamamı; hava sıcaklığı 24–32°C arasında, bağlı nemi %90 civarında ve yaklaşık 1.5-2 saatlik bir sürede gerçekleşir. Kurutulmasında esas amaç istenilen oksidasyon seviyesinde oksidasyonu durdurmak, yapraktaki enzimsel oksidasyona son vererek çayı oksidasyonla oluşan en kaliteli seviyede tutmak ve uzun zaman kalitesi bozulmadan muhafaza etmektir. Fırına giren havanın sıcaklığı 87-99 °C arasında ve çıkan havanın sıcaklığı da 50-55 °C arasında değişen sıcaklıkta 24-27 dakikalık bir sürede kurutma işlemi tamamlanır.

Tasnif, fırından çıkan çayın taşıyıcı bantlarla ayırım ve derecelendirmenin yapıldığı işlemdir. Ambalaj, nevelerine ayrılan çayların ayrı ayrı torbalanıp üretim tarihlerine göre depolandığı aşamadır. Bu aşamaları tamamlayan çay bitkisi sofralara ikramlara sunulan ve önemli ekonomik değeri olan içecek haline gelmektedir. Çay işleme aşamalarında maya mantarların izolasyonu ve identifikasyonu, ekonomik önemi olabilecek türünün varlığının belirlenmesi açısından önemli olacaktır (Kacar, 2010).

## 1.12. Literatür Çalışması

Maya mantarları ekmek, bira ve şarap fermentasyonu gibi gıda ve içecek sektöründe en iyi bilinen mikroorganizmadır. Moleküler tanı teknolojisindeki büyük gelişmeler, maya taksonomisi ve maya ekolojik çalışmalarını kolaylaştırmıştır. Birçok maya türlerinin bu ekosistemler içinde büyümesi ve ürün kalitesi üzerinde olumlu etki göstermesi, gen düzeyinde yapılan çalışmalarla mümkün olmuştur. Bu çalışmalar sayesinde birçok maya izolatları, gıdaların bozulmasını önleyebilen ve biyolojik mücadele ajanı olan probiyotik organizmalara dönüştürülmüştür (Fleet, 2007).

Doğada meyve, sebze, içecek ve diğer tarım ürünlerinde, maya türlerinin çeşitliliği için önemli bir mikro habitatlardır. Bu tarım ürünlerinde maya populasyonlarının tanımlanması çeşitli biyokimyasal mekanizmalarının belirlenmesiyle ve basit şekerleri hızlı kullanma yeteneklerine göre yapılmıştır (Kurtzman and Fell, 1998). Son zamanlarda, gıda ürünlerinin çeşitliliğini arttırmak, farklı doğal ve bitkisel ürünler geliştirmek amacıyla çeşitli maya türlerinin kullanılması yönünde önemli araştırmalar yürütülmektedir. Bu çalışmalardan bazıları, Brezilya yağmur ormanları gibi, tropik ortamlarda yetişen ürünlerde (Buzzini ve Martini, 2002), tropikal meyveler, çiçekler ve yapraklar üzerinde (Santos ve ark., 1996; Trindade ve ark., 2002; Camotti-Sartori ve ark., 2005; da Silva ve ark., 2005), Florida da portakal suyunda (Arias ve ark., 2002), Nijerya da soyulmuş şeker kamışında (Olasupo ve ark., 2003), Gana da hurma şarabında (Amoa-Awua ve ark., 2006), Endonezya da kakao çekirdeklerinde (Ardhana ve Fleet, 2003), bir çok maya mantarı örnekleri geleneksel mikrobiyolojik yöntemlerle izole edilmiştir. Bunun yanında son yıllarda mikrobiyal populasyon dinamiklerini daha hızlı ve etkili bir şekilde incelemek için, çeşitli kültür metodları ve moleküler teknikleri geliştirildi. Bunlardan bir kaç, fluoresan in-situ hibridizasyon (FISH), real-time PCR, sıcaklık gradient jel elektroforezi (TGGE), denatüre gradient jel elektroforezi (DGGE) gibi sayılabilir. Bu son metod, maya populasyon dinamiklerini araştırmak için süt ve bir dizi fermente ürünlerde, (şarap, fermente tropik içeceklerde, hamur, mısır ve kahve çekirdekleri gibi) kullanılmıştır (Cocolin ve ark., 2000; Masoud ve ark., 2004; Prakitchaiwattana ve ark., 2004).

Benzer araştırmaları, tarım ürünlerinde maya populasyonlarının belirlenmesi amacıyla geleneksel mikrobiyolojik yöntemlerle birçok araştırmacı tarafından çalışılmıştır (Masoud ve ark., 2004; Nielsen ve ark., 2005; Nielsen ve ark., 2007).

Ülkemizde maya mantarları konusunda en çok yapılan çalışmalar insan patojeni mantarları kapsamaktadır. Bunlardan biri, sağlıklı ve sistemik hastalığı (böbrek transplantı)

olan bireylerden izole *Candida albicans* suşlarının muhtemel fenotipik özelliklerinin incelenmesi şeklinde yapılmıştır. Çalışmaya sistemik hastalığı olan 26 ve sağlıklı olan 17 bireyden alınan örneklerde toplam 43 *C. albicans* izole edilmiş ve fenotipik ve biyokimyasal test kullanılarak tanımlanmıştır (Akdeniz, 2000).

Benli ve ark., (2003), yaptıkları araştırmada elmalarda hasat sonrası hastalıklara neden olan *Penicillium expansum* ve *Botrytis cinerea*'ya karşı etkili 13 maya izolatu tanımlanmış geleneksel yöntemlerle sınıflandırılmışlardır. Çalışma sonuçlarına göre *Candida* sp., *Rhodospordium* sp., *Hansenula* sp., *Debaryomyces* sp., *Rhodotorula* sp., *Torulasporea* sp. ve *Williopsis* sp. cinslerini belirlemişlerdir (Benli, 2003).

Cevahir ve ark., (2003) yaptıkları çalışmada, enfeksiyon etkeni olan 126 *Candida* izole etmişler ve bunları geleneksel yöntemlerle tanımlamışlardır. Bu tanımlamaya göre izolatların 83'ü *C. albicans*, 19'u *C. tropicalis*, 9'u *C. glabrata*, 9'u *C. famata*, 3'ü *C. parapsilosis*, 2'si, *C. guilliermondii*, *C. krusei* olduğunu belirlemişler ve suşların slime üretimini farklı yöntemler kullanarak araştırmışlardır.

Adiloğlu ve ark., (2004) yaptıkları çalışmada, çeşitli klinik örneklerden 38 maya izole etmişler ve tür tanımlamasında APIID 32C kiti kullanmışlardır. Türlerin dağılımlarına bakıldığında *C. albicans* (%81.6), *C. glabrata* (%13.2), *C. tropicalis* (%2.6) ve *C. parapsilosis* (%2.6) şeklinde belirlemişlerdir.

Yapılan bir çalışmada kromojenik medyum CHROM ve cornmeal-tween 80 agar besiyeri kullanılarak 353 klinik maya izolatların morfolojileri incelenmiş, API maya tanımlama kiti kullanılarak tanımlanmıştır. Konvansiyonel tanı yöntemleri ve hazır kit arasında tanımlama süresini de dikkate alındığında kültür yöntemiyle tanımlama yapmanın daha pahalıya mal olduğunu bildirmişlerdir (Koehler, 1999). Çeşitli klinik örneklerden izole edilen 100 *Candida* suşunun tür düzeyinde tanımlanmasında Rapid Yeast Plus (RYP) (Remel Inc., Lenexa, KS, ABD) sisteminin sonuçları ile standart yöntem olarak API ID 32C (bioMerieux, Fransa) sisteminin sonuçları karşılaştırılmıştır. API ID 32C sistemi ve RYP sistemi ile 92 suş aynı tür olarak tanımlanırken, altı suş farklı isimlendirilmiş, iki suş

Yapılan bir çalışmada piliç soluk RYP sistemi ile tanımlanamamıştır (Kaçmaz, 2006).

borularında bulunan baskın maya florası araştırılmış, 38 maya izole edilmiş, geleneksel yöntemlere göre yapılan tanımlamada *Bullera*, *Candida*, *Cryptococcus*, *Debaryomyces*, *Rhodotorula*, *Torulasporea*, *Trichosporon* ve *Zygosaccharomyces* cinsleri bildirilmiştir (Laubscher, 2000).

Narenciye suyundan izole edilen mayalar, beş farklı yöntem kullanılarak tanımlanmıştır. Referans suşlar hariç 99 izolat, moleküler yöntem olarak 26S rRNA gen sekansı, klasik yöntem olarak, Rapid Maya Plus sistemi ve API 20C AUX kullanılarak tanımlandı. Yirmi üç farklı tür, 11 farklı cins belirlendi. *Candida intermedia* ve *Candida parapsilosis* baskın türler olarak bildirilmiştir (Arias, 2002).

Yapılan bir çalışmada nişastalı topraklardan aminolitik maya suşu izole edilmiş ve enzim verimliliği araştırılmıştır (Fossi, 2004).

Volter ve ark., (2000) Güney Afrika'da yaptıkları bir çalışmada halkın sık tükettiği (kuru salam, sosis vb.) et ürünlerinde baskın olarak bulunan mayaların izolasyon ve tanımlamasında (yeast glucose chloramphenicol agar, yeast extract malt extract agar) selektif agarlar ile geleneksel metodlar kullanılmıştır. Toplam 9 farklı cinse ait 11 farklı maya türü belirlenmiş, en yaygın olarak *Debaryomyces hansenii* izole edilmiştir. Karşılaşılan diğer maya türleri, *Cryptococcus laurentii*, *Cryptococcus hungaricus*, *Torulospora delbrueckii*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Sporobolomyces roseus*, *Debaryomyces vanriji*, *Trichosporon beigeli*, *Yarrowia lipolytica*, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Candida zeylanoides* olarak bildirmişlerdir.

Farklı süt ürünlerinde bulunan mayaların tanımlanmasında Fenotipik (morfolojik, biyokimyasal ve fizyolojik karakterizasyonu) ve genotipik (RAPD-PCR, 26S rRNA kodlayan genin D1/D2 etki sıralama) yöntemler kullanılmıştır (Lopandic, 2006).

Osorio-Cadavid ve ark. (2008) yaptıkları çalışmada, Kolombiya'da düşük alkol ihtiva eden tahıl bazlı bir içecek olan "champu" içindeki baskın maya popülasyonlarını araştırmışlardır. Cauca Valley bölgesinde 20 üretim yerinden champu örnekleri alınmış toplam 235 maya izole edilmiş, geleneksel mikrobiyolojik analiz ve moleküler yöntemler (PCR-RFLP, ITS1-5.8S rDNA-ITS2) kullanılarak tanımlama yapılmışlardır. baskın türler olarak: *Saccharomyces cerevisiae*, *Issatchenkia orientalis*, *Pichia fermentans*, *Pichia kluyveri* var. *kluyveri*, *Zygosaccharomyces fermentati*, *Torulospora delbrueckii*, *Galactomyces Geotrichum* ve *Hanseniaspora spp* belirlenmiştir.

Geçmişten bu yana mayalar, ekmek, bira, şarap ve alkollü içecekler gibi fermente ürünlerin elde edilmesinde kullanılmaktadır. Günümüzde bunlara ilaveten çeşitli ekstraktların, pigmentlerin ve probiotik ürünlerin üretiminde de kullanılmaktadır. Ayrıca gıda, yem ve ilaç endüstrisi için biyokimyasal maddelerin üretiminde büyük önem taşımaktadırlar (Jakopsen ve Narvhus, 1996; Wyder, 2001). Biracılıkta *Saccaromyces carlsbergensis*, (*S. carlsbergensis*), sarapçılıkta *S. ellipsoideus*, hamur işlerinde *S.*

*cerevisiae*, soya fasülyesi meyvelerinin fermentasyonunda *S. rouxii*, kahve ve kakao bitki tohumlarının fermentasyonunda *Candida crusei* (*C. crusei*) türleri kaliteyi artırması açısından kullanılan mayalar örnek verilebilir. Bazı mayalar ise *Pichia* ve *Candida* gibi cinsler, süt ve süt ürünlerinde istenmeyen özelliklerin oluşmasına ya da gıdaların bozulmasına neden olmaktadır (Sümer, 2006).

Son zamanlarda doğal ve bitkisel ürünlerin bulunduğu ortamlarda yapılan çeşitli çalışmalarda farklı maya popülasyonları ve bunların özellikleri incelenmiştir. Yüksek lipolitik ve proteolitik aktiviteye sahip, aminoasit, yağ asitleri ve esterler gibi aroma oluşumuna öncülük eden maddelerin meydana gelmesinde büyük rol oynayan mayalar, diğer mikroorganizmalar için gerekli vitaminleri de (pantotenik asit, niasin, riboflavin ve biotin gibi) salgılayabilmektedirler (Lenoir, 1984; Ferreira ve Viljoen, 2003). Genellikle proteinaz ve peptidazların aşırı aktiviteleri sonucu meydana gelen acı peptidlerin parçalanmasında da önemli rol oynamaktadırlar. Esas itibarıyla, acı peptidlerin daha küçük moleküllü peptidlere ve aminoasitlere parçalanmasında mayaların aminopeptidazları ve karboksipeptidazları katkıda bulunmaktadır (Wyder, 2001).

Mayaların olgunlaşma süresince başlıca katkısı, özellikle ortam pH'sını azaltan laktik asidi kullanarak bakteriyel gelişmeyi desteklemek ve olgunlaşmanın ikinci kademesini başlatmaktır. Bunun yanında mayaların peynir lezzet ve aromasına katkıları, bazı türlerin genellikle laktozu fermente etme ve bunun sonucu olarak etanol, asetaldehit, etil asetat ve etil butirat oluşturmalarına bağlıdır. Bazı mayaların yüksek lipolitik ve proteolitik aktiviteye sahip olmaları, aminoasit, yağ asitleri ve esterler gibi aroma oluşumuna öncülük eden maddelerin meydana gelmesinde büyük rol oynamakta, bununla birlikte diğer mikroorganizmalar için gerekli B vitaminleri (pantotenik asit, niasin, riboflavin ve biotin) sentezlemektedirler (Lenoir, 1984; Ferreira ve Viljoen, 2003).

*Candida*, *Pichia*, *Metschnikowia*, *Cryptococcus* ve *Pseudozyma* gibi çeşitli türler, güçlü antifungal özellikleri olan litik enzimler, toksik proteinler, zehirli yağ asitleri ve etil asetat gibi ürünler üretirler ve bunlar fungusların biyolojik kontrolünde kullanılabilirler. Meyve, sebze ve tahıl ürünlerinin hasat öncesi ve sonrası fungal bozulmanın kontrolü olarak kullanılan bazı ticari ürünler artık piyasada da mevcuttur (Fleet, 2003; Passoth ve ark., 2006).

Török ve ark., (1991) bir dizi gıda ve içeceklerde yaptıkları çalışmada üç yıl boyunca 239 suş saklamış, standart metodlar ve ticari hızlı tanımlama kitleri (API 20C ve API YEAST-IDENT) kullanarak test etmişler.

Kolombiya fermente mısır ieinde yapılan bir çalışmada geleneksel identifikasyon ve moleküler (ITS1-5.8S rDNA-ITS2 bölgesi Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) metotları kullanılarak elde edilen 235 maya izolatı *Saccharomyces cerevisiae*, *Issatchenkia orientalis*, *Pichia fermentans*, *Pichia kluyveri* var. *kluyveri*, *Zygosaccharomyces fermentati*, *Torulospora delbruekii*, *Galactomyces geotrichum* ve *Hanseniaspora* spp. şeklinde tanımlanmıştır (Osorio-Cadavid ve ark., 2008).

Sampaio ve ark. (2007) yaptıkları bir çalışmada doğal dere yataklarıda su içinde bulunan okalıptus, meşe ve kıızılağaç yapraklarının dekompozisyonu (ürüme) süresince maya popülasyonu araştırıldı. Toplam 72 maya taksonu kaydedilirken, tüm aşamalarda *Cryptococcus albidus*, *Debaryomyces hansenii* and *Rhodotorula glutinis* başta olmak üzere 20 yaygın maya türleri tespit edilmiştir. Tüm yaprak türlerinde bazidiyomiçetöz maya türleri askomiçetöz maya türlerine göre daha baskın olduğu gözlenmiştir.

## 2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

### 2.1. Kullanılan Araç Gereç ve Sarf Malzemeleri

Araç gereç olarak, maya örneklerinin incelenmesi için kullanılan laboratuvar gereçleri; otoklav, mikrosantrifüj, mikrodalga fırın, etüv, hücre kültürü plakları, pastör fırını, çalkalayıcı su banyosu, karıştırıcı (vorteks), ısıtıcı, pH metre, buzdolabı, derin dondurucu, sınıf II güvenlik kabineti, hassas terazi, pastör fırını, saf su cihazı, mikroskop, UV-Transiliminatör, olimpus Bx51 araştırma mikroskobu ve Bab programı, vitek cihazı, manyetik bar, çeşitli cam malzemeler (5- 10 luk pipetler, bek alevi, vida kapaklı tüp, durham tüpü, pamuklu tüp, petri kutusu, mezür, balon joje, erlenmayer, lam, lamel, pastör pipeti, cam bağıt, filtre kağıdı), mikro pipet seti, mikro ve makro pipet uçları, pipet kutuları, pens, eppendorf tüpleri, öze, eküvyon çubukları, kenester (taşıyıcı), küçük plastik petripler, MacFarlant kalorimetre cihazı bulanıklılık için.

Kimyasal sarf malzemesi olarak; çalışmada kullanılan besiyerleri, kimyasal maddeler değişik firmalardan sağlandı. Dextroz (D-glukoz), sodyum klorür (NaCl), beef eksrat, maltoz, malt eksrat, yeast eksrat, beyin kalp infüzyonu (BHI), kongo kırmızısı, üre agar base, pepton, potasyum nitrat ( $KNO_3$ ), glukoz pepton yeast eksrat agar, triple sugar iron agar (TSIA), yeast extract, simmon's sitrat agar (merck), di-potasyum hidrojen fosfat ( $K_2HPO_4$ ) (Sigma), glukoz monohidrat (Merck, Almanya), potasyum iyodür, safranin, bacto pepton (Oxoid), sodyum hidroksit (NaOH), esculin, ferrik sitrat ( $FeC_6H_5O_7 \cdot nH_2O$ ), heart muscle, infusion, peptic digest of animal tissue, bromthymol blue, metil kırmızısı, n-naftol, hidroklorik asit (HCl), potasyum hidroksit (KOH), gliserol, magnezyum klorür (MgCl), sodyum sitrat, isoamil alkol, potasyum asetat, tween 20 (Merck), firmalarından sağlandı.

Poteto dextrose agar PDA (merck), saboraaud dextrose agar (SDA), dichloran rose bengal agar (DBRC), kligger iron agar (KIA), yeast eksrat broth (YE), yeast eksrat agar (YEA), malt eksrat agar (MEA), glukoz pepton yeast agar (GYPA), nutrient yeast dextroz agar (NYDA), slime agar (SA), sitrat agar, indol broth, üre agar besiyerleri (Merck, detrat, USA) ticari olarak elde edildi.

## 2.2. Kullanılan Kontrol Suşlar ve Suşların Saklanması

Çalışmada kullanılan *Candida albicans* ATCC60193, *Candida tropicalis* ATCC13803 ve *Saccharomyces cerevisiae* RSKK251 kontrol suşları Refik Saydam Hıfissihha Enstitüsü'nden ticari olarak temin edilmiştir.

İzole edilen tüm izolatlar Rize çay mantar anlamına gelen RCM olarak adlandırıldı. Taze sıvı kültürleri 7000 rpm'de çöktürüldü ve süpernatant kısmı döküldükten sonra, 1 ml steril sıvı besiyeri ile çözüldü. Daha sonra steril ependorf tüplere alındı, önceden steril edilmiş % 20 gliserol (%80'lik gliserol solusyonundan) ilave edildi ve etiketlenerek derin dondurucuda (-20 °C'de) saklamaya alındı. Etiketleme numune geliş sırasına göre rakam verilerek aynı numuneden izole edilen farklı izolatlara harf ve (örn.Rçm 2a vb.) saklama tarihi yazılarak stoklandı.

## 2.3. Kullanılan Ayıraçlar ve Boyalar

### 2.3.1. Safranin Solusyonu

Safranin	2.5 g.
Alkol (%95)	10 ml.
Distile su	100 ml.

Porselen krosede safranin alkol ile çözülüp koyu renk kapaklı şişeye aktarıldı. Üzerine distile su ilave edilerek tamamlandı. Bir gün bekletildikten sonra maya hücrelerinin spor boyanmasında kullanıldı (Koneman ve ark., 1997).

### 2.3.2. Malaşit yeşili Boya Solüsyonu

Malaşit yeşili	0.5 g
Distile su	100 ml

Porselen krosede malaşit yeşili ezilerek distile suda çözüldü, renkli kapaklı şişeye aktarıldı. Bir gün bekletildikten sonra maya hücrelerinin sporlarının boyanması için kullanıldı (Koneman ve ark., 1997).

### 2.3.3. Kovac's Ayıracı

İsoamil alkol	150 ml
P-dimetilaminobenzalaldehit	10 g
HCl konsantre	50 ml



Yukarıdaki kimyasallar kullanılarak hazırlandı ve kullanılacağı süreye kadar 4°C’de saklandı. İndol testi ayırıcı olarak kullanıldı (Bilgehan, 2004).

#### 2.3.4. Metil Kırmızısı Ayırıcı

Metil kırmızısı	0.05 g
Etil alkol (%95)	150 ml
Saf su	100 ml

Metil kırmızısı önce havanda etil alkolle dövülerek çözüldü ve karanlık kapaklı şişeye aktarıldı. Saf su ile tamamlandıktan sonra kullanılacağı süreye kadar 4°C’de saklandı (Bilgehan, 2004).

#### 2.3.5. Voges-Proskauer Ayıraçları

A) $\alpha$ -naftol	5 g
Etil alkol (%95’lik)	100 ml
B) Potasyum hidroksit	10 g
Distile su	100 ml

İki ayıraç arı ayrı hazırlandı ve kullanılacağı süreye kadar 4°C’de saklandı. Voges proskaver testi için kullanıldı (Bilgehan, 2004).

#### 2.3.6. Lugol Solusyonu

İyot	1 g
Potasyum iyodür	2 g
Distile su	300 ml

İyot solüsyonu nişasta hidroliz testi için hazırlandı. İyot ve potasyum iyodür havanda birlikte ezilip su ile homojenize edilerek çözünmesi sağlandı. Karanlık kapaklı şişeye alındı ve tam çözünmesi için bir gece bekletildi (Bilgehan, 2004).

#### 2.3.7. 1 N’lik NaCl Çözeltisi

NaCl	58.5 g
Distile su	1000 ml

Selüloz aktivitesini saptamak amacıyla kongo red (kırmızısı) ile boyanan agar plaklarının yıkanarak plaklardaki boya fazlasının uzaklaştırılmasında kullanılmak amacıyla 1 N NaCl çözeltisi hazırlandı (Hols ve ark., 1994).

### 2.3.8. Kongo Kırmızısı

Ticari olarak temin edilen kongo red boyasından 0,1 g tartılıp 100 ml saf suda çözüldü. Kullanılacağı süreye kadar oda ısısında bekletildi. Katı besiyerinde selüloz aktivitesinin saptanması amacıyla kullanıldı (Hols, vd., 1994).

### 2.4. Çalışmada Kullanılan Besiyeri

Çalışmada kullanılan besiyerlerinin bazıları ticari olarak hazır temin edilmiş, diğer bazıları ise içindekiler bir araya getirilerek konvansiyonel yöntemlerle hazırlanmıştır.

#### 2.4.1. Potato Dekstroz Agar (PDA) Besiyerinin Hazırlanması

Ticari olarak temin edilen Potato dekstroz agar (Difco, Detroid) besiyerinden 1 litre hazırlamak için 39 gram tartıldı ve 1 litre distile suda baget ve karıştırıcı yardımıyla çözüldü. Otoklavda 1.1 atmosfer basınç ve 121 °C'de 15 dakika steril edildikten sonra steril petri kaplarına 4 mm yükseklik olacak şekilde döküldü. Hazırlanan besiyerleri kullanılacakları süreye kadar kapalı kutularda +4 °C'de bekletildiler.

#### 2.4.2. Malt Ekstrakt Agar (MEA) Besiyerinin Hazırlanması

Maltoz	1.8 g
Malt Eksrat	6 g
Dektroz (D-glukoz)	6 g
Yeast Eksrat	1.2 g
Agar	15 g
Distile su	1000 ml

Yukarıda belirtilen kimyasallar tartılarak distile suda baget ve karıştırıcı yardımıyla çözüldü. Otoklavda 1.1 atmosfer basınç ve 121 °C'de 15 dakika steril edildikten sonra steril petri kaplarına 4 mm yükseklik olacak şekilde döküldü. Hazırlanan besiyerleri kullanılacakları süreye kadar kapalı kutularda +4 °C'de bekletildiler.

Maya örneklerinde ballistospor oluşumunun gözlenmesi için hazırlandı. 24-48 saatlik kültürlerden tek koloni düşürme tekniğiyle ekimleri yapılan plaklar 3. 5. 10. günler makroskopik ve mikroskop olarak incelendi. Ballitospor oluşumu gözlemek için oda ısısında 6 hafta bekletildi ve değişiklik gözlemlendi.

#### 2.4.3. Nutrient Yeast Dektroz Agar (NYDA) Besiyerinin Hazırlanması

Dektroz	1.25 g
Sodyum klorur	2.60 g
Beef ekstrat	5 g
Agar	5 g
Distile su	500 ml

Yukarıda belirtilen kimyasallar tartılarak distile suda baget ve karıştırıcı yardımıyla çözüldü. Otoklavda 1.1 atmosfer basınç ve 121 °C'de 15 dakika steril edildikten sonra steril petri kaplarına 4 mm yükseklik olacak şekilde döküldü. Hazırlanan besiyerleri kullanılacakları süreye kadar kapalı kutularda +4 °C'de bekletildiler.

Maya örneklerinde spor oluşumunun gözlenmesi için hazırlandı. 24-48 saatlik kültürlerden tek koloni düşürme tekniğiyle ekimleri yapılan plaklar 3. 5. 10. günler makroskopik ve mikroskop olarak incelendi. Spor oluşumu gözlemek için oda ısısında 6 hafta bekletildi ve değişiklik gözlemlendi.

#### 2.4.4. Slime Agar (SA) Besiyerinin Hazırlanması

Beyin kalp infüzyonu(BHI)	37 g
Glukoz	80 g
Kongo kırmızısı	0.8 g
Agar	10 g
Distile su	1000 ml

Yukarıda verilen karışımın tartılarak 1000 ml distile suda çözüldükten sonra de 1.1 atm basınçta 121°C'de 15 dk. Otoklav edildikten sonra steril koşullarda ve steril petri kaplarına 4 mm kalınlığında tevzi edildi. Plaklar donduktan sonra kullanılacağı süreye kadar buzdolabında +4°C'de kapalı bir kap içinde muhafaza edildi.

Slime aktivitesi maya mantarlarının patojenite faktörü varlığının tespiti için kullanıldı. Örneklerin 24-48 saatlik kültürlerden tek koloni düşürme yöntemi ile ekimler yapıldı. 3-5 gün 25 °C'de inkübasyonlarından sonra koyu kırmızı ya da kırmızı-pembe renklerin oluşumu pozitif, renk değişmemesi ise negatif olarak kabul edildi (Cevahir, 2003).

#### 2.4.5. Glukoz Pepton Yeast Ekstrat (GYPA) Agar ve Sıvı (GYPB) Besiyerleri

Aşağıda verilen karışımın tartılarak 1000 ml distile suda ısıtıcıli manyetik karıştırıcı yardımıyla çözüldükten sonra GYPA, 1.1 atm basınçta 121°C'de 15 dk. otoklav edildikten sonra steril petri kaplarına 4 mm kalınlığında tevzi edildi. GYPB ise çözüldükten sonra

tüplere 4 ml şeklinde tevzi edildi ve otoklavda steril edildi. Besiyerleri kullanılacağı süreye kadar GYPA buzdolabında +4°C'de kapalı bir kap içinde, GYPB oda ısısında muhafaza edildi.

Glukoz	20 g
Pepton	10 g
Maya ektrat	5 g
Agar	20 g
Distile su	1000 ml

GYPA besiyeri vegetatif hücrelerin morfolojik karakterlerinin belirlenmesi için kullanıldı. 24-48 saat maya izolatlarından çizgi ekim tekniğiyle ekim yapıldı. 25°C'de inkübasyona bırakıldı ve 2. 5. 10. ve 15. günlerde üremeleri makroskopik mikroskopik olarak izlendi. Lam-lamel preparatı alınıp mikroskopta spor oluşturup oluşturmadıkları incelendi.

GYPB besiyerleri, agar ilave edilmeden hazırlandı. Maya izolatların sıvı ortamda üretmek, tek koloniden saf olarak üretmek, saklamak, vegetatif hücrelerinde sıvı besiyerinde morfolojik özelliklerinin belirlemek gibi amaçları için kullanıldı. Maya kültürlerinden tek koloni alınarak ekim yapıldı ve 25°C'de 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. Nativ ve boyalı preparatlar hazırlanıp mikroskopta hifa veya maya formları gözlemlendi (Barnet ve ark., 1983).

#### **2.4.6. Kligger Agar Besiyerinin (KIA) Hazırlanması**

Ticari olarak temin edilen besiyerinden 55 gr tartılıp 1000 ml distile su içerisinde çözülerek hazırlandı. Vida kapaklı tüplerin herbirine 6 ml lacak şekilde dağıtıldı. 1.1 atm basınçta 121°C'de 15 dk. sterilizasyon işlemine tabi tutulduktan sonra yatık şekilde soğutuldu ve sland agar hazırlandı. Tüpler donduktan sonra kullanılacağı süreye kadar buzdolabında +4°C'de kapalı bir kap içinde muhafaza edildi.

Maya hücrelerinin glukoz ve klaktozu fermantatif olarak kullanıp kullanmadığını ve hidrojen sülfid ( $H_2S$ ) oluşturup oluşturmadığını belirleme amacıyla kullanılır. Bir veya iki günlük maya kolonilerinden öze yardımıyla alınıp aseptik şartlarda önce besiyerinin dik kısmına batırılması sonra yatık kısmın üzerinde zigzag çizerek ekim yapıldı. Ekimler 25 °C'de 3-5 gün inkübe edilmesi şeklinde test gerçekleştirildi.

KIA besiyerinde karbon kaynağı olarak laktoz ve glikoz bulunur. Buna göre; dip sarı (asit), yatık kırmızı (alkali) reaksiyon gösteren mayalar yalnız glikozu fermente ederler, laktozu etkilemezler. Dipte ve yatıkta sarı (asit) reaksiyon verenler hem glikozu hem de

laktozu fermente ederler. Hava kabarcıkları ya da çatlamaların varlığı bakterilerin gaz oluşturduğunu, siyah rengin oluşması ise H<sub>2</sub>S oluşumunu gösterir (Bilgehan, 2004).

#### 2.4.7. Üre Agar Hazırlanması

Ticari olarak temin edilen üre agardan 2.9 gram tartılıp 100 ml distile su içinde çözüldü, %1.5 agar ilave edildi ve 1.1 atm basınçta 121°C'de 15 dakik otoklav edildikten sonra 50°C'de su banyosunda bekletildi. Filtre ile steril edilen %1 üre solüsyonundan 5 ml ilave edildikten sonra steril plaklara 10-15 ml kadar döküldü. Kullanılacağı süreye kadar buzdolabında +4°C'de kapalı bir kap içinde muhafaza edildi.

Test edilecek maya izolatlarının 24-48 saatlik kültürlerinden bir öze dolusu ekim yapıldı ve 25 °C'de her gün kontrol edilmek üzere 5 gün inkübe edildi. Sonuçlar; birinci günde renk sarıdan koyu pembeye dönüşümü hızlı, 5. güne kadar renk değişimi zayıf pozitif ve renk değişimi olmayan kültürler ise üreaz aktivitesi negatif olarak değerlendirildi (Barnet ve ark., 1983; Bilgehan, 2004; Samson, ve ark., 2010).

#### 2.4.8. Nitrat Redüksiyon Testi

Beef Ektrat	3 g
Pepton	5 g
KNO <sub>3</sub> (potasyum nitrat)	1 g
Agar	12 g
Distile su	1000 ml

Yukarıda verilen maddeler belirtilen oranlarda tartılarak steril suda karıştırıcı yardımı ile çözüldü. Vida kapaklı tüplere 4 ml miktarında dağıtıldı ve 1.1 atm basınçta 121°C'de 15 dk. otoklavda steril edildi. Besiyeri kullanılacağı süreye kadar oda sıcaklığında muhafaza edildi. Test edilecek maya izolatlarının 24-48 saatlik kültürlerinden bir öze dolusu ekim yapıldı ve 25 °C'de her gün üremeleri kontrol edilmek üzere 5 gün inkübe edildikten sonra ayraçları damlatılarak nitratın nitrite, nitritin azot gazına kadar olan dönüşümleri test edildi. Bu süre sonunda bu kültüre sırasıyla önce A sonra B ayracından 1'er ml eklenir. 30 sn içinde kırmızı bir renk oluşması ortamda nitritlerin varlığını gösterir. 30 sn içinde renk oluşmazsa besiyerine bir miktar çinko tozu damlatılır. Çinko nitratları nitrite redükte eder. Tozun eklenmesiyle 30 sn içinde kırmızı renk oluşumu, besiyerindeki nitratların mayalar tarafından redükte edilmemiş, eklenen çinko tarafından redükte edilmiş olduğunu gösterir. Nitrat redüksiyon deneyi olumsuz olarak değerlendirilir. Çinko tozu

eklenmesine karşın yine renk oluşmazsa bu kez ortamda nitratın kalmamış olduğu nitratların maya tarafından nitritlerden de öteye amonyak, NO, NO<sub>2</sub> ve N gazlarına dönüştürülmüş olduğu anlaşılır. Bu durumda bakterilerin nitrat redüksiyon deneyi yine olumlu olarak değerlendirilir (Bilgehan, 2004).

#### 2.4.9. % 50 ve %60 Glukoz Agar

	<u>% 50</u>	<u>% 60</u>
Glukoz	500 g veya	600 g
Yeast exrat infussion	400 g	400 g
Agar	13 g	22.5 g
Distile su	1000 ml	1000 ml

Yukarıda belirtilen oranlarda (ayrı ayarı %50 ve %60 g lukoz) kimyasal maddeler tartılarak distile suda ısıtıcı karıştırıcı yardımı ile çözüldü. Vida kapaklı tüplere 6 ml miktarlarda dağıtıldı ve 110 °C'de 10 dakika otoklav edilir.

Maya hücrelerin ozmolaritesinin belirlemek amacıyla yatık agar olarak hazırlandı. 24-48 saat maya izolatlarından önce batırma sonra da yüzeye çizgi ekim tekniğiyle ekimleri yapıldı. 25°C'de inkübasyona bırakıldı, 2., 5. ve 10. günlerde üreme olup olmadığı izlendi (Wickerham, 1951).

#### 2.4.10. Nişasta (Starch) Üretme Testi

Glukoz	10.0 g
Bacto yeast nitrojen base	6,7 g
Agar	15.0 g
Distile su	1000 ml

Yukarıda verilen karışımın tartılarak 1000 ml distile suda ısıtıcı karıştırıcı yardımıyla çözüldükten sonra 1.1 atm basınç altında 121°C'de 15 dk. otoklavda steril edildi. Steril petri kaplarına 4 mm kalınlığında tevzi edildi. Plaklar kullanılacağı süreye kadar buzdolabında +4°C'de kapalı bir kap içinde muhafaza edildi (Yarrow, 1999).

Maya izolatlarında glukozdan nişasta üretebilme özelliğinin varlığını araştırmak amacıyla kullanıldı. Petri kaplarına 24-48 saatlik maya kültürlerinden tek koloni düşürme yöntemi ile ekimleri yapıldı. 5 gün 25 °C'de inkübasyonlarından sonra lugol ayırıcı ilave edildi. Kolonilerin etrafında mavi yeşil rengin oluşması maya izolatlarının nişasta üretme yeteneğine sahip olduklarını gösterdi. Renk değişimi olmayan örnekler ise negatif olarak kabul edildi.

#### 2.4.11. Esculin Sıvı Besiyeri

Heart muscle infusion	10 g
Peptic digest of animal tissue	10 g
Sodyum chloride	5 g
Esculin	1 g
Distile su	1000 ml

Yukarıda belirtilen kimyasallar tartılarak distile suda baget ve karıştırıcı yardımıyla çözüldü. Vida kapaklı tüplere 2 ml olarak tevzi edildi. Otoklavda 1.1 atmosfer basınç ve 121 °C'de 15 dakika steril edildikten sonra kullanılacakları süreye kadar oda ısısında bekletildiler (Koneman, 1997).

Maya izolatların eskülini kullanıp kullanmadıklarını test etmek için yapıldı. 24-48 saatlik sıvı ültürden 100 µl ekim yapıp 25 °C'de 3-5 gün bekletildi. Floresan ışığın altında tutulduğunda floresan vermeyenler pozitif, verenler ise negatif olarak değerlendirildi.

#### 2.4.12. Fermentasyon Test Besiyeri

Yeast ektrat	4,5 g
Pepton	7,5 g
Distile su	1000 ml
Bromthmyol blue (50 mg/75 H <sub>2</sub> O)	4 ml

Yukarıda belirtilen kimyasallar belirlenen oranlarda karıştırıldı ve 1.1 atm basınç ve 121 °C'de 15 dakika otoklavla steriledildi. Bu karışıma %2 oranında filtre ile steril edilen şeker solüsyonları (Glukoz, Galaktoz, Laktoz, Maltoz, Sukroz, Trehaloz ve Mellebiyoz, Cellobiyoz) ve nişasta ayrı ayrı ilave edilerek 5 ml şeklinde durhaym tüpü içeren tüplere steril şartlarda ilave edildi. Rafinoz için %4 kullanıldı.

Her bir tüpe 24-48 saatlik kültürlerden 10<sup>7</sup> kob/ml maya içeren taze maya süspansiyonu hazırlandı ve 100 µl ilave edilir. 25°C'de 10 gün inkübe edilir. Her gün gelişmenin desteklenmesi amacıyla tüpler çalkalandı ve gaz oluşumu takip edildi. Besiyerinin renginin sarıya dönmesi ve gaz oluşumuna göre test pozitif olarak değerlendirildi (Barnet, ark. 1983).

#### 2.4.13. İndol Test Besiyeri:

Bacto peptone	1,5 g
NaCl	0,5 g
Distile su	100 ml

Maya izolatlarının besiyeri ortamında bulunan triptofan aminoasidinden triptofanaz aracılığıyla indol oluşturmalarının araştırılması temeline dayanır. İncelenecek maya örnekleri 24-48 saatlik kültürleri indol besiyerine ekildi, 25°C’de 3-5 gün inkübe edildikten sonra kovaks ayıracından 6-8 damla damlatıldı. Üzerinde parlak kırmızı halka oluşturan suşlarda, indol pozitif olarak kabul edildi (Bilgehan, 2004).

#### **2.4.14. Metil Kırmızısı/Voges-Proskauer (MR-VP) Besiyeri:**

Bacto-peptone	7 g
Glukoz	5 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	5 g
Distile su	1000 ml (pH= 6.9)

Metil kırmızısı deneyi mayaları karbohidratları (glikozu) fermente etmeleri esnasında oluşan laktik, asetik ve formik asit gibi ürünlerden besiyerinin pH’sını metil kırmızısı ayıracı ile saptanabilecek derecede düşürmeleri temeline dayanır. Maya örneklerinden öze yardımıyla aseptik şartlarda besiyerine ekim yapıldı. 25°C’de en az 3-5 gün enkübe edildi. Bu süre sonunda besiyerine 5-6 damla ayıraç damlatıldı. Besiyerinde kırmızı renk oluşumu sonucun pozitif, turuncu ve sarı renk oluşumu ise sonucun negatif olduğunu gösterir (Bilgehan, 2004).

Glikozun fermantatif parçalanması esnasında oluşan pürivik asit bir kısım bakterilerde bulunan enzimatik sistemlerle daha ileriye doğru parçalanarak son ürün olarak asetoin oluşturur. Özel ayıraçlarla ortaya çıkan bu ürünü oluşturan mikroorganizmalara voges-proskauer olumlu olarak kabul edilir. Metil-Red besiyerine ekimleri yapılan ekimlerden 25 °C’de 3-5 gün inkübe edildi ve voger-proskauer ayıraçlarından ilk olarak 0.6 ml ayıraç I ( $\alpha$ -naftol), hemen arkasından 0.2 ml ayıraç II (potasyum hidroksit) damlatılır. Besiyerinin havayla temas etmemesi için çalkalanır. 10-15 dakika bekletilir. Bu süre sonunda kırmızı rengin oluşması sonucun pozitif olduğunu gösterir.

#### **2.4.15. Sitrat Agar Besiyeri**

Üretici firmanın (Merk, Almanya) önerileri doğrultusunda 225 g granül halindeki besiyeri tartılıp 1000 ml distile su içerisinde çözüldü ve tüplerin her biri 5 ml olacak şekilde dağıtıldı. 121 °C’de 1. 1 atm. Basınç altında 15-20 dk. Otoklav edildi. Yatık olarak donduruldu ve kullanılacağı süreye kadar oda ısısında bekletildi (Bilgehan, 2004).

Testinin amacı, mayaların tek karbon kaynağı olarak sitratı kullanma yeteneklerinin belirlenmesidir. Organizmalar sitratı hücre içine alan enzim olan permeaz ve parçalayan



enzim olan sitrat liyaza sahipse Simmon sitrat agarda alkali bir reaksiyon oluşturur. Besiyerinde bulunan bromthmol mavisi ayracının yeşil rengi maviye döner.

Yatık olarak tüplerde katılaştırılmış olan yeşil renkli Simmon's sitrat agar (pH 7.0) yüzeyine testi yapılacak maya kolonisinin bir kısmı öze ile yayılarak ekim yapıldı. Ağır. Tüp kapağı gevşek olarak kapatılıp 25°C' de 3-5 gün inkübe sonucunda prusya mavisi renk pozitif, besiyerinin normal rengi olan yeşil renk değişmemiş ise negatif olarak değerlendirildi.

#### **2.4.16. Karboxymethyl Cellulose (CMC) Agar**

Karboxymethyl cellulose	1.0 g
Maya ekstresi	1.0 g
NaCl	1.0 g
Tripton	1.0 g
Agar	1.5 g

İzole edilen maya suşlarında selülaaz aktivitesinin saptanması amacıyla kullanılmıştır. Bu amaçla PDA'da üretilen 24-48 saatlik maya izolatları, CMC agar besiyerine yoğun çizgi ekimi yöntemiyle ekildi. Ekim yapılan besiyerleri 25 °C'de 5 gün süre ile inkübe edildi. Selülaaz aktivitesinin belirlenmesi için petri kabı kongo kırmızısı ile boyandı. Rengin açılması için 1 N NaCl ilave edilerek 15 dakika beklemeye bırakıldı. Zemin kırmızı renge boyanırken selülaaz üreten kolonilerin çevresinde boyanmayan şeffaf zonlar meydana gelmesi selülaaz aktivitesi pozitif olarak kabul edildi (Hols, 1994; Özcan, 1992).

#### **2.4.17. Jerm Tüpü Oluşumu**

Jerm tüpü oluşumu testi için insan serumu kullanıldı. Serum kan bankasından temin edildi ve kullanılacağı süreye kadar -20°C'de bekletildi. Kullanma solusyonu ¼ steril su ile sulandırılarak taze olarak hazırlandı. Bu testte hücrelerden jerm tüpü oluşumu aranır. Bu amaçla 0.5-1.0 ml steril serum içinde test edilecek maya hücrelerinin taze kültürlerinden (1 günlük kültür)  $10^5$ - $10^6$  hücre/ml olacak şekilde süspansiyon hazırlandı ve 25°C'de 1-3 saat inkübe edildikten sonra mikroskopta lam lamel preparatı hazırlanarak jerm tüpü oluşumu incelendi. Flamentöz yapı oluşturan maya hücreleri pozitif olarak değerlendirildi. Negatif kültürler 24-48 saat bekletildikten sonra tekrardan kontrol edildi. Pozitif kontrol olarak *Candida. albicans* kullanıldı (Yarow, 1999).

#### **2.4.18. Spor Boyama**

Maya izolatlarının 2. 5. 10. ve 15. günlerinden alınan örneklerden preparat hazırlandı, kurutulup tespit edilir. Üzerine malaşit yeşili solusyonu döküldü, 80 °C de buharla alttan ısıtılarak, 5 dakika boyanması beklendi. Sonra su ile yıkandı ve safranin ile 10 saniye boyandı. Su ile yıkanıp kurutulduktan sonra immersiyon yağı kullanılarak Analiz programı (Bab) bağlantılı (BSPRO-200) araştırma mikroskopunda (Olimpus BX-51) ile incelenip görüntü alındı. Sporlar yeşil ve vejetatif yapılar ise kırmızı renkte boyanır (Barnet ve ark., 1983).

#### **2.4.19. Farklı Sıcaklıklarda Üreme Özelliği**

Maya izolatlarının 24-48 saatlik kültürlerden her birinden 3'er adet GYPB sıvı besiyerine ekimleri yapıldı. Her bir izolattan birer adeti 35, 42 ve 45 °C'de olmak üzere 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. Bu sıcaklıklarda üreme özellikleri olup olmadıkları araştırıldı (Barnet ve ark., 1983).

#### **2.4.20. Sıcaklık Tolerans Testi**

Maya izolatlarının GYPB sıvı besiyerinde 24-48 saatlik kültürlerden  $6 \times 10^6$  kob/ml maya içeren süspansiyon hazırlandı, 3'er adet steril endorf tüplerine 1 ml miktarında tevzi edildi. Her bir izolattan birer adeti 60, 80 ve 100 °C'de 10 dakika maruz bırakıldıktan sonra üzerine 1 ml taze sıvı besiyeri ilave edilerek 25 °C'de 24-27 saat inkübasyona bırakıldı. Kültürlerde üreme olan örnekler, o sıcaklığa toleransı pozitif, üreme olmayan kültürler negatif olarak değerlendirildi (Barnet ve ark., 1983).

#### **2.4.21. Vitek YBC Doğrulama Testi**

Ticari olarak Vitek YBC (Biomerieux, France) kiti temin edildi ve kitte verilen talimatlar doğrultusunda maya izolatlarının tür identifikasyonu yapıldı (El-zaatarı, 1990). Maya izolatlarının 24-48 saatlik taze kültürleri hazırlandı. Önceden hazırlanıp steril edilen 0,45 M'lik NaCl solüsyondan, 3 ml tüplere aktarıldı Vitek Colorimeter Product (No: 52-1210) cihazı kullanılarak maya süşunun McFarland 2 bulanıklılığı ayarlanarak numuneler hazırlandı. Vitek cihazına konulmak üzere kırmızı küçük plastik borular (Lot No: C200A) yardımıyla, tüplerin içindeki maya süspansiyonları kit içine Vitek vakumlama cihazıyla dolum yapıldı. Sonra inkübasyon için 30°C'de hem 24 hem de 48 saatlik inkübasyon

periyotlarından sonra vitek cihazında okumalar yapıldı. Test sonuçları, 24. veya 48. saatte pozitif olan değerler dikkate alındı.

## **2.5. Materyal Temini**

Bu çalışma 2004-2005 yılları arasında Çaykura bağlı iki (Zihniderin ve Cumhuriyet) fabrikada, 10 farklı işleme safhalarından alınan çay örneklerinden izole edilen (RÇM) ve Rize Ticaret Borsası Özel Gıda Kontrol Laboratuvarına gelen kuru siyah çay numunelerinden izole edilen maya izolatları (HTM) ile yapıldı. Maya izolatları bu tarihten beri “Rize Üniversitesi Mikrobiyoloji ve Moleküler Biyoloji Araştırma Laboratuvarı Kültür Koleksiyonu”ndaki derin dondurucuda stoklanmış olup çalışma için stoktan çıkartılıp 100 µl PDA besiyerine ekimleri yapıldı, 25 °C’de 24-72 saat üremeye bırakıldı. Plaktaki koloniler Harrigan ve Lachance, (1976)’a göre taranarak seçildi.

Bu örneklerin her bir koloni tipinin rastgele biri alınarak saf olarak GYPA besiyeri üzerine çizgi ekimle tek koloni düşürme tekniğiyle ekimleri yapıldı ve 25 °C’de 24-48 saat tekrar üretildi. Tek koloni alınarak GYPB sıvı besiyerinde tekrar 25 °C’de 24-48 saat saf kültürleri elde edilerek %20 gliserol ile GYPB besiyeri içinde ikişer adet -80°C ve -20°C’de, saklandı ( Osorio-Cadavid, ark., 2008).

## **2.6. Mayaların Tanımlanması**

### **2.6.1. Morfolojik ve Mikroskopik Tanımlama**

İlk önce hücre morfolojileri vegetatif üreme şekilleri incelendi. Sonra çeşitli testlere tabii tutuldu. Bunlar sırasıyla maya örneklerinde jerm tüpü oluşumu olup olmadığı, patojenite göstergesi olan slime faktörü bulunup bulunmaması, nişasta oluşturması, nişastayı kullanması, %50-%60 glukoz da üreme özelliği, ısı toleransı, farklı sıcaklıklarda üreyebilme, fermentasyon, çeşitli tanımlama testleri ve doğrulama testi olarak vitek 2 uygulanmıştır.

Koloni morfolojileri, mikroskopik morfolojileri, üreme özellikleri, spor oluşumları MEA, GYPA, NYDA ve PDA besiyerlerinde incelendi. Tablo 3’de verilen kriterler göz önüne alınarak morfolojik özellikleri incelendi. Işık mikroskobu görüntüleri Rize Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’nde bulunan analiz bağlantılı araştırma mikroskobunda (Olimpus BX51) araştırıldı ve görüntülendi.

Konvansiyonel maya izolasyonu Barnett, ark., (1983) tarafından önerilen şekilde yapıldı. Ön identifikasyon hücre morfolojisi, vegetatif üreme şekli, jerm tüpü oluşturma ve

fizyolojik karakterlerine göre yapıldı. Bu amaçla koloni morfolojisi, jerm tüpü oluşturmaları, spor özellikleri, mikroskopik morfoloji ve üreme formu poteto dextrose agar, malt extract agar vb. besiyerlerinde incelendi.

Ascospor oluşumu için poteto dextrose agar(PDA), saboraud dextrose agar (SDA), besiyerlerinde ekimleri yapıldı, 25°C de 4 hafta inkübe edilerek ve her 4 günde bir spor oluşumları izlendi. Koloni morfolojileri, mikroskopik morfoloji ve üreme formu, askospor, bazidiospor oluşumları farklı besiyerlerinde incelendi. Glukoz pepton yeast agar (GYPA), nutrient yeast dektroz agar (NYDA), malt extract agar (MEA) ve slime agar (SA) besiyerlerine ekimleri bu amaçlarla kullanıldı. Işık mikroskobu görüntüleri Rize Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde araştırma mikroskobunda ve görüntü işleme analiz sistemi kullanılarak yapıldı.

### 2.6.2. Kimyasal ve Fiziksel Özelliklerine Göre Tanımlama

Fermantasyon testi için 10 farklı karbon (glukoz, galaktoz, maltoz, laktoz, sükroz, nişasta, trehaloz, mellebioz, sellebioz, rafinoz) kaynağı kullanılarak elde edilen sonuçlar Barnet vd., (1983)'in verileriyle karşılaştırılarak tanımlama yapıldı. Ayrıca IMVIC testleri (Metil-red, voges proskaver, indol, sitrat), KIA, nitrat, nitrit, esculin, üreaz, selülaz ve nişasta üretimi gibi biyokimyasal özellikleri incelendi (Şekil 7).



Şekil 7. Maya izolatlarının identifikasyonu için kullanılan testlerden bir görünüm.

Maya izolatlarının fiziksel özellikleri olarak %50 ve %60 glukoz konsantrasyonunda üreyebilme, çeşitli sıcaklıklarda üreyebilme, yüksek sıcaklıklara toleransları incelendi.

Maya hücrelerinin sağlık açısından önemi olup olmadığını belirlemek üzere kapsül üretme özellikleri, slime faktörü ve jerm tüpü oluşturma özellikleri incelendi.

İzolatlarda endüstriyel açıdan önemli olan bir kısım enzim aktiviteleri araştırıldı. Bu amaçla nişasta kullanımı ve üretimi özelliği, selülozu parçalama (selülaz aktivitesi) , üreaz aktivitesi özellikleri test edildi. Suşların daha geçerli ve otomatize sistem olan Vitek identifikasyon kiti kullanılarak 25 farklı özelliği belirlendi ve standart suşların test sonuçlarıyla karşılaştırılarak %51-%100 doğrulukta tür tanısı yapıldı.

### 3. BULGULAR

Çalışmamızda, 2004-2005 yıllarında Çay-Kur'a bağlı iki (Zihniderin ve Cumhuriyet) fabrikadan, çay işleme aşamalarını temsilen 10 farklı noktadan alınan örneklerden (RÇM) ve Rize Ticaret Borsası, Özel Gıda Kontrol Laboratuvarı'na gelen ambalaj (siyah) çaylarda yapılan analizler sonucunda izole edilen (HTM) toplam 72 maya incelendi (Tablo 4). Maya izolatları bu tarihten beri Rize Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Mikrobiyoloji ve Moleküler Biyoloji Araştırma Laboratuvarı Kültür Koleksiyonu'nda muhafaza edildi.

Tablo 4. Çay numunelerinin alındığı noktalar ve maya izolasyon sayısı

Numune Alınan Nokta	Maya İzolasyonu	
	Sayı	Yüzde (%)
1. Fabrika Girişi	3	% 4,1
2. Soldurma Girişi	4	% 5,5
3. Solduma Çıkışı	5	% 6,9
4. Rotervan 1	10	% 13,8
5. Rotervan 2	3	% 4
6. Fermentasyon Girişi	7	% 9,7
7. Fermentasyon Ortası	4	% 5,5
8. Fermentasyon Çıkışı	5	% 6,9
9. Fırın Girişi	7	% 9,7
10. Fırın Çıkışı	2	% 2,7
11. Ambalaj	22	% 30,7
Toplam	72	

Örneklerin izolasyonu en fazla birinci kıvrıma (Rotervan), fermentasyon girişinden fırın girişine kadar olan evrede izole edildilmiş örnekler bulunmaktadır. Her aşamada daha fazla farklı maya izolatları izole edilmişti ancak, derin donurucudan canlandırılmadı. Bu açıdan tablo verileri irdelenmeyecektir.

İzole ve karakterize edilen maya örneklerinin katalog numaraları ve PDA besiyerinde koloni morfolojik özellikleri Tablo 5’de verilmiştir. İzolatların ikisi farklı renkte olup bunlar HTM 28 turuncu ve RÇM 40D sarı renkli koloni oluşturduğu gözlemlendi.

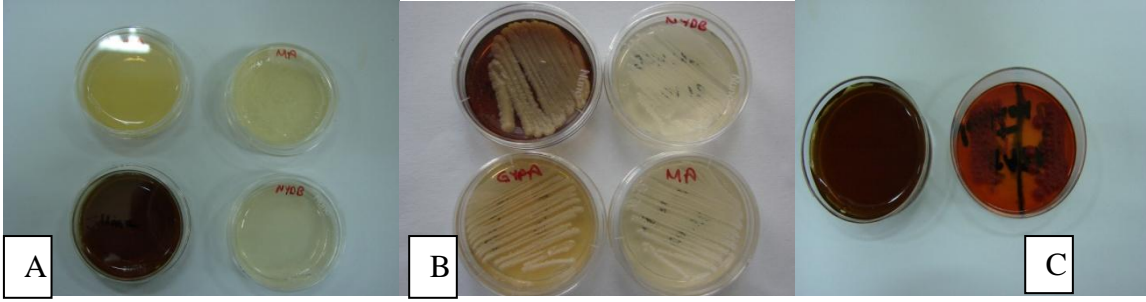
Tablo 5. İzole edilen maya suşlarının morfolojik özellikleri

Suş Adı	PDA morfolojik özellik
HTM 1	S-tipi, krem renkli, besiyerine yapışmayan koloni
HTM 2	S-tipi, krem renkli, besiyerine yapışmayan koloni
HTM 3	S-tipi, beyaz renkli, besiyerine yapışmayan koloni
HTM 4	S-tipi, krem renkli, besiyerine yapışmayan koloni
HTM 5	S-tipi, krem renkli, besiyerine yapışmayan koloni
HTM 6	S-tipi, beyaz renkli, besiyerine yapışmayan koloni
HTM 7	M tipi, krem renkli koloni
HTM 10	R-tipi, beyaz, besiyerine yapışmayan koloni
HTM 11	R-tipi, krem, besiyerine yapışmayan koloni
HTM 12	S-tipi, krem renkli, besiyerine yapışmayan koloni
HTM 13	S-tipi, krem renkli, besiyerine yapışmayan koloni
HTM 15	S-tipi, krem renkli, besiyerine yapışmayan koloni
HTM 16	S-tipi, krem renkli, besiyerine yapışmayan koloni
HTM 17	M-tipi, krem büyük, köşesi besiyerine yapışık, ortası yapışık değil.
HTM 18	M-tipi, krem koloniler
HTM 19	M-tipi, büyük, krem, besiyerine yapışık koloni.
HTM 20	M-tipi, büyük, krem, besiyerine koloni köşesinden yapışık koloni.
HTM 21	M-tipi, büyük, krem ve besiyerine yapışmayan koloni.
HTM 26	S-tipi, beyaz, besiyerine yapışmayan koloni
HTM 27	S-tipi, beyaz, besiyerine yapışmayan
HTM 28	S tipi, turuncu renkli kolon
HTM 29	S-tipi, Beyaz, besiyerine yapışmayan koloni
RÇM 1H	S-tipi, krem renkli, besiyerine yapışmayan koloni.
RÇM 4A <sub>1</sub>	R-tipi, krem renkli besiyerine yapışık koloni.
RÇM 4A <sub>2</sub>	R-tipi, krem renkli, besiyerine yapışan koloni.
RÇM4A <sub>x</sub>	R-tipi, krem renkli, besiyerine hafif yapışık koloni.
RÇM 4B	S-tipi, krem, besiyerine yapışık olmayan koloni.
RÇM 4C	M-tipi, krem-sarımsak pigment, hafif besiyerine yapışan koloni.
RÇM 7B	S-tipi, beyaz, besiyerine yapışmayan koloni.
RÇM 7C	S-tipi, beyaz, besiyerine yapışmayan koloni.
RÇM 9B	S-tipi, beyaz, besiyerine yapışmayan koloni.
RÇM 9D	S-tipi, beyaz, besiyerine hafif yapışık koloni.
RÇM 9E	S-tipi, krem renkli, besiyerine yapışmayan koloni.
RÇM 11	S-tipi, beyaz, besiyerine yapışmayan koloni.
RÇM 14	S-tipi, krem renkli, besiyerine yapışık koloni.
RÇM 16	S-tipi, beyaz, besiyerine yapışmayan koloni.
RÇM17C	R-tipi, krem renkli, besiyerine yapışık koloni.
RÇM18A <sub>2</sub>	S-tipi, krem renkli, besiyerine hafif yapışık koloni.
RÇM 18B	R-tipi, krem, besiyerine yapışan koloni.
RÇM 22	S-tipi, beyaz, besiyerine yapışmayan koloni.

RÇM 23	S-tipi, krem renkli, besiyerine yapışmayan koloni
RÇM 24	S-tipi, beyaz, besiyerine yapışmayan koloni.
RÇM 25	S-tipi, beyaz, besiyerine yapışmayan koloni.
RÇM3 <sub>2</sub> B <sub>2</sub>	R-tipi, krem renkli, besiyerine yapışan koloni.
RÇM 34D	S-tipi, krem renkli, besiyerine yapışmayan koloni
RÇM 35D	S-tipi, krem renkli, besiyerine yapışmayan koloni
RÇM 36B	S-tipi, beyaz, besiyerine yapışmayan koloni
RÇM 36C	M tipi, krem renkli, besiyerine yapışmayan koloni,
RÇM 37D	S-tipi, krem renkli, besiyerine yapışmayan koloni
RÇM 38B	R-tipi, beyaz, besiyerine yapışan koloni.
RÇM 40B	R-tipi, krem renkli, besiyerine yapışan koloni.
RÇM 40D	R-tipi, sarı renkli koloni.
RÇM 42H	S-tipi, beyaz renkli, besiyerine yapışan koloni.
RÇM 48E	S-tipi, beyaz renkli, besiyerine yapışmayan koloni.
RÇM 53L	S-tipi, krem renkli, besiyerine yapışmayan koloni.
RÇM 53L <sub>1</sub>	S-tipi, krem renkli, besiyerine yapışmayan koloni.
RÇM 53N	S-tipi, krem renkli, besiyerine yapışmayan koloni.
RÇM 55K	S-tipi, beyaz renkli, besiyerine yapışmayan koloni.
RÇM 56K	S-tipi, krem renkli, besiyerine yapışmayan koloni.
RÇM 84B	S-tipi, beyaz renkli, besiyerine yapışmayan koloni.
RÇM 86H	S-tipi, krem renkli, besiyerine yapışmayan koloni.
RÇM 86H <sub>1</sub>	S-tipi, beyaz renkli, besiyerine yapışmayan koloni.
RÇM 86H <sub>2</sub>	S-tipi, krem renkli, besiyerine yapışmayan koloni
RÇM 102J	S-tipi, beyaz renkli, besiyerine yapışmayan koloni.
RÇM104K	R-tipi, krem renkli, besiyerine yapışan koloni.
RÇM108C <sub>1</sub>	R-tipi, beyaz koloni, besiyerine yapışan koloni.
RÇM 119H	S-tipi, beyaz renkli, besiyerine yapışmayan koloni.
RÇM 133K	S-tipi, krem renkli, besiyerine yapışmayan koloni
RÇM 21B	S-tipi, krem renkli, besiyerine yapışmayan koloni.
RÇM 19B <sub>1</sub>	R-tipi, krem renkli, besiyerine yapışan koloni.
RÇM 19B <sub>2</sub>	R-tipi, krem renkli, besiyerine yapışan koloni.
RÇM 29C	R-tipi, krem renkli, besiyerine yapışan koloni.

İzolatların büyük çoğunluğu S (düzgün) tipi, krem veya parlak beyaz renkli, besiyerine yapışmayan koloni morfolojisi gösterirken, 8 izolat M (mukoit) tipi (HTM 7, 17-21, RÇM 4C ve 36C) ve 15 izolat ise R (pürtüklü) tipi koloni morfolojisine sahip olduğu belirlendi. Çalışmada kullanılan besiyerlerinde koloni tipi ve renk oluşumu şekil 8’ de görülmektedir.



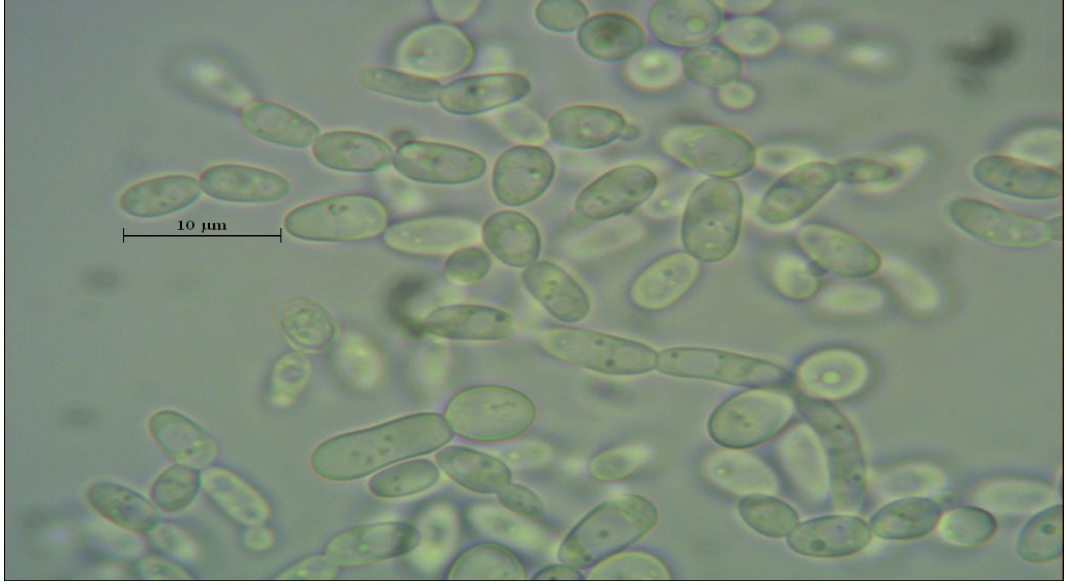


Şekil 8. Kullanılan bazı besiyerlerinde (GYPA, MEA, NYDA, SA) maya kültürleri. A. Besiyerlerinin ekim önceki görünüşleri, B- Ekim sonrası koloni morfolojileri ve SA üretimi negatif görünümü, C) SA üretimi pozitif görünüm.

Çalışmada 72 maya izolatında bir dizi fiziksel, biyokimyasal ve morfolojik özellikleri araştırıldı (Tablo 6). Tıbbi mikolojide patojenite faktörü olarak bilinen slime aktivite testi sonuçlarına bakıldığında 13 (%18) izolatta pozitif olduğu, diğerlerinin (%82) ise negatif olduğu belirlendi.

Örneklerin bir kısmı sıvı, bir kısmı katı bazıları ise her iki ortamda hifa oluşturdukları gözlemlendi. Herhangi bir ortamda hifa oluşturmayan suşlarda jerm tüpü testi yapıldığında ise pseudohifa oluşturduğu belirlendi (Tablo 6, Şekil 9). Çalışmada herhangi bir besiyerinde ve şartlarda hifa ya da pseudohifa oluşturmayan, sadece maya formunda bulunan suş sayısı 37 (%51.4) olarak belirlendi.

Fiziksel özellik olarak suşların ozmolaritesini belirlemek amacıyla yüksek şeker içerikli (%50 ve %60) ortamda üreme özellikleri incelendi (Tablo 6). İzolatların 32'si (%44.4) her iki ortamda da oldukça iyi üreme gösterdiği belirlendi. RÇM 7C ve RÇM 32B2 her iki ortamda da hiç üreyemediği, RÇM 38B zorlandığı ancak zayıf da (+/-) olsa ürettiği, HTM 12 ve RÇM 14 izolatları %50 şeker konsantrasyonunda üreyebildikleri fakat %60 konsantrasyonda üreyemedikleri belirlendi. RÇM 9D ve HTM 13'ün ise %50 şeker konsantrasyonunda iyi fakat , %60 konsantrasyonlarda ise zayıf üreyebildiği gözlemlendi.

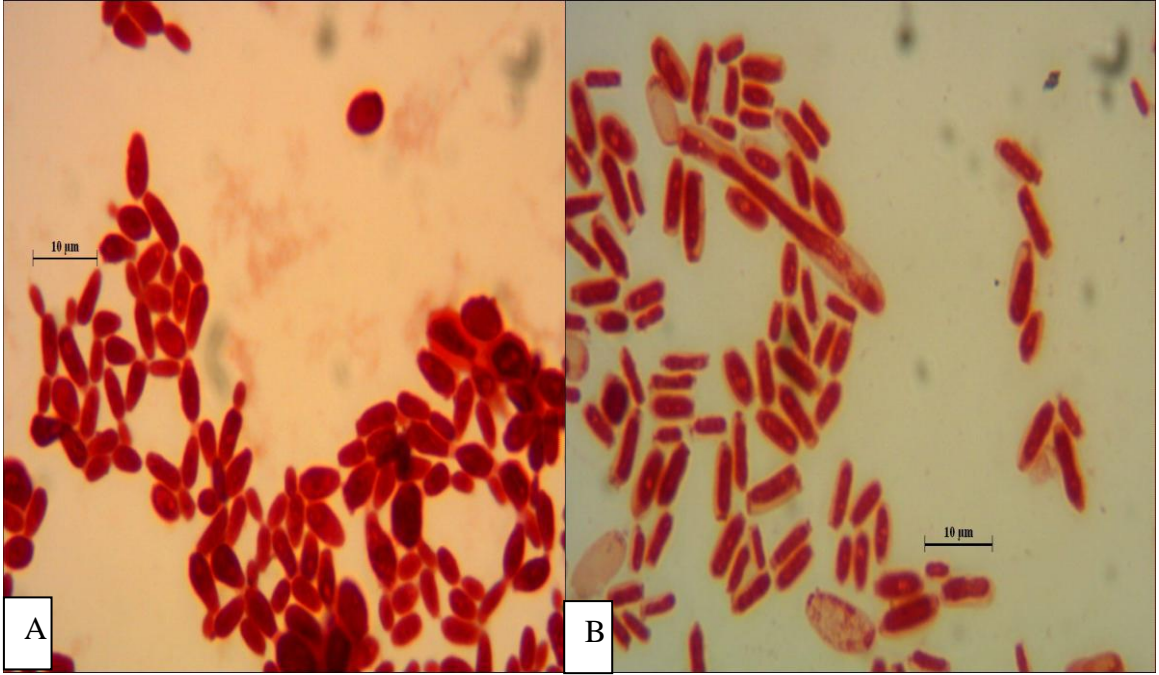


Şekil 9. *Candida tropicalis*, RÇM 18A<sub>2</sub>, jerm tüpü preparatının (100X) görünümü

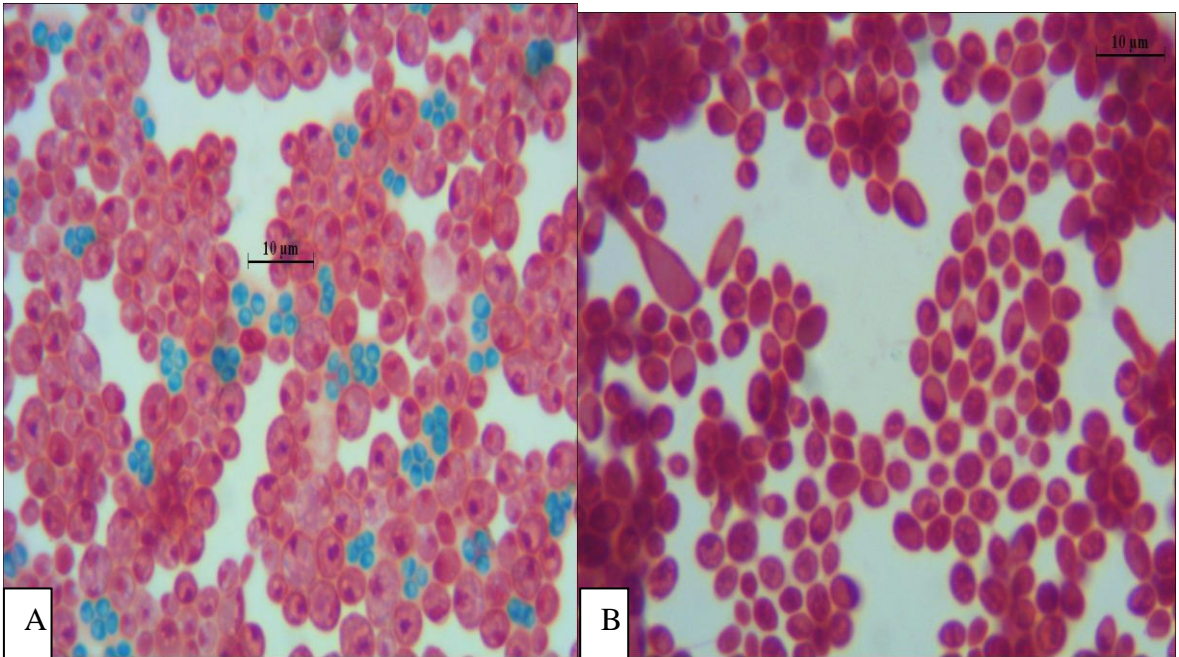
Çalışmamızda izole edilen mayaların belirli sıcaklıklarda üreme özellikleri test edildi. Tüm suşların 25 ve 36 °C’de üreyebildiği, ancak daha yüksek sıcaklıklarda birçoğunun üreyemediği belirlendi (Tablo 6). İzolatların hiçbiri 45 °C’de üreyemediği ancak 26 (%36,1) izolatın 42 °C’de üreyebildikleri, diğerlerinin ise bu sıcaklıklarda üreyemedikleri belirlendi.

Maya izolatlarının yüksek ısı ortamlarına toleranslarının belirlenebilmesi için 60, 80 ve 100 °C’lerde 10 dakika ısıya muamele edildiler (Tablo 6). Örneklerin tümü 10 dakika 60°C ısıya dayanabildikleri gözlemlendi. İzolatların 29 (%40.3)’u 80 °C’ye ve 5 (%6.9)’i ise 100 °C’ye 10 dakika tolerans gösterdikleri belirlendi.

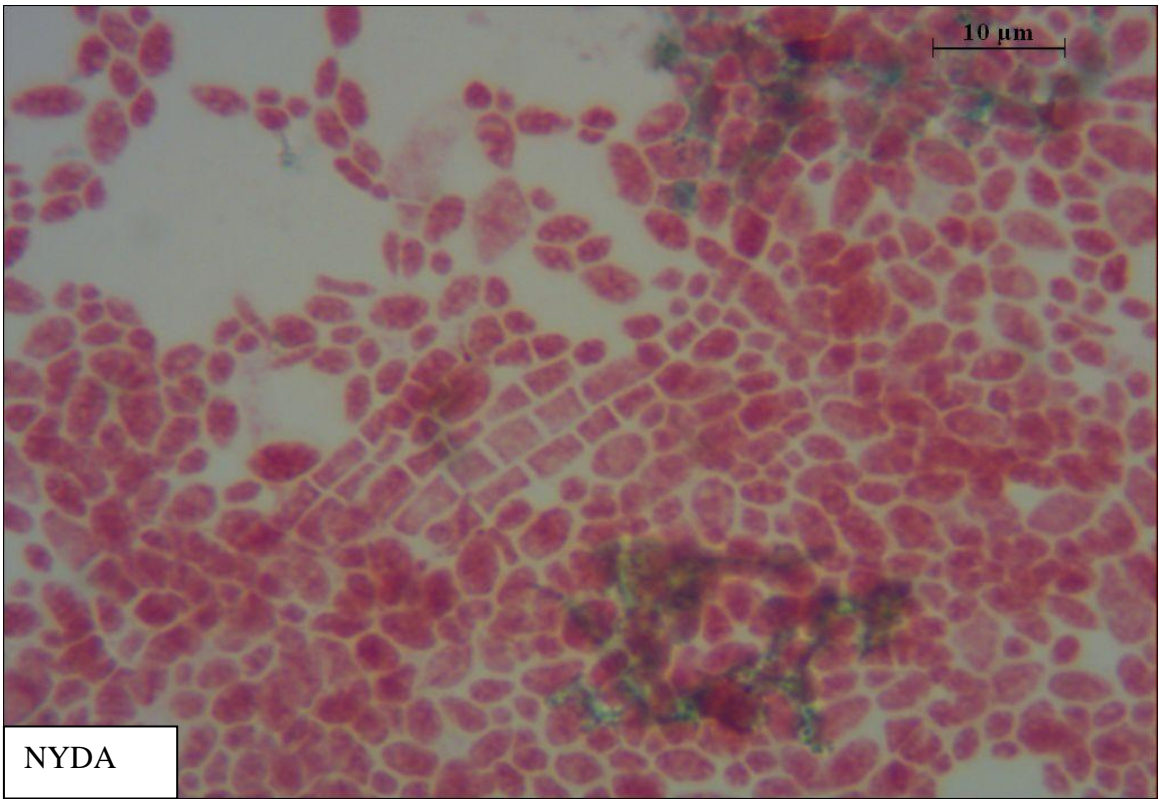
Çalışmada izolatların çeşitli besiyerlerine tomurcuklanma şekilleri ve spor oluşturma özellikleri incelendi. İzolatların 17’sinde ballitospore (Şekil 10), 3’ünde askospore (Şekil 11) ve birinde artrospore (Şekil 12) gözlemlendi (Tablo 6).



Şekil 10. *Candida tropicalis*, RÇM 4A<sub>x</sub>, safraninle boyama, preparatın 100X büyütmedeki çimlenme ve ballitospor oluşumlarının görünümü. A. SA, 3 günlük kültürde blastospor görünümü. B. NYDB,10 günlük kültür ballitospor görünümü.



Şekil 11. *Saccharomyces cerevisiae*, HTM 16, safranin ve malaşit yeşiliyle boyama, preparatın 100X büyütmedeki A. MEA 5 günlük kültür askospor görünümü B. NYDB 5 günlük kültürde ballitospor görünümü.



Şekil 12. *Cryptococcus laurentii*, HTM 18, safranin ve malaşit yeşiliyle boyama, preparatın 100X büyütmedeki 5 günlük kültürde artrospor görünümü

Tablo 6. İzole edilen maya izolatlarının bazı morfolojik, fiziksel ve kimyasal özellikleri

NO	Suş No	Slime üretimi	Jerm Tüpü	Glukoz Konsantrasyonu		42°C'de Üreme	Sıcaklık toleransı (10 dk.) °C			Tomurcuk-lanma şekli	Spor oluşturma
				%50	%60		60	80	100		
1	HTM 1	+	-	++	++	-	+	+	-	MP	-
2	HTM 2	-	+	++	+	-	+	+	+	MP	-
3	HTM 3	-	-	++	++	-	+	-	-	MP	-
4	HTM 4	-	+	++	++	+	+	-	-	MP	+ <sup>b</sup>
5	HTM 5	-	+	++	++	+	+	-	-	MP	+ <sup>b</sup>
6	HTM 6	-	-	++	++	-	+	+	-	MP	-
7	HTM 7	-	-	++	+	-	+	+	-	MP	-
8	HTM 10	-	+	++	+	+	+	-	-	MP	-
9	HTM 11	-	+	++	++	-	+	-	-	MP	-
10	HTM 12	-	-	+/-	-	+	+	+	-	ML	-
11	HTM 13	-	+	++	+/-	+	+	-	-	ML	-
12	HTM 15	++	-	++	++	-	+	-	-	MTP	-
13	HTM 16	-	-	++	+	-	+	+	-	MTP	+ <sup>b,asc</sup>
14	HTM 17	-	+	++	++	-	+	+	-	ML	-
15	HTM 18	++	+	++	+	-	+	+	-	MTP	+ <sup>art</sup>
16	HTM 19	-	+	++	++	-	NT	NT	NT	MTP	+ <sup>a</sup>
17	HTM 20	-	+	++	++	-	+	+	+	MTP	+ <sup>a</sup>
18	HTM 21	-	+	++	++	-	+	+	-	MTP	+ <sup>b</sup>
19	HTM 26	++	-	++	++	-	+	-	-	MTP	-
20	HTM 27	-	-	++	++	-	NT	NT	NT	MTP	+ <sup>b</sup>
21	HTM 28	++	-	++	++	-	+	+	-	MP	-
22	HTM 29	+	-	++	++	-	+	-	-	ML	-
23	RÇM 1H	-	-	+	+	-	NT	NT	NT	ML	-
24	RÇM 4A <sub>1</sub>	-	+	++	++	-	+	-	-	BP*	-
25	RÇM 4A <sub>2</sub>	-	+	++	+	-	+	+	-	MP	-
26	RÇM 4A <sub>x</sub>	-	+	++	+	-	+	+	-	BP	+ <sup>b</sup>
27	RÇM 4B	-	+	+	+	-	+	+	-	MP	-
28	RÇM 4C	-	-	+	+	+	+	-	-	ML	+ <sup>b</sup>
29	RÇM 7B	-	+	+	+	+	+	-	-	MTP	-
30	RÇM 7C	-	-	-	-	-	+	-	-	MP	-
31	RÇM 9B	-	+	++	+	+	+	+	+	ML	-
32	RÇM 9D	-	+	+	+/-	+	+	-	-	MP	-
33	RÇM 9E	-	-	++	+	-	+	-	-	MTP	-
34	RÇM 11	-	+	++	+	-	+	-	-	MTP	-
35	RÇM 14	-	-	+/-	-	+	+	+	-	MTP	-
36	RÇM 16	-	-	++	+	-	+	+	-	MTP	-

Tablonun Devamı

37	RÇM 17C	-	-	++	++	+	+	-	-	MP	-
38	RÇM 18A <sub>2</sub>	-	+	++	++	+	+	+	-	BP	+ <sup>b</sup>
39	RÇM 18B	-	+	+	+	+	+	+	-	MTP	-
40	RÇM 19B <sub>1</sub>	-	+	++	+	-	+	+	+	ML	-
41	RÇM 19B <sub>2</sub>	-	+	++	+	+	+	+	-	MP	-
42	RÇM 21B	++	-	++	+	-	+	+	-	MTP	-
43	RÇM 22	-	+	++	+	+	+	-	-	ML	-
44	RÇM 23	-	-	++	+	-	+	+	-	ML	-
45	RÇM 24	-	-	++	++	-	+	-	-	MTP	-
46	RÇM 25	-	-	+	+	-	+	-	-	ML	-
47	RÇM 29C	-	+	++	++	+	+	-	-	MP	-
48	RÇM 32B2	-	-	-	-	-	+	-	-	MTP	-
49	RÇM 34D	-	+	+	-	-	+	-	-	MP	-
50	RÇM 35D	+	+	+	+	-	NT	NT	NT	MP	-
51	RÇM 36B	-	-	+	+	-	NT	NT	NT	MP	+ <sup>b</sup>
52	RÇM 36C	-	-	++	+	-	+	+	-	MTP	-
53	RÇM 37D	-	-	++	++	+	+	-	-	ML	-
54	RÇM 38B	-	+	+/-	+/-	-	+	-	-	MP	+ <sup>b</sup>
55	RÇM 40B	-	+	++	++	+	+	+	-	MTP	-
56	RÇM 40D	++	+	+	+	-	+	-	-	MTP	-
57	RÇM 42H	-	+	++	++	+	+	-	-	MTP	-
58	RÇM 48E	-	-	++	++	-	NT	NT	NT	ML	+ <sup>b</sup>
59	RÇM 53L	-	-	++	++	+	+	-	-	BP	-
60	RÇM 53L <sub>1</sub>	+	-	++	++	-	+	+	-	MP	-
61	RÇM 53N	+	+	++	++	-	+	-	-	MP	+ <sup>b</sup>
62	RÇM 55K	+	-	++	++	+	+	+	+	BP	-
63	RÇM 56K	-	+	++	++	-	+	-	-	MTP	-
64	RÇM 84B	-	-	++	++	-	+	+	-	MP	+ <sup>b</sup>
65	RÇM 86H	-	-	+	+	-	+	-	-	ML	+ <sup>b</sup>
66	RÇM 86H <sub>1</sub>	-	-	+	+	+	+	+	-	ML	+ <sup>b</sup>
67	RÇM 86H <sub>2</sub>	-	-	+	+	-	+	-	-	ML	+ <sup>b</sup>
68	RÇM 102J	+	-	++	+	-	+	-	-	MTP	+ <sup>b</sup>
69	RÇM104K	-	+	+	+	+	+	-	-	MP	-
70	RÇM108C <sub>1</sub>	-	+	++	++	+	NT	NT	NT	MTP	-
71	RÇM 119H	-	-	++	++	+	+	-	-	MTP	-
72	RÇM 133K	-	-	+	+	-	+	-	-	MP	-
73	<i>C. albicans</i>	-	+	+	+	+	+	-	-	NT	-

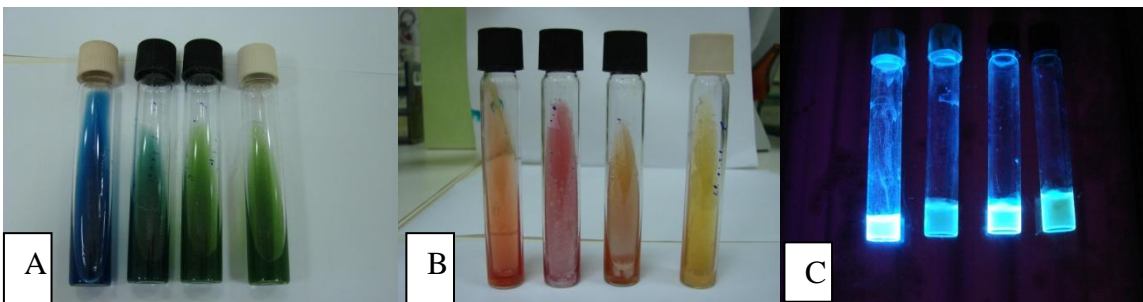
Slime aktivitesi için koloni rengine göre +; Pembe (zayıf aktivite), ++: Kırmızı (iyi aktivite), -; Krem rengi (aktivite yok), +<sup>b</sup> ; Ballitospora sahip olan, MP; Monopolar, ML; Monolateral, BP; Bipolar veya bilateral, MTP ; Multipolar veya multilateral, \*: Kapsüllü.

Maya örneklerinin fermentasyon ve biyokimyasal test sonuçları tablo 7’da verilmiştir. İzolatların 10’unda (%13,9) glikozu, 20’si (%27.8) sükrozu, iki izolatın (RÇM 9D ve RÇM 17C) laktoze ve yalnızca bir (RÇM 23) izolatının ise sellobiozu fermente edebildiği gözlemlendi. RÇM 17C ise test edilen 10 karbon kaynağından 7’sini fermente edebilme özelliğine sahip olduğu tespit edildi (Şekil 13).



Şekil 13. Maya izolatlarının karbonhidrat fermentasyon testlerinin görünümü. Sarı renk; pozitif, yeşil renk; negatif test sonucunu göstermektedir.

Çalışmada maya izolatlarının IMVIC test sonuçlarına bakıldığında tüm suşlarda indol (triptofanaz) negatif bulunurken yalnızca birkaç izolatta metilred-voges proskaver pozitif bulundu. Toplam 41 izolatta sitrat pozitif bulunurken, bunların 17’sinde güçlü pozitiflik gözlemlendi (Şekil 14).



Şekil 14. Bazı biyokimyasal testlerin görünümü. A) Sitrat, mavi renk; pozitif, yeşil renk; negatif sonucu göstermektedir. B) KIA, sırasıyla turuncu renk; asitliği, sarı renk; alkali olduğunu göstermektedir. C) Eskülin, parlak floresan; negatifliği, parlak olmayan görüntü pozitifliği göstermektedir.

Suşların üreaz aktivitelerine bakıldığında 9’unda güçlü olmak üzere toplam 25’inde (%34.7) aktivitesi (Şekil 15) pozitif olarak belirlendi (Tablo 7).

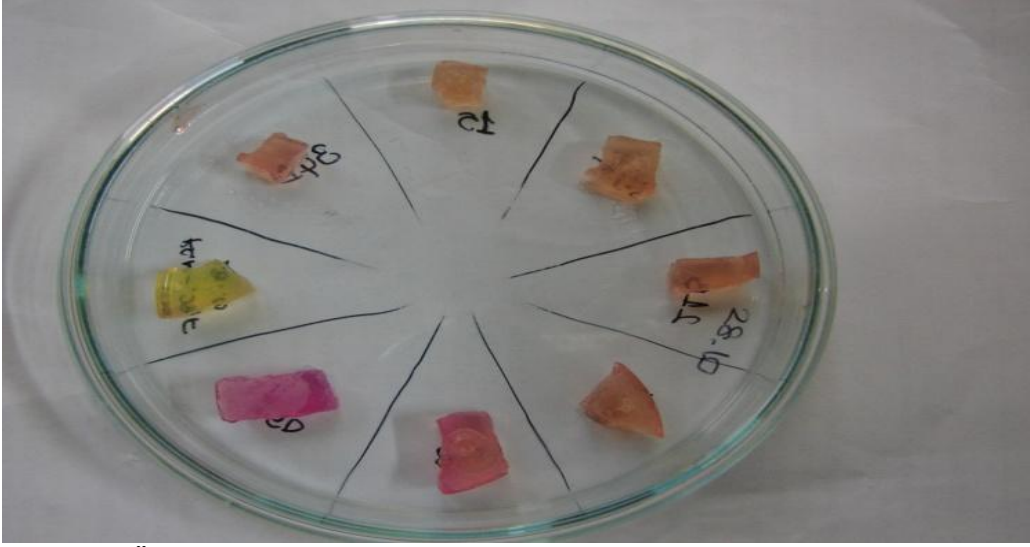
Tablo 7. İzole edilen maya suşlarının biyokimyasal özellikleri (5, 7 ve 10 gün )

NO	Suş No	Glu	Gal	Mal	Lak	Suk	Nişh	Trh	Mel	Cel	Raf	Sel	Niü	Vp	Mr	Nat	Nit	Kia	Esc	Sit	Üre	İn
1	HTM 1	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	3+	3+	-/+	-	+	-	A/alk*	+	-	+/-	-
2	HTM 2	-	-	-	-	-	++	-	-	-	-	2+	±	-	-	+	+	A/alk	+	+/-	-	-
3	HTM 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2+	-	-	-	+	+	A/alk	-	+++	-	-
4	HTM 4	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	2+	+	-	-	+	+	A/alk	-	+	-	-
5	HTM 5	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	2+	±	-	-	+	+	A/A	-	++++	++++	-
6	HTM 6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2+	-	-	-	+	+	A/alk	-	+++	-	-
7	HTM 7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3+	4+	-	-	+	+	A/A	-	-	++++	-
8	HTM 10	-	-	++	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	+	+	A/alk	-	-	-	-
9	HTM 11	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	A/alk*	-	-	-	-
10	HTM 12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	+	+	A/alk	-	-	-	-
11	HTM 13	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	+	-	A/alk	-	-	-	-
12	HTM 15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2+	-	-	-	+	+	A/A	+	-	-	-
13	HTM 16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	+	+	A/A	-	-	-	-
14	HTM 17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5+	2+	-	-	-	-	A/Alk*	-	++++	++++	-
15	HTM 18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5+	-	-	-	+	+	A/A	-	++++	+	-
16	HTM 19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6+	-	-	-	+	+	A/A	-	+	++++	-
17	HTM 20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5+	2+	-	-	-	-	A/A	+	++++	++++	-
18	HTM 21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5+	2+	-	-	+	+	A/Alk*	+	++++	++++	-
19	HTM 26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	2+	-	+	+	+	+	A/Alk*	+	++++	-	-
20	HTM 27	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	2+	-	-	-	+	+	A/A	-	+++	-	-
21	HTM 28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4+	-	-	-	+	+	A/A	-	-	+	-
22	HTM 29	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	A/Alk*	-	+	-	-
23	RÇM 1H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3+	3+	-	-	+	+	A/Alk	+	+	++++	-
24	RÇM 4A <sub>1</sub>	-	-	-	-	++	++	-	-	-	-	2+	±	-	-	-	-	A/Alk*	-	+	+/-	-
25	RÇM 4A <sub>2</sub>	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	A/Alk*	-	+	-	-
26	RÇM 4A <sub>x</sub>	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	3+	-	-	-	-	-	A/Alk*	-	+	+/-	-
27	RÇM 4B	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	A/A	+	+/+	-	-
28	RÇM 4C	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	2+	-	-	-	+	+	A/Alk	+	-	-	-
29	RÇM 7B	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	3+	-	-	-	+	+	A/Alk	-	+	-	-
30	RÇM 7C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	A/Alk	-	+/-	-	-
31	RÇM 9B	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	±	-	-	-	+	+	A/A	-	-	-	-
32	RÇM 9D	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	2+	-	-	-	+	+	A/Alk	-	-	-	-
33	RÇM 9E	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	A/Alk	-	-	+	-
34	RÇM 11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	2+	-	-	+	-	-	A/Alk*	-	-	+/-	-
35	RÇM 14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	A/Alk*	+	++++	-	-
36	RÇM 16	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	A/A	-	+	-	-
37	RÇM 17C	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	2+	±	-	-	+	+	A/Alk*	-	+	++++	-
38	RÇM 18A <sub>2</sub>	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	2+	-	-	-	+	+	A/Alk	-	+	-	-
39	RÇM 18B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3+	-	-	+	+	+	A/Alk	-	++	-	-



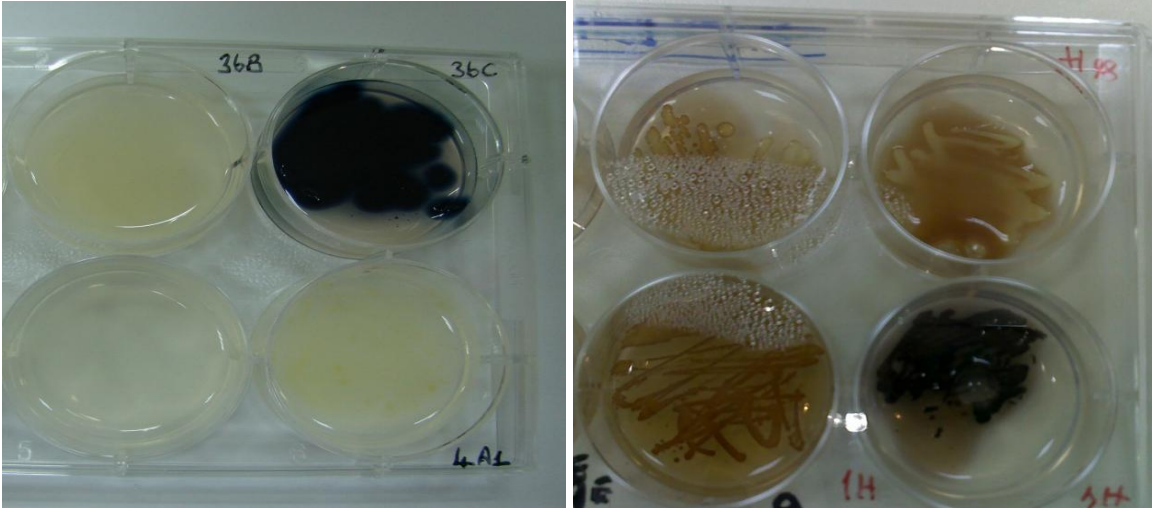
40	RÇM 19B <sub>1</sub>	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	3+	2+	-	-	-	-	A/Alk*	-	-	+/-	-
41	RÇM 19B <sub>2</sub>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2+	-	-	-	-	-	A/Alk*	-	+	-	-
42	RÇM 21B	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	2+	4+	-	-	+	+	A/Alk*	-	-	+	-
43	RÇM 22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	A/Alk*	-	-	+	-
44	RÇM 23	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	2+	-	-	-	-	-	A/Alk*	+	+/-	-	-
45	RÇM 24	+	-	-	-	-	-	NT	-	NT	-	+	-	-	+	-	-	A/Alk*	-	+	+	-
46	RÇM 25	+	++	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	A/A	-	-	-	-
47	RÇM 29C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2+	-	-	-	-	-	A/A	+	+/-	-	-
48	RÇM 32B <sub>2</sub>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5+	-	-	+	+	+	A/Alk	+	-	+	-
49	RÇM 34D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	+	+	A/A	-	-	-	-
50	RÇM 35D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NT	-**	-	-	+	+	A/Alk*	+	++++	++	-
51	RÇM 36B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2+	-	-	+	+	+	A/A	+	-	+/-	-
52	RÇM 36C	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	3+	5+	-	+	-	-	A/A	-	-	+	-
53	RÇM 37D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2+	-	-	-	+	+	A/Alk*	-	-	-	-
54	RÇM 38B	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2+	+	-	-	+	+	A/Alk*	-	+	-	-
55	RÇM 40B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	A/Alk*	-	-	-	-
56	RÇM 40D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	A/A	-	-	-	-
57	RÇM 42H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4+	-	-	-	+	+	A/Alk*	-	+	-	-
58	RÇM 48E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	A/Alk	+	+/-	-	-
59	RÇM 53L	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2+	-	-	-	+	+	A/Alk*	-	++++	-	-
60	RÇM 53L <sub>1</sub>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2+	-	-	-	+	+	A/Alk*	-	++++	-	-
61	RÇM 53N	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	A/A	+	+	-	-
62	RÇM 55K	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	2+	-	-	-	+	+	A/Alk*	-	-	-	-
63	RÇM 56K	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	A/Alk*	-	++	-	-
64	RÇM 84B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	A/Alk*	+	++++	-	-
65	RÇM 86H	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+	A/Alk	-	-	-	-
66	RÇM 86H <sub>1</sub>	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	2+	-	-	-	+	+	A/Alk	-	-	-	-
67	RÇM 86H <sub>2</sub>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	A/Alk	-	-	-	-
68	RÇM 102J	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	A/A	-	++++	-	-
69	RÇM104K	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	2+	-	-	-	-	-	A/Alk*	-	+	+/-	-
70	RÇM108C <sub>1</sub>	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	A/Alk*	-	-	-	-
71	RÇM 119H	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	3+	-	-	-	+	+	A/A	-	-	-	-
72	RÇM 133K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	+	-	-	A/A	-	-	+/-	-
73	<i>C. albicans</i>	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	A/A	-	+	-	-

Glu; Glükoz, Gal; Galaktoz, Mlt; Maltoz, Lak; Laktoz, Suk; Sükröz, Mel; Mellobioz, Cel; Celobioz, Raf; Rafinoz, Sel; Selülaz, Niü; Nişasta üretimi, Vp; Voges proskaver, Mr; Metilred, Nat; Nitrat, Nit; Nitrit, Kıa; Üçşeker, Esc; Eskulin hidrolizi, Sit; Sitrata, Üre; Üreaz aktivitesi, İn; İndol, A/Alk\*. 24-48 saatteki sonucu; -, test olumsuz, +; Test olumlu, ++++; Test güçlü pozitiflik, +/-; Test zayıf pozitiflik, NT: Test edilemedi. \*\*: Hidrofobik özellik gösteriyor



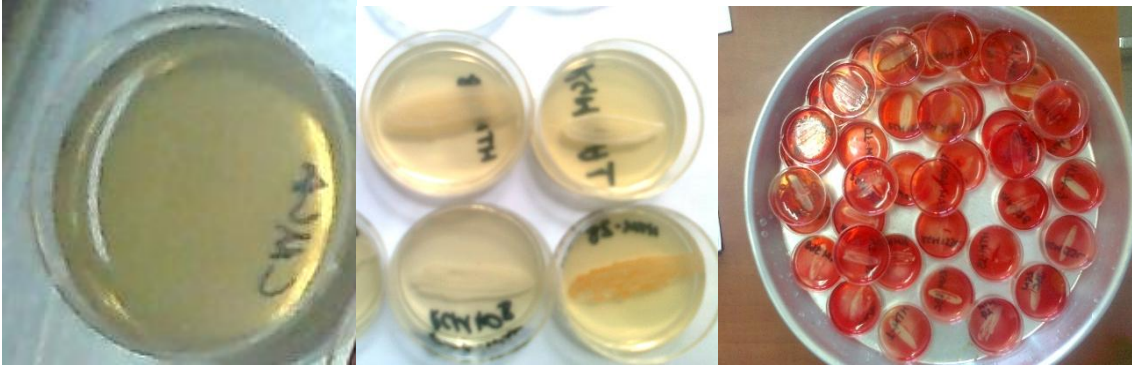
Şekil 15. Üreaz besiyeri görünüşü. Pembe renk pozitif, turuncu ve sarı renk negatif sonuçları göstermektedir.

Glikozdan nişasta üretimi testine bakıldığında 15 suşun bu özelliği taşıdığı, bunların da özellikle 5 tanesinin güçlü bir aktiviteye sahip olduğu gözlemlendi (Tablo 7). HTM 2 ve RÇM 4A<sub>1</sub> suşlarının ise güçlü nişastayı fermente yeteneğine, bunun aksi olarak da zayıf nişasta üretme yeteneğine sahip oldukları belirlendi (Şekil 16).



Şekil 16. Nişasta Üretimi Besiyeri görünüşü. Siyah renk oluşumu güçlü nişasta üretimini, kahve renk oluşumu zayıf pozitifliği, renk oluşmayışı ise negatifliği göstermektedir.

Maya izolatlarının 70 'inde (%97) selüloz aktivitesi gözlemlenmiştir, bunlar 43'ü güçlü pozitiflik, 25'i zayıf pozitiflik, 2'si negatif sonuç göstermiştir (Şekil 17). Tüm suşların selüloz üretimi doğal olarak beklenen özellik olup iyi aktivite gösterenlerin ekonomik açıdan önemi bulunmaktadır.



Şekil 17. Selülaz üretimi testi görünümü sırasıyla, ekim öncesi besiyeri görünümü, ekim sonrası görünüm, selülaz aktivitesi pozitif sonuç görünümü (ekim çizgisinde kırmızı renk oluşması)

Çalışmada toplam 72 maya izolatının tür tanımlanması çeşitli morfolojik ve biyokimyasal testlere göre yapılmaya çalışıldı. Ancak karbon asimilasyon testleri ve diğer bazı testlerin pratik ve hızlı olarak belirlenebilmesi için vitek doğrulama testi kullanıldı. Bu test sonuçlarına göre izolatların 71'i (%98.6) %50-99 doğruluk payı ile tanımlandı, yalnızca bir izolat (RÇM 16) tanımlanamadı (Tablo 8).



Şekil 18. Vitek doğrulama kitinin 48 saat inkübasyon sonunda alt ve üs taraftan görünüşü

Tablo 8. İzole edilen maya suşlarının vitek testine göre tanımlama sonuçları (48 saat sonraki sonuçlar)

Suş no	Gal	Lac	Suc	Mlt	Cel	Amg	Xyl	Ara	Tre	Mlz	Raf	Nag	Xlt	Dul	Ado	Pal	Gly	Sor	Ery	Mel	Cyc	Glu	Ino	Nit	2kd	Ure	Tahmini tür
HTM 1	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	%53 <i>Cryp. humicolus</i>
HTM 2	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	%78 <i>Tric. pulluans</i>
HTM 3	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	%96 <i>C. famata</i>
HTM 4	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	+	-	%89 <i>C. tropicalis</i>
HTM 5	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	%89 <i>C. tropicalis</i>
HTM 6	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-	%80 <i>C. parapsilosis</i>
HTM 7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	%93 <i>Cryp. laurentii</i>
HTM 10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	%94 <i>C. krusei</i>
HTM 11	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	+	-	%89 <i>C. tropicalis</i>
HTM 12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	%94 <i>C. krusei</i>
HTM 13	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	+	-	%89 <i>C. tropicalis</i>
HTM 15	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	%71 <i>Cryp. humicolus</i>
HTM 16	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	%99 <i>S. cerevisiae</i>
HTM 17	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	%94 <i>Cryp. laurentii</i>
HTM 18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	%94 <i>Cryp. laurentii</i>
HTM 19	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	%94 <i>Cryp. laurentii</i>
HTM 20	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	%94 <i>Cryp. laurentii</i>
HTM 21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	%94 <i>C. krusei</i>
HTM 26	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	%88 <i>C. famata</i>
HTM 27	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	%96 <i>C. famata</i>
HTM 28	+	-	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	%99 <i>Tric. pullulans</i>
HTM 29	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	%96 <i>C. famata</i>
RÇM 1H	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	%98 <i>Cryp. laurentii</i>
RÇM 4A1	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	+	-	%72 <i>C. parapsilosis</i>
RÇM 4A2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	%87 <i>Cryp. humicolus</i>
RÇM 4AX	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	+	-	%89 <i>C. tropicalis</i>
RÇM 4B	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	%54 <i>C. lusitanise</i>



RÇM 42H	+	-	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+*	+	-	-	+	-	%85C. parapsilosis	
RÇM 48E	+	-	+	+	+	+*	+	+*	+	+	+	+	+*	-	+	+	+	+	+	+	+*	-	+	-	-	+	-	%96 C. famata
RÇM 53L	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-	%80 C. parapsilosis	
RÇM 53L1	+	-	+	+	-	+	+	+*	+	+	-	+	+	-	+*	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-	%95 C. parapsilosis	
RÇM 53N	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	%69 C. lusitaniae	
RÇM 55K	+	-	+	+	-	+	+	+	+*	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-	%80 C. parapsilosis	
RÇM 56K	+	-	+	+	-	+	+	-	+*	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+*	+	-	-	+	-	%51 C. tropicalis	
RÇM 84B	+	-	+	+	+*	+	+*	+*	+*	+	+*	+	+*	-	+	+	+*	+	+*	+*	-	+	-	-	+	-	%96 C. famata	
RÇM 86H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+*	+	-	-	-	-	%85 C. krusei	
RÇM 86H1	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+*	+	-	-	+	-	%93 C. tropicalis	
RÇM 86H2	+*	-	+	+	-	+	+	-	+*	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+*	+	-	-	+	-	%93 C. tropicalis	
RÇM 102J	+	-	+	+	+	+	+*	-	+*	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+*	-	+	-	-	+	-	%94 C. famata	
RÇM 104K	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+*	+	-	-	+	-	%89 C. tropicalis	
RÇM 108C1	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+*	-	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	%96 C. tropicalis	
RÇM 119H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+*	+	-	-	-	-	:%85 C. krusei	
RÇM 133K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	%85 C. krusei	
C. albicans	+	-	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	Kontrol	
C.tropicalis	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	Kontrol

\*: 48. Saat sonunda pozitif olanlar, Gal; galaktoz, Lac; laktoz, Suc; sükröz, Mlt; maltoz, Cel; sellobiyoz, Amg; metil D-glikozit, Xyl; ksilol, Ara; arabinoz, Tre; trehaloz, Mlz; melezitoz, Raf; rafinoz, Nag; N-acetil glukozamin, Dul; dulkitol, Ado; adonitol, Pal; palatinoz, Gly; gliserol, Sor; sorbitol, Ery; eritrol, Mel; mellebiyoz, Cyc; sikloheksimit, Glu; glukoz, Ino; inositol, Nit; nitrat, 2kd; 2-keto-D-glukonat, Ure; üre medium.

*Trichosporon pullulans* (*Tric. pullulans*), *Candida krusei* (*C. kcrusei*), *Candida tropicalis* (*C. tropicalis*), *Candida famata* (*C. famata*), *Candida lusitaniae* (*C. lusitaniae*), *Candida parapsilosis* (*C. parapsilosis*), *Cryptococcus laurentii* (*Cryp. laurentii*), *Geotrichum capitatum* (*G. capitatum*), *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*), *Candida guilliermondii* (*C. guilliermondii*),

Çalışma sonucunda toplam 72 maya izolatının tanımlanması yapıldığında 5 farklı cins ve 13 farklı türün varlığı belirlendi (Tablo 9). Bu tablo verilerine göre çay örneklerinden izole edilen mayalar içinde en fazla belirlenen cins *Candida*, en fazla belirlenen türler ise sırasıyla *Candida tropicalis* (%27.7), *C. famata* (%13,8), *Candida krusei* ile *Cryptococcus laurentii* (%11.1) olarak tespit edildi.

Tablo 9. Maya izolatlarının vitek doğrulama test sonuçlarına göre cins ve tür dağılımı.

Cins	Tür	Sayı (n)	Yüzde
<u>Ascomycetous</u>	<i>Candida tropicalis</i>	20	27.7
Candidaceae	<i>Candida famata</i>	10	13.8
<i>Candida</i> (A*)	<i>Candida krusei</i>	8	11.1
	<i>Candida parapsilosis</i>	7	9.72
	<i>Candida lusitaniae</i>	4	5.55
	<i>Candida albicans</i>	3	4.0
	<i>Candida guilliermondii</i>	1	1.38
Dipodascaceae <i>Geotrichum</i> (A)	<i>Geotrichum capitatum</i>	2	2.77
Saccharomycetaceae <i>Saccharomyces</i> (T**)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2	2.77
<u>Basidiomycetous</u>	<i>Cryptococcus laurentii</i>	8	11.1
Hymenomycetes	<i>Cryptococcus humicolus</i>	3	4.16
Trichosporales <i>Cryptococcus</i> (A)	<i>Cryptococcus luteolus</i>	1	1.38
<i>Trichosporon</i> (A)	<i>Trichosporon pulluans</i>	2	2.77
Tanımlanamayan	Tanımlanamayan	1	1.38
<b>Toplam</b>		72	

\*A: Anamorf formu, \*\*T: teleomorf form

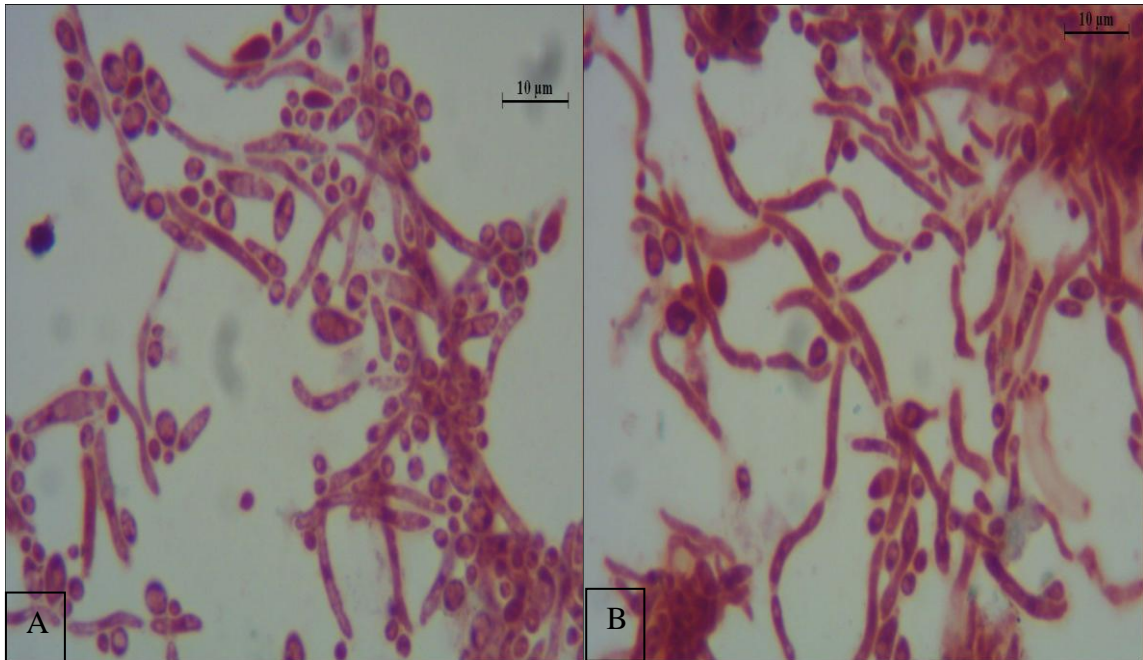
İzolatların 29'unda (%40.0) siklohekzimit (%001'lik) direnci pozitif belirlendi. Vitek doğrulama kitinin uygulandıktan ve 48 saat inkübasyondan sonraki görünümü şekil 18 de verilmiştir. Çalışmada siklohekzimit direncinin tür dağılımına göre bakıldığında ise 4

tanesi dışında *Candida* cinsine ait türler olduğu, *C. albicans* suşlarının tümünde ise pozitifliğin varlığı görülmektedir (Tablo 10).

Tablo 10. Siklohegzimit direnci pozitif olan türlerin dağılımı

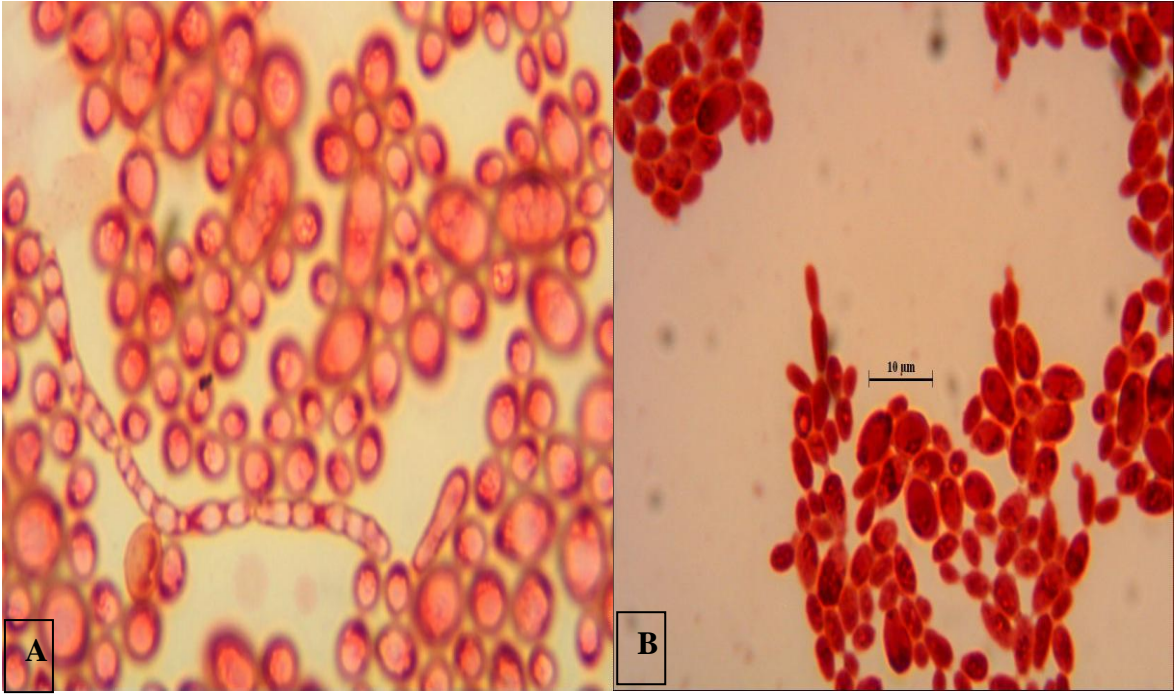
Maya Türleri (Toplam sayı)	Suş No	Sayı	Yüzde
<i>C. tropicalis</i> (20)	HTM 4, HTM 11, HTM 13, RÇM 4AX, RÇM 7B, RÇM 9D, RÇM 18A2, RÇM 29C, RÇM 38B, RÇM 40B, RÇM 40D, RÇM 104K, RÇM 86H1*, RÇM 86H2*, RÇM56K**	15	75.0
<i>C. parapsilosis</i> (7)	RÇM 4A1, RÇM 17C, RÇM 42H	3	42.9
<i>C. albicans</i> (3)	RÇM 11, RÇM 37D, RÇM 18B	3	100.0
<i>C. krusei</i> (8)	RÇM 86H, RÇM 119H, RÇM 133K	3	37.5
<i>C. guilliermondii</i> (1)	RÇM 19B1	1	100.0
<i>C. famata</i> (10)	-	-	-
<i>C lusitaniae</i> (4)	-	-	-
<i>Cryp. humicolus</i> (3)	HTM 15	1	33.4
<i>Cryp. laurentii</i> (8)	RÇM 1H	1	12.5
<i>Cryp. luteolus</i> (1)	-	-	-
<i>Tric. pullulans</i> (2)	HTM 28	1	50.0
<i>G. capitatum</i> (2)	-	-	-
<i>S. cerevisiae</i> (2)	-	-	-
Tanımlanamayan (1)	-	-	-
Toplam (72)		28	38.9

Çalışmada izole edilen bazı maya izolatlarının mikroskopik görünüşleri aşağıda gösterilmektedir (şekil 19-28).

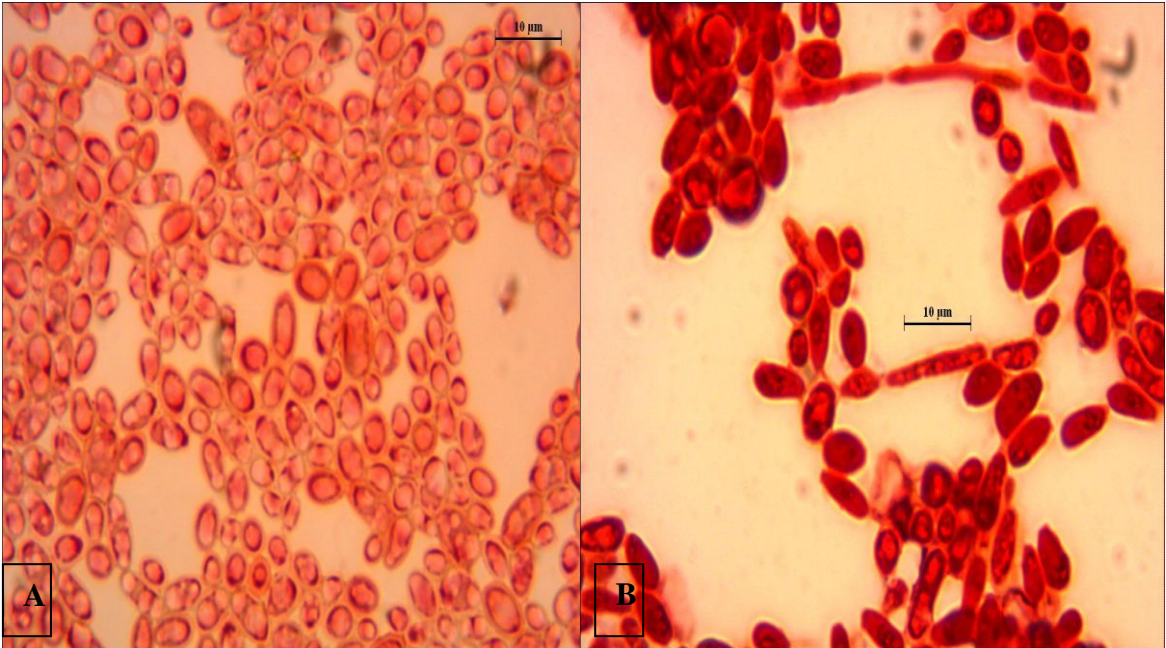


Şekil 19. *Candida tropicalis*, RÇM 38B, safranin ve malaşit yeşiliyle boyama, preparatın 100X büyütmedeki A. GYPA, kültür görünümü. B. SA, kültür görünümü.

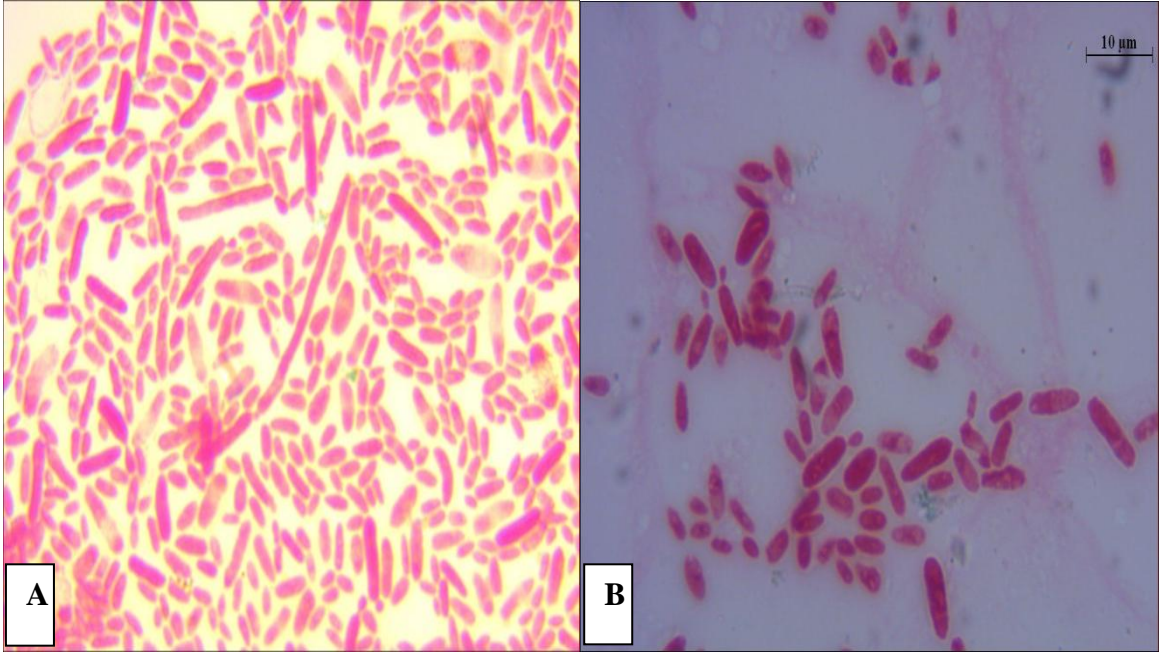




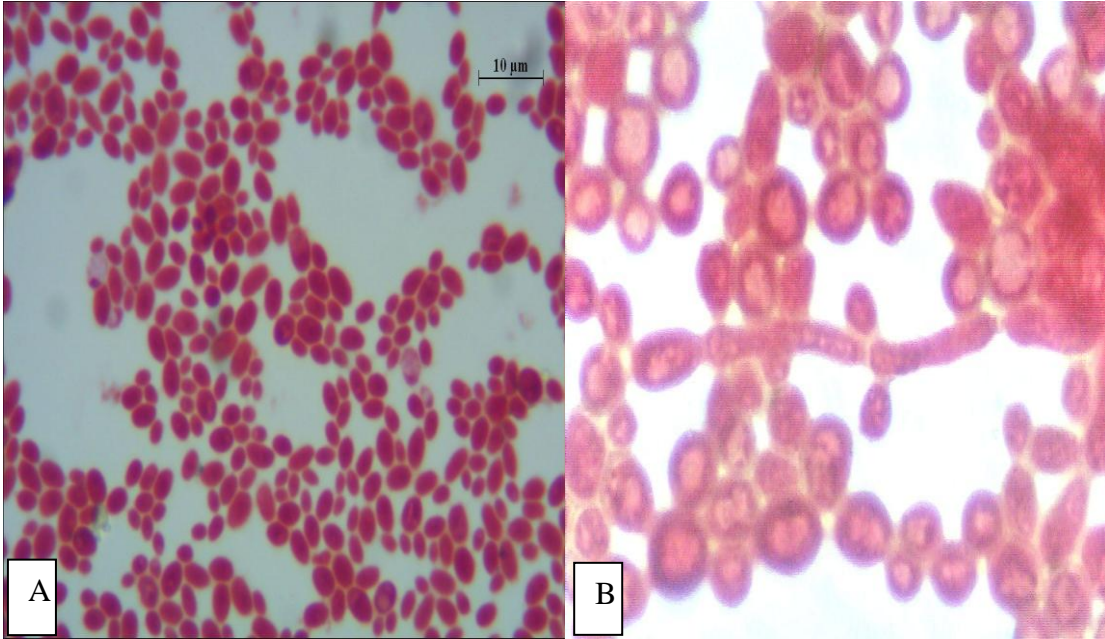
Şekil 20. *Candida parapsilosis*, RÇM 4A<sub>1</sub>, safraninle boyama, preparatın 100X büyütmedeki A. MEA,10 günlük kültür görünümü. B. SA, 3 günlük kültür görünümü.



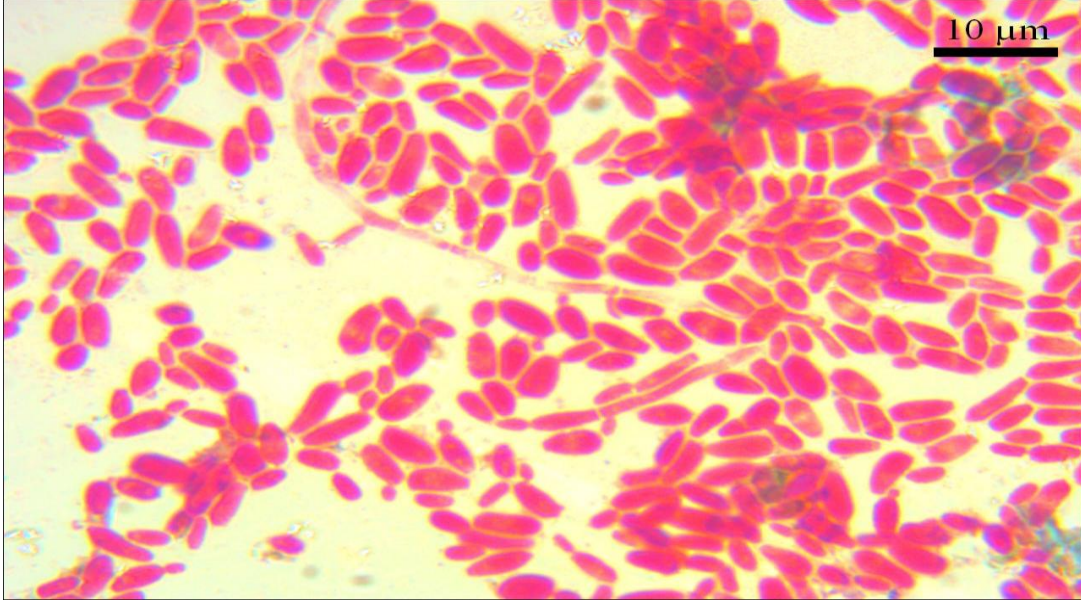
Şekil 21. *Cryptococcus humicolus*, RÇM 4A<sub>2</sub>, safraninle boyama, preparatın 100X büyütmedeki A. MEA, 3 günlük görünümü. B. GYPA, 3 günlük kültür görünümü.



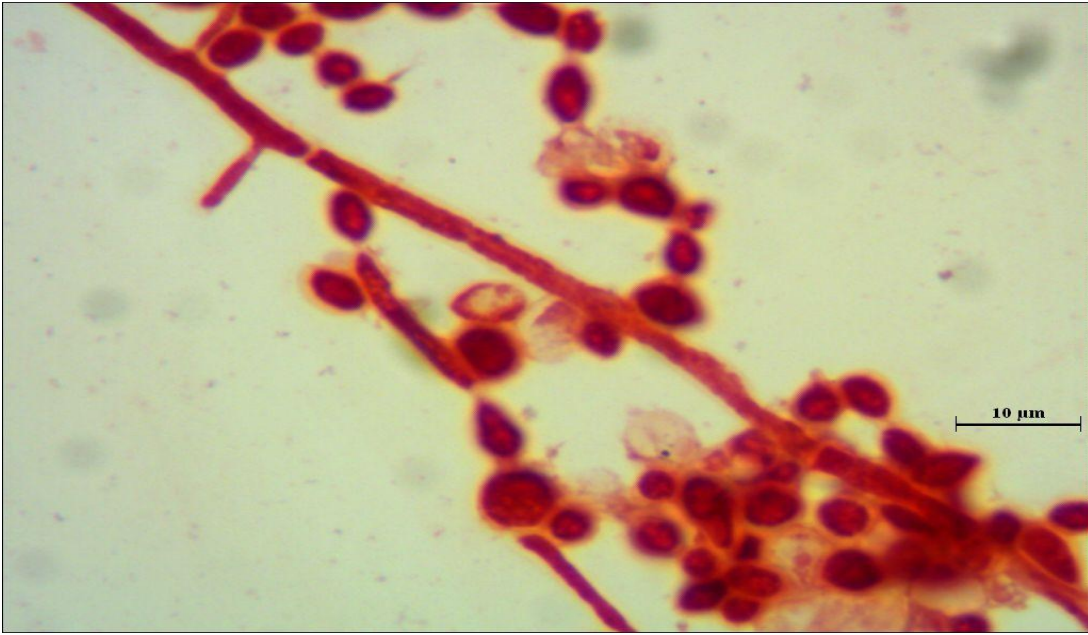
Şekil 22. *Geotrichum capitatum*, RÇM 9B, safraninle ve malaşit yeşiliyle boyama, preparatın 100X büyütmedeki A. SA, 5 günlük kültür görünümü. B. Jerm tüpü kültür görünümü



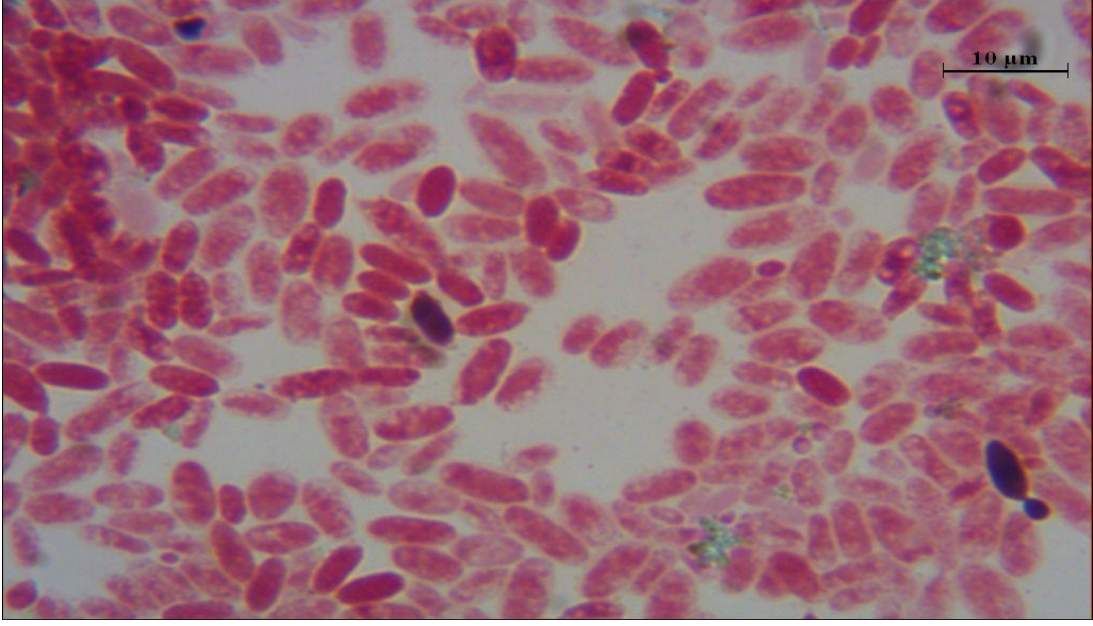
Şekil 23. A. *Candida albicans*, RÇM 37D, safranin ve malaşit yeşiliyle boyama, preparatın 100X büyütmedeki NYDA kültür görünümü. B. *Candida albicans*, RÇM 11, NYDA kültür görünümü.



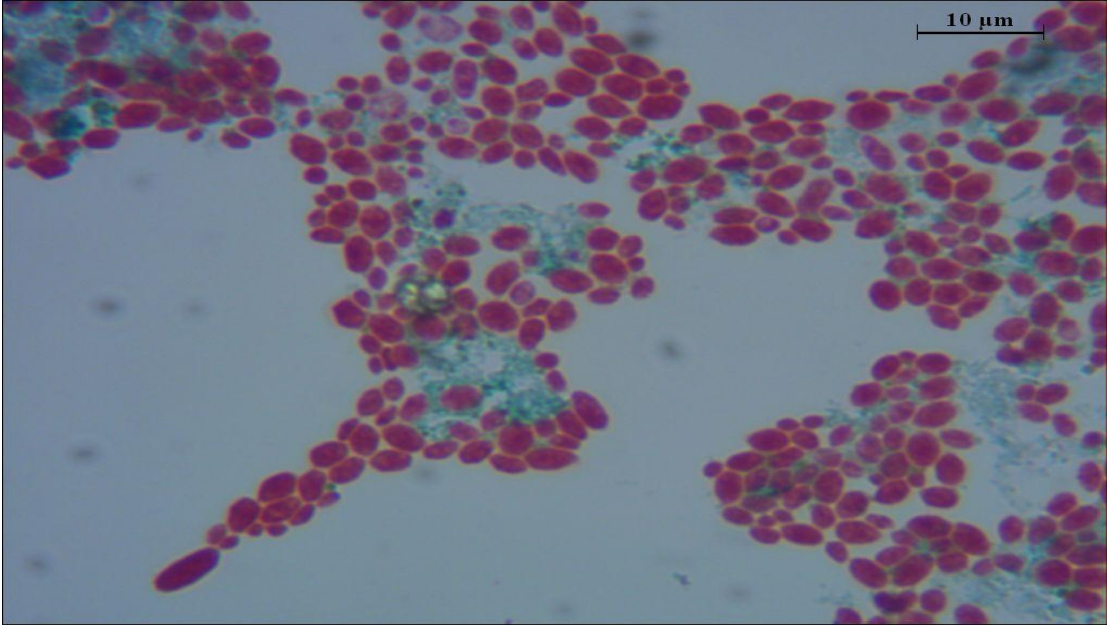
Şekil 24. *Candida lusitaniae*, RÇM 7B, safranin ve malaşit yeşiliyle boyama, preparatın 100X büyütmedeki NYDA'deki kültür görünümü.



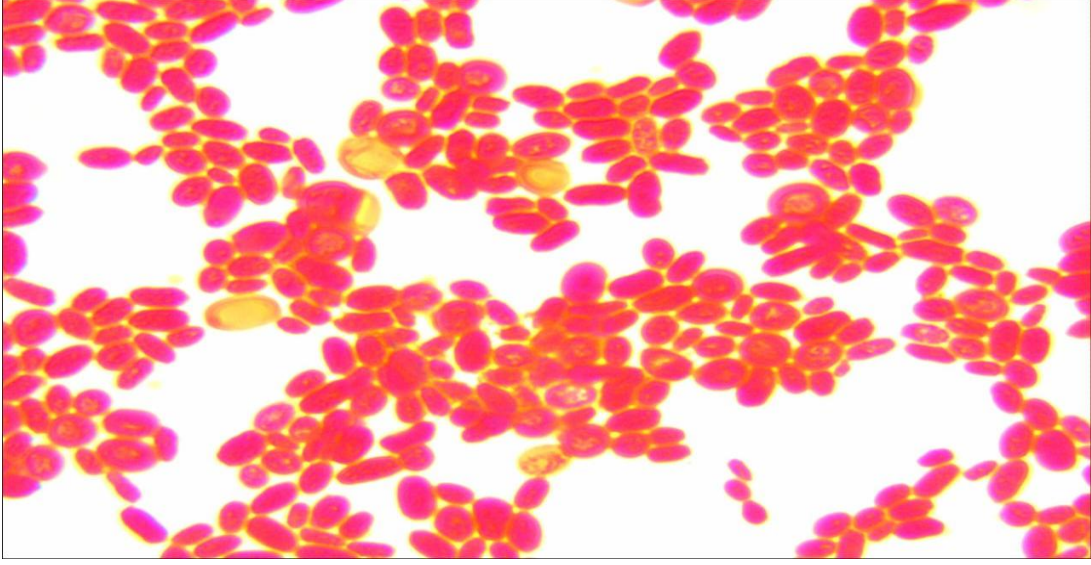
Şekil 25. *Candida guilliermondii*, RÇM 19B1, safranin ve malaşit yeşiliyle boyama, preparatın 100X büyütmedeki NYDA'deki kültür görünümü.



Şekil 26. *Trichosporon pullulans*, HTM 28, safranın ve malaşit yeşiliyle boyama, preparatın 100X büyütmedeki NYDA'deki kültür görünümü.



Şekil 27. *Cryptococcus luteolus*, RÇM 21B safranın ve malaşit yeşiliyle boyama, preparatın 100X büyütmedeki NYDA'deki kültür görünümü.



Şekil 28. *Candida krusei*, RÇM 86H safranın ve malaşit yeşiliyle boyama, preparatın 100X büyütmedeki NYDA'deki kültür görünümü.

#### 4. TARTIŞMA

Bu çalışma, 2004-2005 yıllarında Çay-Kur'a bağlı iki çay fabrikasından işleme aşamalarında alınan örneklerden izole edilen 50 (RÇM) ve Rize Ticaret Borsası, Özel Gıda Kontrol Laboratuvarı'na gelen kuru siyah çay numunelerinden izole edilen 22 (HTM) olmak üzere toplam 72 maya izolatu tanımlandı. Çay örneklerinde bulunabilen maya türlerinin belirlenebilmesi ve çeşitli özelliklerin araştırılması, mayaların çaydaki önemi açısından bize yol gösterici olacağı, daha kaliteli çay üretiminde fayda sağlayacağı ve endüstriyel alanda önemli olabilecek potansiyel mikroorganizmaların belirlenmesi amaçlanmıştır.

Mayalar, örnek olarak alkollü içeceklerin, etanolun, CO<sub>2</sub>'in, fırın mamüllerinin, proteinlerin, vitaminlerin ve flavonoid bileşiklerin üretimi gibi birçok endüstriyel işlemlerde kullanılmaktadırlar. Mayaların geniş bir substrat aralığı bulunmakta olup, ekstrem fizyolojik koşullara da direnç gösterirler. Birçok cins ve tür mayalar bu işlevleri gerçekleştirebilmesine rağmen, askomiçetöz maya cinsleri olan *Saccharomyces* (özellikle *S. cerevisiae*) ve *Kluyveromyces* cinsleri en önemlileri olarak bildirilmektedir.

Doğu Karadeniz Bölgesinde üretimi yapılan çay, hem ülkemizde hem de dünyada sudan sonra en fazla içilen içeceklerden birisi olup, tüketimi her geçen gün daha da artmaktadır. Bölgede çay yetiştiriciliği yağışlı iklim ve asidik toprağa sahip olan Sarp sınır kapısından Fatsa'ya kadar uzanan sahil şeridinde yapılabilmektedir. Yetiştirme alanları denizden 1000 m. yüksekliğe ve sahilden 30 km. kadar uzanmaktadır. Çay İşletmeleri Genel Müdürlüğü (ÇAYKUR) ve özel sektör birlikte alım yapmakta olup, Dünya kuru çay üretiminin %4,9'unu Türkiye karşılaaktadır. Geri kalan kısmı ise, %29,4'ünü Hindistan, %23,2'nü Çin, %9'unu Sri Lanka (Seylan), %8,2'ni Kenya ve %5,2'sini Endonezya gibi ülkeler sağlamaktadır.

Çay yaprakları polisakkaridler, uçucu yağlar, vitaminler, mineraller, purinler, alkaloidler (kafein) ve polifenoller (kateşinler ve flavanoidler) gibi birçok organik bileşiklere sahiptir. Bununla birlikte anti-mikrobiyal, anti-enflamatuar, anti-alerjik ve serbest radikal yakalama (antioksidan) özelliğine sahip bir dizi bileşiklere içerir (Kacar, 2010). Toda ve ark. (1991) çay özütünün *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Salmonella typhi*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella flexneri*, *Shigella dysenteriae*, ve *Vibrio* spp., ile *Vibrio cholerae* türlerinin üremelerini engelleyici ve öldürücü etkiye sahip olduğu bildirilmektedir. Yine aynı araştırmacının yaptığı

bir başka çalışmada 3 mg/ml çay özütü içeren bir fincan çayın metisilin dirençli *S. aureusu*'un üremesini engellediğini bildirmektedir. *Trichophyton mentagrophytes* ve *Trichophyton rubrum* üremesini engellediği fakat ne *Candida albicans* ne de *Cryptococcus neoformans*'ı engellemediğini bildirmektedirler (Okubo ark., 1991).

Siyah çay, taze ve körpe çay yapraklarının soldurma, kıvrırma, tasnif ve ambalajlama işlemleri sonucunda elde edilir. İmalat safhaları; soldurma, kıvrırma, fermantasyon, kurutma, tasnif ve ambalaj aşamalarından oluşmaktadır. Çay işleme aşamalarının her biri kalite için önemli olmakla birlikte mikrobiyolojik açıdan fermantasyon aşaması, kıvrırmanın başlamasından oksidasyonun tamamlanmasına kadar geçen zaman olup bu evrede maya mantarlarının varlığı ve de kaliteye olan etkinliği önemli olduğu düşünülmektedir. Bu süre ince çaylarda 1,5-2,5 saat, kaba çaylarda ise 2,5-3 saat kadar sürer. Fermantasyon esnasında nispi rutubetin %90-95, sıcaklığın 24-26 °C olması ideal bir oksidasyon için gerekli iken aynı esnada maya mantarlarının gelişimini ve de üremesini teşvik etmektedir. Çalışmamızda, çayın işleme aşmalarının her safhasında maya mantarının izolasyonu bu düşüncüyü doğrulamaktadır (Tablo 4).

Çay bitki ekstraktında basit şekerlerden kompleks polisakkaritlere (selüloz ve hemiselüloz) değin bir çok madde içerir. Yapılan çalışmalarda, çay yapraklarda serbest glikoz, früktoz, sakaroz, arabinoz, ramnoz, galaktoz, maltoz, rafinoz ve stakinoz bulunduğunu rapor edilmiştir (Mizuno ve Kimpyo, 1955). Bu ise çay yapraklarında maya benzeri mikroorganizmaların bulunmasında ve fermentasyonunda önemli rol oynayacağını göstermektedir.

Mayalar organik asit, şeker, lipid, ve proteince zengin maddeleri içeren gıdalarda kolaylıkla adapte olup mandıra ürünlerimizde yüksek sayıda tespit edilirler. Yüksek proteolitik ve lipolitik aktivite gibi özelliklere sahip bazı mayalar, aminoasit, yağ asidi ve esterleri gibi birçok aroma öncül maddelerin oluşumunda önemli rol oynarlar (lenoir, 1984). Proteolitik ve lipolitik aktiviteye sahip olması, laktozu asimile ya da fermente edebilmesi, sitratı, laktik ve suksinik asidi kullanabilme sonucu olarak geniş yayılım göstermektedirler. Ayrıca B-vitami, pantotenik asit, niacin, riboflavin, ve biotin gibi gelişmefaktörlerini ekstre edebilirler (Purko ve ark., 1951; Fleet,1990; Jakobsen ve Narvhus, 1996). Chen ve Liu (2000) yaptıkları bir çalışmada kamboçya çayında uzayan fermentasyonda maya ve bakteri popülasyonunu değiştiğini, dolayısıyla oluşan bileşiklerin de buna paralel olarak değiştiği bildirilmektedir. Çay işleme aşamalarında maya mantarlarının varlığı bu ve benzeri belirtilen etkenlerle ilişkili olduğu düşünülmektedir.

İzole edilen maya mantarlarının glikoz içeren PDA besiyerinde koloni morfolojileri büyük çoğunluğunda S ve R tipi olması, doğada yaygın olan saprofit türlerin olduğunu işaret etmektedir (Tablo 5).

Yapılan bir kısım çalışmalarda çay fungusları asetik asit bakterileri (*Acetobacter xllinum*, *A. xylinoides* veya *Bacterium gluconicum*) ve maya (*Schizosaccharomyces pompe*, *Saccharomyces ludwigii*, *Zygosaccharomyces ruoxii*, *Candida* sp. veya *Pichia membranaefaciens*) mantarlarının bir karışımı şeklinde bulunmaktadır (Kozaki ve ark. 1972; Anon, 1983; Chen ve Liu 1997). Acetik asit bakterileri gelişmek için etanolü kullanarak asetik asit üretirken, mayalar mevcut asetik asidin uyarısıyla daha fazla etanol üretirler. Bu şekilde asetik asit bakterileri ve mayalar arasında simbiyotik bir ilişki bulunduğu belirtilmektedir (Liu ve ark. 1996). Çalışmamızda maya izolasyonu esnasında asidik bakteriler de izole edilmiş ancak bu çalışma kapsamı dışına bırakılmışlardır.

Slime faktör; amorf kapsül yapısında, glikokaliks materyali olup %40 karbonhidrat ve %27 proteinden oluşmaktadır. Slime faktörü plastik ve metal yüzeylere yapışmayı sağlayan, bakterilere antifagositer özellik kazandıran, ayrıca antimikrobik maddelerin bakteri hücrelerine girişini engelleyen ekstrasellüler bir polisakkarittir. Slime faktör üretimi özellikle koagülaz-negatif stafylokok infeksiyonlarında ayrıntılı biçimde incelenmiş ve mikroorganizmanın virulansını artırdığı saptanmıştır. Slime faktör, mikro-organizmayı konağın savunma mekanizmalarından korur. Bu nedenle yapışma veya slime yapımı önemli bir virulans faktörü olarak kabul edilmektedir. *Candida*'lar için de slime üretiminin bir patojenite faktörü olabileceği slime faktör varlığında *Candida*'ların konak hücrelerine, protez ve kateterlere tutunup daha kolay kolonizasyon ve infeksiyonlara yol açtığı bildirilmektedir (Pfaller, 1995).

*Candida* infeksiyonlarının oluşmasında konakçı savunma sisteminin yanında *Candida*'ya ait virulans faktörlerinin önemi vardır. Özellikle konakçı epitel hücrelerine yapışma, jerm tüp oluşturma, proteinaz enzim oluşturma özellikleri önemli virulans faktörleri olarak bildirilmektedir (Pfaller, 1995). *C. albicans* yapısal olarak, maya ya da filamentöz formlarda üreyebilirler. Bu yapıların her ikisi de değişik antijenik özelliklere sahip olup dokuda birbirinden farklı reaksiyonlar oluştururlar. Doku invazyonu ile enfeksiyona neden olabilmesi, *C. albicans*'ın hif oluşturabilme ya da epitel yüzeyine yapışarak konakçı organizmada oluşan fizyolojik değişimlere uyum gösterebilme yeteneğine bağlanmaktadır (Soll, 1992; 1993; 1994). Genel olarak filamentöz formun daha



invaziv ve patojen olduğu fikri yaygın olmakla birlikte bu görüşün geçerliliği kesin olarak kanıtlanamamıştır (Odd, 1992).

Çalışmamızda suşların yalnızca %13'ü slime pozitif olduğu gözlemlendi (Tablo 6). Çalışmamızda Jerm tüpü ve slime faktör pozitif birlikteliği olan (*Cryptococcus laurentii* HTM18 ve RÇM35D, *Candida tropicalis* RÇM40D ve *C. lusitaniae* RÇM53N) 4 suş belirlendi. Bu sonuç suşların %87 slime oluşturmadığı, %51,4'ünün test edilen tüm besi ortamlarında ve jerm tüpü testinde de maya (hif ya da pseudohif oluşturmayan) formunda kaldığı, dolayısıyla gıdanın kendi orijininin kaynaklandığını düşündürmektedir. Ancak yine de fırsatçı patojen olma riski her zaman göz önünde tutulmalıdır. *Saccharomyces cerevisiae*, bol miktarda fermente karbon kaynağı varlığı yanında düşük azot varlığı, diploid maya hücreleri pseudohifa geliştirmesine yol açar, bu ise besin içinde azotu aramasına ve bulmasına yardımcı olur (Lengeler ve ark., 2000).

Çalışmada pseudohif içeren ya da jerm tüpü oluşturan suşların sayısı 35 (%48.6) olup bunların yalnızca 5'i (*Trichosporon pullians* HTM2, *Cryptococcus humicolus* RCM4A2, *Geotrichum capitatum* RCM9B, *Cryptococcus laurentii* HTM17 ve RCM 35D) dışındakiler kandida türlerine ait suşlardı. Kandidalar jerm tüpü ya da pseudohifa oluşturma özelliklerine sahiptirler.

Mayalar inatçı enfeksiyon etkeni organizmalar eğildirler, fakat bazı türler *Candida albicans* ve *Cryptococcus neoformans* gibi türler fırsatçı patojen olup deri altı, deri, solunum yolu, merkezi sistem ve organ enfeksiyonlarına sebep olabilirler (Hazen ve Howell, 2003). Bunun yanı sıra diğer türler ise *D. hansenii*, *Kluy. marxianus*, *Y. lipolytica*, *I. orientalis*, *P. Farinosa* ve *P. anomala*, potansiyel probiotik mikroorganizmalardır. Mayalar çiftlik hayvanlarında ve aquakültür endüstrisinde probiotik olarak kullanımları artmaktadır (Fleet ve Balla, 2006).

Mayalar yüksek tuz yoğunluğunda, düşük sıcaklıklarda, düşük pH da ve düşük su aktivitesinde üreyebilmektedirler. Düşük su aktivitesinde kısa süreli sıcaklıklara daha dayanıklı olabilmektedirler. Laroche ve Gevais (2003) tarafından *S. cerevisiae* suşu ile yapılan bir çalışmada başlangıç su aktivitesi 0.10 ve 0.70 arasında 7 farklı su aktivitesi içinde ısı muamelesi yapıldığında 0.3-0.5 su aktivitesinde ısıya daha toleranslı olduğunu bildirmişlerdir. Mikroorganizmalar bazı şartlarda sters altına (ısı, hidrolitik ve iyonik)

bırakıldığında adaptasyon sistemleri geliştirirler. Bu mekanizmlar trehaloz biriktirmesi veya stres proteinleri sentezi yada bazı besin maddelerini biriktirmesi şeklinde görülebilir.

Mayalar buzdolabı ortamında meyve sularında gelişerek bozulmaya neden olabilirler. Taze meyve sularında *Hanseniaspora occidentalis* ve *Hanseniaspora uvarum* tipik maya türleri olup, pastörize meyve sularına *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida intermedia* ve *Torulaspota delbrueckii* en yaygın türler olup bu türler pastörizasyon ve fiziko kimyasal koşullara diğerlerinden daha dayanıklı olup canlılıklarını korudukları bildirilmektedir (Arias ve ark., 2002).

Çalışmamızda da suşların bir kısmı ozmotolerans özelliğe ki %50 ve %60 şeker konsantrasyonunda üreyebilmekte olduklarını, bazılarının 42 °C'de sıcaklıkta (% 36.1) üreyebildiği, bir kısmının ise 60, 80 ve 100 °C'de 10 dakika ısıtmaya dirençli oldukları ki özellikle suşları %6.9'sı 100 °C'de canlılığını koruyabildiği gözlenmiştir (Tablo 6).

Yine tanımlamada önemli kriterlerden biri askospor oluşumudur. Mayalarda vejetatif hücrelerden çıkıntı yaparak gelişen, özel bir fırlatma mekanizması ile fırlatılan sporlar vardır. Ballistospor denilen bu yapılar, Bullera, Sporobolomyces ve Sporidiobolus genuslarının tanımlanmasında kullanılmaktadır (Barnet, 1989; Lodder, 1920). Bu çalışmada tanımlanan mayaların 17'sinde ballitospor, 3'ünde askospor ve birinde artrospor oluşumlarına (Şekil 10-12) rastlanmamıştır.

Günümüzde endüstriyel teknolojilerin birçoğunda ve genel olarak biyoteknolojik işlemlerde enzimlerin kullanımı gittikçe yaygınlaşmaktadır. Ancak maliyetleri ve elde edilebilmelerindeki problemler gibi bazı dezavantajlarından dolayı enzimlerin bazı endüstriyel alanlarda uygulanması sınırlı olmaktadır. Bu açıdan biyoteknolojik alanlarda, bir biyolojik kaynaktan büyük miktarlarda üretilen, yüksek sıcaklıklara ve kullanılacağı endüstriyel uygulama alanındaki çeşitli kimyasal ortamlara dayanıklı enzimlerin geliştirilmesi konusunda oldukça çarpıcı çalışmalar gerçekleştirilmektedir. Mikrofunguslardan, mikrobiyal aktiviteleri sonucu çeşitli enzimler, organik asitler, antibiyotikler, alkoller, vitaminler ve proteinler (Tek hücre proteini) gibi biyolojik ve tıbbi öneme sahip moleküller elde edilmektedir (Bıyık, H., 1993). Günümüzde bilinen 4000 enzimden yaklaşık 200 tanesi ticari olarak kullanılmaktadır. Endüstriyel olarak kullanılan enzimlerin birçoğu mikrobiyal kökenlidir. Biyokimyasal tekniklerin gelişmesi, fermantasyon işlemlerinin ve yeni metotların keşfedilmesi ile enzim üretiminde dikkate değer bir artış gözlenmektedir. Ayrıca enzimlerin kullanım alanlarının gelişmesi ile enzim talebi oldukça artmıştır (Sharma ve ark., 2001).

Biyoteknolojinin konularından biri de enzim üretimidir. Enzimler, mikrobiyal hücrelerin primer metabolitlerinden olup kimyasal reaksiyonlarda biyolojik katalizör olarak rol oynarlar. Enzim, kelime anlamı ile; biyolojik aktiviteye sahip ve kimyasal reaksiyonları katalizleyen özel proteinlerdir. Enzimler canlı hücreler tarafından özel biyolojik koşullarda sentez edilmektedir, fakat aktivite göstermeleri için mutlaka hücre içinde bulunmaları gerekmez. Çalışmamızda üreaz, selülaz gibi endüstriyel önemi olan katabolik enzimlerin varlığı araştırıldı (Tablo 7).

Bazı alkollü içeceklerin hammaddesi olan şekerin üretiminde kullanılan amilaz, peynir üretiminde sütü pıhtılaştırılan mide mukozası ve eti yumuşatan papaya suyu, enzimlerin eski dönemlerden beri kullanımlarına sadece birkaç örnektir. Pankreas, mide mukozası, malt ve papaya meyvesi gibi hayvansal veya bitkisel kaynaklardan elde edilen çeşitli enzimatik ürünler; tekstil, deri, gıda, alkollü içecek ve diğer endüstrilerde kullanılmaya başlanmıştır.

Çalışmamızda suşların 9'unda güçlü üreaz aktivitesi, ki mantarlarda üreaz pozitifliği genellikle bazidiomiçetöz mayaların ayırıcı özelliği olarak bilinmektedir. Suşların 15'inde nişasta üretim yetenekleri, HTM 2 ve RÇM 4A<sub>1</sub> suşlarının ise güçlü nişastayı fermente yeteneği yanı sıra zayıf nişasta üretme yeteneğine sahip oldukları, suşların tamamına yakınının (%97) selülaz aktivitesi varlığı ancak, bunlar 43'ü güçlü pozitifliğe sahip oldukları (Tablo 7) tespit edilmiştir. Mayalar geniş ölçüde azot kaynaklarını kullanabilme yeteneğine sahiptirler. Nitrat ve Nitrit testlerine bakıldığında konvansiyonel yöntemde 20 suşta negatif bulunurken, vitek ile bakıldığında yalnızca 5'inde pozitiflik belirlendi. Nitrat bazı cinsler (*Pichia*'nın bazı türleri gelişiminde) için önemli bir kriterdir. Çoğunlukla bazidiyomiçetöz mayalarda nişasta üretimi inozitol asimilasyonu pozitif olarak bildirilmektedir (Hoog 2010). *Hansenula* sp. nitrat tek azot kaynağı olduğunda gelişemezken, *Debaryomyces hansenii* nitriti kullanabilirken nitratı kullanamaz (Kurtzman, 1999).

Lopandic ve ark. (2005) süt ürünlerinde geleneksel (morfolojik, biyokimyasal, fizyolojik) ve moleküler yöntemler kullanarak yaptıkları çalışmada 513 izolatın 460'ı askomicetöz ve 53'ü bazidiomicetöz mayalar olduğunu belirlemişlerdir. İzolatların %92'si tür düzeyinde tanımlanmış, en sık olarak *Debaryomyces hansenii*, *Geotrichum candidum*, *Kluyveromyces marxianus*, *Yarrowia lipolytica* and *Candida zeylanoides* türlerini izol etmişlerdir. Peynirlerde yapılan bir çalışmada 24 maya türü izole edilmiş, taze peynirlerde en sıklıkla *Candida zeylanoides*, *Debaryomyces hansenii*, *Kluyveromyces marxianus* ve

*Yarrowia lipolytica* izole edilirken salamura peynirlerde *C. catenulata*, *D. hansenii*, *K. marxianus* ve *Geotrichum candidum* tanımlanmış. Tüm türlerde güçlü proteolitik ve/veya lipolitik aktivite belirlenmiş (Grieve, 1983; El Soda, 1986; Devoyod, 1990; Roostita and Fleet, 1996a; Auberger et al., 1997; Van den Tempel and Jakobsen, 2000).

Çalışmamızda en sık izole edilen cins türler ise sırasıyla *Candida tropicalis* (%27.7), *C. famata* (%13,8), *C. krusei* ile *Cryptococcus laurentii* (%11.1) olup mevcut çalışmalara benzer sonuçlar gözlenmiştir (Tablo 8).

Abdulhamd ve ark. (2007) Çeşitli örneklerden (pekmez, gıda maddesi, konsantre meyve suyu ve toprak) izole ettikleri maya izolatlarını maya tanımlama kitleri kullanarak (API 20 C AUX) tanımlamışlar ve *Candida famata*, *C. glabrata*, *C. krusei / inconspicua*, *C. norvegensis*, *C. colliculosa*, *Cryptococcus humicolus*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Kloeckera* spp., *Geotrichum capitatum* ve *Saccharomyces cerevisia* türlerini belirlemişlerdir.

Yapılan araştırmalara göre peynirlerden izole edilen maya türlerinin çeşitlilik gösterdiği görülmektedir. Buna rağmen aralarında *Kluyveromyces marxianus*, *Debaryomyces hansenii*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Yarrowia lipolytica*, *Trichosporon cutaneum (beigelii)*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Torulaspora delbrueckii*'nin bulunduğu 10 tür en sık rastlanılan mayalardır. Peynirlerde tuzlamayı takiben maya florasına, *Kluyveromyces lactis*, *K. marxianus* ve *T. delbrueckii* gibi laktoz pozitif mayalar hakim olup olgunlaşma koşullarını önemli ölçüde etkilemekte olduğu bildirilmektedir (Wyder, 2001).

Erik ve ark., 2002 de kefir'den maya izolasyonu ve identifikasyonu çalışmasında başlıca *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida kefir*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Cryptococcus neoformans*, *Geotrichum* spp., *Rhodotorula* spp., *Saccharomyces* spp. ve *Trichosporon* spp türlerini izole etmişler. Arias ve ark. tarafından meyve sularında yapılan çalışmada 92 suş izole edilmiş, bunların 11 genusa ait 23 tür içinde dağıldığını belirlemişlerdir. En sık belirlenen türler ise *Hanseniaspora uvarum* (27%), *Hanseniaspora occidentalis* (15%), *Pichia kluyveri* (9%), *C. intermedia* (7%), ve *C. parapsilosis* (6%) olarak belirlenmiştir. *S. cerevisiae* 3% olarak belirtilmiştir.

Török ve ark. (1991) çeşitli meyve suları ve sebzelerden elde ettiği 239 suşun standart ve ticari identifikasyon kitleri kullanarak tanımlamış, sonuçlarını karşılaştırıldığında sonuçların %80 aynı olduğunu gözlemiştir. Meyve sularında; 19 cins (genera) ve 36 tür (species), sebzelerde; 17 cinsi ve 34 tür identifiye etmişlerdir. Askomiçetes maya türleri meyve sularında (106 strains) daha fazla, sebzelerde ise daha az (77 strains) olarak tespit

etmişlerdir. Buna karşın basidiomicetoz türleri sebzelerde (35 strains) meyve sularından (21 strains) daha fazla olduğunu bildirmişlerdir.

Çalışmamızda ise askomiçetöz mayalar 57 suş olarak tanımlanırken, bazidiyomiçetöz mayalar olarak 14 suş belirlendi, bir izolat ise tanımlanamadı (Tablo 9).

Törok ve ark.(1991) çalışmasında, *Candida tropicalis* and *Saccharomyces cerevisiae* en sıklıkla izole edilen maya izolatları olduğu bildirilmektedir. Zayıf veya non fermente türler (*Candida lambica* [anamorfu *Pichia fermentans*], *Cryptococcus albidus* ve *Trichosporon cutaneum*) sebzelerde daha baskın olduğu bildirilmektedir.

Lopandic ve ark. (2006) Geleneksel ve moleküler teknikleri kullanarak süt ürünlerinde 513 maya izole etmişler, bunların 460 ı askomiçetöz 53'ü ise bazidiyomiçetöz maya mantarları olduğunu bildirmişlerdir. *Debaryomyces hansenii*, *Geotrichum candidum*, *Kluyveromyces marxianus*, *Yarrowia lipolytica* ve *Candida zeylanoides* türleri en sıklıkta izole ediln türlerdi.

Osorio-Cadavid ve ark. (2008) tahıl bazlı içecek olan champu'da yaptıkları çalışmada baskın türler olarak: *Saccharomyces cerevisiae*, *Issatchenkia orientalis*, *Pichia fermentans*, *Pichia kluyveri* var. *kluyveri*, *Zygosaccharomyces fermentati*, *Torulospira delbruekii*, *Galactomyces Geotrichum* ve *Hanseniaspora spp* belirlenmiştir. Champu içinde aromatik bileşikler üretebilen *Saccharomyces* ve non- *Saccharomyces* mayaları fermente içeceklerde nispeten duyuşal karakteristik üzerine etkili oldukları bildirilmektedir. Dolayısıyla Champu suşları potansiyel endüstriyel uygulamaları ile yeni maya biyotiplerinin önemli bir kaynağı olarak görülmektedir. Çay örneklerinden izole edilen maya mantarları da bu açıdan incelendiğinde muhtemen önemli bir kaynak olacağı düşünülmektedir.

“Yeasts Taxonomy” el kitabında 761 türün karakteristik özellikleri tanımlamış, bunların dörtte birinin gıdalardan izole edildiği fakat yalnızca az bir miktarı gıda bozulmasında rol oynadığı, *Saccharomyces cerevisiae* en sıklıkla izole edilen tür olduğu bildirilmektedir (Loureiro & Malfeito-Ferreira, 2003).

*Candida albicans*, candidiyazisli hastalardan en sıklıkla izole edilen candida türüdür. Bununla birlikte antifungal ajanlara *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida krusei* and *Candida guilliermondii*, türleine nazaran daha az duyarlıdır (Ponto'n, 2000; Magee, 2005). *Candida spp.* nin sebep olduğu invaziv fungal enfeksiyonlar, immun baskın kişilerde başlıca morbidite ve mortaliteye sebebi olmaktadır (Wright, 1997; Pfaller, 1998; Ruhnke, 2006). Mayaların 150 türünden daha fazla türü

insan patojeni olarak bilinmektedir (Fromtling, 1995; Barnett, 2000). Bununla birlikte *C. albicans* hastane kökenli enfeksiyonlarda predominant ajan olup candida dışındaki türlerin de (*C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. lusitaniae*, and *C. krusei*) fırsatçı patojen olarak neden oldukları hastalıkların sayısında hızla artmaktadır (Wingard, 1994; Snyderman, 2003; Marr, 2004; Nucci, 2005).

Çalışmamızda sikloheksimit direncine bakıldığında suşların %40.0'nın dirençli olduğu, bu direncin çoğunluğu kandida türlerinden ibaret olduğunu düşünürsek, fırsatçı patojen olabilecekleri yönünde bir fikir verdikleri düşünülmektedir.

Yiyecek ve içeceklerin üretimi, kalitesi ve güvenliği üzerine mayaların etkisi ekoloji ve biyolojik faaliyetleriyle yakından bağlantılıdır. Mayaların fermente yiyecek ve içecekteki muhtemel rolleri; karbohidratların fermentasyonunda (alkollerin oluşumu vb), aroma bileşiklerinin oluşumu (esterler, alkoller, organik asitler, karboniller, vb.), esansiyel metabolitlerin üretimiyle laktik asit bakterilerin üremesini tetiklemek, küflerin mikotoksin üretimini engellemek (besin rekabeti, tosin üretimiyle vb.), mikotoksinlerin parçalanması, siyanojenik glukosidlerin parçalanmasını (linamarase activity), doku hasarını, enzimlerin üretimi (selülaz ve pectinaz ) ve probiyotik özellikleri sayılabilir (Jespersen, 2003).

Günlük yaşamın bir parçası olarak, insanlar sağlığı üzerinde olumsuz etkisi olmaksızın mayalar büyük populasyonlarda tüketmektedirler. Bakteri ve virüsler aksine, mayalar nadiren gıda kaynaklı gastroenterit, zehirlenme veya diğer enfeksiyon hastalıklarıyla ilişkilidir (Fleet ve Balia, 2006). Mayalar yiyecek ve içecek ekosistemlerinde tek kültür olarak nadiren bulunurlar. Genellikle maya, bakteri, filamentous mantar ve virüsler ile karışık habitatlar oluştururlar ve ürün kalitesini Toplam mikroflora büyüme ve metabolik aktivite etkileşimiyle belirlenir.

*Candida*, *Pichia*, *Metschnikowia* *Cryptococcus* ve *Pseudozyma* gibi çeşitli türleri, güçlü antifungal özellikler olan litik enzimler, toksik proteinler, zehirli yağ asitleri ve etil asetat gibi ürünler üretirler ve fungusların biyolojik kontrol potansiyeline sahiptirler. Hasadından öncesi ve sonrası meyve, sebze ve tahıl ürünlerinin fungal bozulmanın kontrolü olarak kullanılan bazı ticari ürünleri artık mevcuttur (Fleet, 2003; Passoth,2006).

Mayalar, spor oluşturan bakterilerin *Clostridium* genusu, *C. butyricum* ve *C. tyrobutyricum* istenilmeyen bakterilerin önlenmesinde önemli bir rol oynarlar (Fatichenti, 1983). Buna karşın laktik asitli kullananbilen mayalar ise, bunun sonucunda pH değeri artar, daha az asit ortama toleransı olan mikroorganizmalar örneğin micrococci ve korineform bakterilerin üremesini teşvik eder (Eliskases ve ark., 1995). Mayalar ayrıca

istenmeyen mikroorganizmaları önleyebilirler (Kaminarides ve Laskos, 1992). Benli ve akmakçı (2003) tarafından yapılan bir çalışmada elmalarda hasat sonrası hastalıklara neden olan *Penicillium expansum* ve *Botrytis cinerea* 'ya karşı etkili 13 maya izolatu tanımlanmış ve geleneksel yöntemlere göre sınıflandırılmıştır. Bu mayaların tür dağılımları *Candida* sp., *Rhodosporidium* sp., *Hansenula* sp., *Debaryomyces* sp., *Rodotorula* sp., *Torulaspota* sp. ve *Williopsis* sp. şeklinde bildirilmiştir.

Bu alışma da Rize'de çay örneklerinden izole edilen maya mantarlarının geleneksel ve hızlı tanı testleriyle tanımlanması ve belirli özelliklerinin tespit edilmesi hedeflenmiştir. Elde edilen ve tanımlanan maya mantarlarının, test sonuçlarıyla birlikte hem laboratuvarımız hem de ülkemiz suş koleksiyonuna bir kaynak teşkil edecektir. Doğal kaynaklarının belirlenmesi suş koleksiyonumuza ve endüstriyel uygulamalar ve diğer bilimsel araştırmalar için kaynak oluşturması hedeflenmiştir. Bu alışma Rize'de özellikle çay bitkisinde maya mantarlarının izolasyonu ve identifikasyonu açısından yapılan ilk çalışmadır.

## 5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Gıda endüstrisinde mayalar hem gıda üretiminde hem de gıdaların bozulmalarında önemli rol oynayan mikroorganizmalardır. Geçmişten bugüne mayaların kullanımı; ekmek, alkollü içeceklerin (bira, şarap, vb.), çeşitli pigmentlerin, probiotik ürünlerin, yemlerin, çeşitli enzimlerin (ilaç, kozmetik, gıda ve kimya endüstrisi için) ve biyokimyasal maddelerin (vitamin vb.) üretiminde büyük önem taşımaktadırlar. Bu yüzden gıdalarda maya izolasyon ve identifikasyonu, yeni kaynakların keşfedilmesi ve kullanıma sunulması açısından önem arz etmektedir.

Çalışmada bölgemizin önemli ekonomik kaynağı olan çayın işleme aşamalarından izole edilen maya mantarlarının geleneksel ve hızlı yöntemlerle tür düzeyinde tanımlandı. Bu tanımlama çay işleme aşamalarında mantarların varlığını belirlemeye katkı sağladığı düşünülmektedir. Bu türlerin özelliklerinin belirlenmesi, kalite yada hijyen açısından bir fikir verediği, bölge kaynaklarının daha iyi değerlendirilmesine, ekonomiye çeşitli biyokimyasal ürünleri üretebilme potansiyeline sahip yeni suşların kazandırılmasına ve mikoloji bilimine yeni veri akışının sağlanmasına katkı sağladığı düşünülmektedir.

Çalışmada izole ve identifiye edilen suşlar hem bölümümüzü kültür koleksiyonuna hem de ülke kültür koleksiyonuna doğal ve orijinal bir kaynak sağlamıştır. Yeni kaynakların sağlanması için bu alanda başka çalışmaların da yapılması gerektiği düşünülmektedir. Çalışmada bazı enzim aktiviteleri belirlendi, bazı suşların selüloz, üreaz gibi, ancak başka enzim aktivitelerinin, özellikle de endüstriyel öneme sahip enzimlerin araştırılması gerektiği düşünülmektedir.

Ülkemizin önemli gıda kaynakları içinde olan siyah çayın kalitesi, yeşil yaprağının kalitesi ve işlemede uygulanan teknoloji ile yakından ilgilidir. Yaş yapraklar işleme sırasında fiziksel, kimyasal ve biyokimyasal değişimlere uğramaktadırlar. Bu süreçte maya mantarlarının rollerini belirlemek çay sektörüne daha kaliteli ve belkide probiyotik niteliklere sahip çayların üretimine katkı sağlayacak ya da çay toplama ve işleme aşamalarında temas eden üreticileri muhtemel patojenlerden haberdar edecek sonuçların elde edileceği düşünülmektedir. Birçok özellikleri tanımlanmış maya suşlarında ise çeşitli enzim aktivitelerinin araştırılmasıyla da enzim piyasasına potansiyel suşların kazandırıldığı düşünülmektedir.

Doğal zenginlikleri bol bir ülke olarak yapılacak bu ya da benzeri mikolojik ve moleküler çalışmalar ile doğal kaynaklarımızın teknolojik kullanımı ve sonuçta ülke



ekonomisine aktarımı kolaylaştacaktır. Diğer taraftan yapılacak temel çalışmalarla ülkemizi farklı disiplinli ve konulu diğer araştırma ve çalışmalar için gerekli olan alt yapılara, veri tabanlarına, mikolojik kültür koleksiyonuna bilgi akışı ve birikimi sağlanacaktır.

- Çalışmada bölgemizin önemli ekonomik kaynağı olan çayın işleme aşamalarından izole edilen maya mantarlarının geleneksel ve hızlı yöntemlerle tür düzeyinde tanımlandı ancak daha özel çalışmalar için moleküler yöntemler de kullanılabilir.
- Çalışmada izole ve tanımlanmış maya suşları hem bölümümüz hem de ülke kültür koleksiyonuna orijinal milli bir kaynak ve bilime yeni veriler sağlayacağı,
- Selülaz, üreaz gibi, bazı enzim aktivitelerinin incelenmesi bu suşların potansiyel enzim kaynakları olabileceği konusunda bir ön çalışma olması,
- Birçok özellikleri tanımlanmış maya suşlarında ise çeşitli enzim aktivitelerinin araştırılmasıyla da enzim piyasasına potansiyel suşların kazandırıldığı,
- Doğal zenginlikleri bol bir ülke olarak yapılacak bu ya da benzeri mikolojik ve moleküler çalışmalar ile doğal kaynaklarımızın teknolojik kullanımı ve sonuçta ülke ekonomisine katkı sağlanacağı,
- Bu süreçte maya mantarlarının rollerini belirlemek çay sektörüne daha kaliteli ve belkide probiyotik niteliklere sahip çayların üretimine katkı sağlayacağı ya da çay toplama ve işleme aşamalarında temas eden üreticileri muhtemel patojenlerden haberdar edeceği,
- Diğer taraftan yapılacak temel çalışmalarla ülkemizi farklı disiplinli ve konulu diğer araştırma ve çalışmalar için gerekli olan alt yapılara, veri tabanlarına, mikolojik kültür koleksiyonuna bilgi akışı ve birikimi sağlanacağı düşünülmektedir.

Çalışma ile bölümümüzün kazanacağı ise başka projelere katılabilecek, bilim insanlarının yetişmesine olanak sağlayacaktır. Bu şekilde yapılan bilimsel çalışmalar sayesinde yeni kurulmuş olan üniversitemize ve ülkemizin bilimsel alandaki ilerlemesine, yeni öğrencilerin yetiştirilmesine akademik destek sağlayacaktır. Bu çalışma kapsam itibarıyla ülkemizde çay ile ilgili yapılan ilk çalışma olup, konu ile ilgili daha sonraki çalışmalara bilgi zemini oluşturması açısından da önemli olduğu düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

- Abdulhamd, A., Mokhtar, M.M., Mohamed, F.R., 2007. Biochemical and molecular characterization of some yeast isolates. Arab Univ. J. Agric. Sci., 15(2), 315-324.
- Adiloğlu, K.A, Őirin, C.M., Ciciođlu, B.A, Can,R. and Demirci, M., 2004. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Candida* kökenlerinin identifikasyonu ve antifungal duyarlılıklarının araştırılması. ADÜ Tıp Fakóltesi Dergisi, 5(3), 33 - 36.
- Akdeniz, G.B., Ően, B.H., and Denizci, A.A., 2000. Oral kavitede farklı anatomik bölgelerden izole edilen kommensal ve patojenik *Candida albicans* suşlarının fenotipik özelliklerinin incelenmesi. Ege Üniversitesi Diř Hekimliđi Fakóltesi, Oral Diagnoz ve Radyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Tübitak proje no: 196F086 SBAG-1673.
- Alexopoulos, C, J., Mins, .W., 1979. Introductory Mycology. 3rd ed. John Wiley and Sons, New York pp. 20-100.
- Amoa-Awua, W.K., Sampson, E., Tano-Debrah, K., 2006. Growth of yeasts, lactic and acetic bacteria in palm wine during tapping and fermentation from felled oil palm (*Elaeis guineensis*) in Ghana. J. Appl. Microbiol., 47, 1-8.
- Anon. 1983. Tea fungus. In Handbook of indigenous fermented foods ed. Steinkraus, K.H. New York, Marcel Dekker, p.421.
- Ardhana, M.M., Fleet, G.H., 2003. The microbial ecology of cocoa bean fermentations in Indonesia. Int. J. Food Microbiol., 86, 87-99.
- Arias, C.R., Burns, J.K., Friedrich, L.M., Goodrich, R.M. and Parish, M.E., 2002. Yeast species associated with orange juice: evaluation of different identification methods. American society for microbiology, 68, 1955–1961.
- Auberger, B., Lenoir, J., Bergere, J.L., 1997. Partial characterisation of exopeptidases produced by a strain of *Geotrichum candidum*. Sci. Aliments, 17, 655–670.
- Barnett, J. A., Payne, R.W., and Yarrow, D., (ed.) 2000. Yeasts: characteristics and identification, 3rd ed. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom. pp.15-30.
- Barnett, J.A., Payne, R.W., Yarrow, D., 1983. Yeast: Characteristics and identification, Cambridge University Press., New York, p. 13- 27, 83-90.
- Benli, M., akmakçı, L. 2003. Elmalarda hasat sonrası hastalıkların kontrolünde kullanılan mayaların tanımlanması ve sınıflandırılması. Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi, 1 (1), 30-37.

- Bıyık, H., Bazı fungus türlerinden yüzey kültür fermantasyonu yöntemi ile mikrobiyal yağ üretimi, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir 1993.
- Bilgehan, H., 2004. Klinik Mikrobiyoloji. Fakülteler Kitapevi Barış yayınları, 4. Baskı, İzmir ss. 650-731.
- Buzzini, P., Martini, A., 2002. Extracellular enzymatic activity profiles in yeast and yeastlike strains isolated from tropical environments. J. Appl. Microbiol. 93, 1020-1025.
- Carlile, M.J., Watkinson, S.C. ve Gooday, G.W., 2001. The Fungi. Academic pres, Second Ed., Tokyo pp.11-79.
- Cevahir, N., Demir, M, Mete, E, Kaleli, Ü., 2003. *Candida* suşlarında farklı yöntemlerle slime üretiminin araştırılması, Turkish Journal of Infection, 17 (1), 67-70.
- Chen, C., Liu, B.Y., 1997. Studies in microbiological quality and survival of *Candida albicans* in the the fungi. Journal of Agriculture and Forestry, 46, 53-64.
- Chen, C., Liu, B.Y., 2000. Canges in major components of tea fungus metabolites during prolonged fermentation. Journal of Applied Microbiology, 89, 834-839.
- Camotti-Sartori, V., da Silva-Ribeiro, R.T., Valdebenito-Sanhueza, R.M., Pagnocca, F.C., Echeverrigaray, S., Azevedo, J.L., 2005. Endophytic yeasts and filamentous fungi associated with southern Brazilian apple (*Malus domestica*) orchards subjected to conventional, integrated or organic cultivation. J. Basic Microbiol., 45, 397-402.
- Cocolin, L., Bisson, L.F., Mills, D.A., 2000. Direct profiling of the yeast dynamics in wine fermentations. FEMS Microbiol. Lett., 189, 81-87.
- da Silva, E.G., Borges, M., de Fatima, M.C., Piccoli, R.H., Schwan, R.F., 2005. Pectinolytic enzymes secreted by yeasts from tropical fruits. FEMS Yeast Res., 5, 859-865.
- Davenport, R.R., 1980. Cold-tolerant yeasts and yeast-like organisms In: Skinner, F.A., Passmore, S.M., Davenport, R.R. (Eds.), *Biology and Activities of Yeasts*. Academic Press, London pp. 215-228.
- Dayal, R., 1975. Key to the phycomycetes predacious or parasitic on nematodes or amoebae. Sydowia, 27, 293-301.
- De Hoog, G.S., Guarro, J. Gene, J., Fişgureas, M.J., 2009. Atlas of Clinical Fungi, Atlas Pilot Version of 3rd edition, CBS, Universitat Rovira, i Virgili, Utrecht/Reus, CD-ROM-Drive.
- Devoyod, J.J., 1990. Yeasts in cheese-making, In: Spencer, J.F.T., Spencer, D.M. (Eds.), *Yeast Technology*. Berlin, Germany, Springer Verlag pp. 228–240.

- Doyle, M. P., Beuchat, L. R., and Montville, T. J., 2001. Food Microbiology: fundamentals and frontiers. ASM press, 2<sup>nd</sup> ed, Washington, D.C.
- Eliskases-Lechner, F., Ginzinger, W., 1995. The yeast flora of surface-ripened cheeses. Milchwissenschaft, 50, 458-462.
- ElSoda, M., 1986. Acceleration of cheese ripening. J. Food Prot., pp. 49, 395–399.
- El-Zaatarı, M., Pasarell, L., McGinnis, M.R., Buckner, J., Land, G.A., Salkın, I.R., 1990. Evaluation of the updated Vitek Yeast Identification data base. Journal of Clinical Microbiology, 28(9), 1938-1941.
- Faticenti, F., Bergere, J.L., Deiana, P., Farris, G.A., 1983. Antagonistic activity of *Debaryomyces hansenii* towards *Clostridium tyrobutyricum* and *Clostridium butyricum*. J. Dairy Res., 50, 449-457.
- Fleet, G.H., 1990. Yeasts in dairy products a review. J. Appl. Bacteriol., 68, 199-211.
- Fleet, G.H., 2003. Yeasts in fruit and fruit products. In *Yeasts in Food Beneficial and Detrimental Aspects*, Edited by Boekhout T, Robert V., Behr's- Verlag, pp. 267-287.
- Fleet, G.H., Balia, R., 2006. The public health and probiotic significance of yeasts in foods and beverages. In *Yeasts in Food and Beverages*. Edited by Querol A, Fleet GH. Springer, pp. 381-398.
- Fleet, G.H., 2007. Yeasts in foods and beverages: impact on product quality and safety. Current Opinion in Biotechnology, 18, 170–175.
- Fossi, B.T., Tavea, F., and Ndjouenkeu, R., 2004. Production and partial characterization of athermostable amylase from ascomycetes yeast strain isolated from starchy soils. African Journal of Biotechnology, 4(1), 14-18.
- Fromtling, R. A., 1995. Mycology. In Murray, P. R., Baron, E. J., Tenover, F. C., and Tenover, R. H., (ed.), *Manual of clinical microbiology*, 6th ed. ASM Press, Washington, DC., pp. 697–877.
- Grieve, P.A., Kitchen, B.J., Dulle, J.R., Bartley, J., 1983. Partial characterisation of cheese-ripening proteinases produced by the yeast *Kluyveromyces lactis*. J. Dairy Res., 50, 469-480.
- Hansson, I. B., 2001. Microbiological meat quality in high and low capacity slaughterhouses in Sweden. J. Food. Prot., 64, 820-825.
- Hasenekoğlu, İ., 1991. Toprak Mikrofungusları. Atatürk Üniversitesi Eğitim Fakültesi Yayınları, Erzurum ss.1-6.
- Hazen, K.C., Howell, S.A., 2003. *Candida*, *Cryptococcus* and other yeasts of medical importance. In *Manual of Clinical Microbiology* 8th edition. Edited by Murray PR. American Society for Microbiology, pp. 1693-1711.

- Hellstein, J.H., Fotos, P.G., Law, S.S., Kovacevic, M., Carriere, K.C., 1993. Differentiation of sugar assimilation characteristics and colony phenotypes in pathogenic and commensal oral *Candidal* isolates. Oral Pathol Med., 22, 312-9.
- Hols, P., Reram, T., Garmyn, D., Bernard N., Delcour, J., 1994. Use of homologous expression-secretion signals and vector-free stable chromosomal integration in engineering of *Lactobacillus plantarum* for  $\alpha$ -amylase and levanase expression., Appl. Environ. Microbiol., 60, 1401-1413.
- Jakobsen, M., Narvhus, J., 1996. Yeasts and their possible beneficial and negative effects on the quality of dairy products. Int.Dairy J. , 6, 755-768.
- Jespersen, L., 2003. Occurrence and taxonomic characteristics of strains of *Saccharomyces cerevisiae* predominant in African indigenous fermented foods and beverages, FEMS Yeast Research, 3,191-200.
- Kacar, B., 2010. Çay Bitkisi Biyokimyası Gübrelenmesi İşleme Teknolojisi, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara, s.11-17-179-217.
- Kaçmaz, B., Sipahi, A.B., Aksoy, A., 2006. *Candida* Türlerinin Tanımlanmasında “Api Id 32c” ve “Rapid Yeast Plus” Sistemlerinin karşılaştırılması. Ankem dergisi, 20(4), 214-216.
- Kaminarides, S.E., Laskos, N.S., 1992. Yeasts in factory brine of feta cheese. Aust. J. Dairy Technol., 47, 68-71.
- Kavanagh, K., 2005. Fungi Biology and Applications. John Wiley and Sons Ltd, England, pp. 1-47.
- Koehler, P.A, Chu, K.C., Houang, E.T.S, and Cheng, 1999. Simple, Reliable, and Cost-Effective Yeast Identification Scheme for the Clinical laboratory. Journal Of Clinical Microbiology, 37(2), 422-426.
- Koneman, E.W., Allen, S.D., Janda, W.M., Schreckenberger, P.C., Winn, W.C., Jr., 1997. Color Atlas and Text Book of Diagnostic Microbiology, Lippincott, New York pp.1296-1395.
- Kozaki, M., Koizumi, A. Kitahara, K. 1972. Microorganisms of zoogloal mats formed in tea decoction. Journal of Food and Hygienic Society of Japan, 13, 89-96.
- Kreger-van Rij, N.J.W., 1984. Delimitation of the yeast. In: N.J.W Kreger-van Rij (Ed.), The yeasts, a taxonomic study. 3rd edn. Elsevier, Amsterdam pp.1-16
- Kuraishi, H., Katayama-Fujimura, Y., Sugiyama, J. & Yokoyama, T. (1985). Ubiquinone systems in fungi I. Distribution of ubiquinones in the major families of ascomycetes, basidiomycetes, and deuteromycetes, and their taxonomic implications. Trans Mycol Soc Jpn., 26, 383–395.

- Kurtzman, C.P., Fell, J.W., 1998. The yeasts, a taxonomic study. 4th edn. Elsevier Science B.V., Amsterdam pp.7-107.
- Laroche, C., Gervais, P., 2003. Unexpected thermal destruction of dried, glass bead-immobilized microorganisms as a function of water activity. Applied and Environmental Microbiology, 69(5), 3015-3019.
- Laubscher, W.D.F, Viljoen, B.C., Albertyn, J., 2000. Yeast Flora Occuring in the Trachea of Chicken, Department of Microbiology and Biochemistry. Food technol. biotechnol., 38 (1), 77–80.
- Lengeler, K.B., Davidson, R.C., D’Souza, C., Harashima, T., Shen, W.-C., Wang, P., *et al.* 2000. Signal transduction cascades regulating fungal development and virulence. Microbiol Mol Biol Rev., 64, 746-785.
- Lenoir, J., 1984. The surface flora and its role in the ripening of cheese. Int. Dairy Fed. Bull., 171, 3- 20.
- Lodder, J. 1970. The yeasts: A taxonomic study. North–Holland Publishing Company, Amsterdam. P. 1385.
- Lopandic, K., Zelger, S., Banzky, L.K., Lechner, F.E., Prillinger, H., 2006. Identification of yeasts associated with milk products using traditional and molecular techniques. Food Microbiology, 23, 341–350.
- Loureiro, V., Malfeito-Ferreira, M., 2003. Spoilage yeasts in the wine industry. International Journal of Food Microbiology, 86, 23–50.
- Lui, C.H., Hsu, W.H., Lee, F.L., Liao, C.C., 1996. The isolation and identification of microbes from a fermented tea beverage, Haipao, and their interactions during Haipao fermentation. Food Microbiology, 13, 407-415.
- Magee, B. B., and Magee, P. T., 2005. Recent advances in the genomic analysis of *Candida albicans*. Rev. Iberoam. Micol., 22, 187–193.
- Maheshwari, R., 2005. Fungi Experimental Methods In Biology. CRC Press Tallor Francis Group, New York pp.7, 13, 81, 96.
- Marr, K. A., 2004. Invasive *Candida* infections: the changing epidemiology. Oncology, 14, 9-14.
- Masoud, W., Cesar, L.B., Jespersen, L., Jakobsen, M., 2004. Yeast involved in fermentation of *Coffea arabica* in East Africa determined by genotyping and by direct denaturing gradient gel electrophoresis. Yeast, 21, 549–556.
- Mehrotra, R.S., Aneja, K.R., 2005. An Introduction to Mycology. New Age International (P) Ltd., Pulishers, Reprint, New Delhi pp.1-65.

- Mukoyama, A., Ushijima, H., Nishimura, S., Koike, H., Toda, M., Y. Hara, Shimamura, T., 1991. Inhibition of rotavirus and enterovirus infections by tea extracts, Jpn. J. Med. Sci. Biol, 44, 181–186.
- Munson, E.L., Troy, D.R., Weber, J.K., Messer, S.A., Pfaller, M.A., 2002. Presumptive identification of *Candida kefyr* on levine formulation of eosin methylene blue agar. Journal of Clinical Microbiology, 40(11), 4281–4284.
- Nielsen, D.S., Honholt, S., Tano-Debrah, K., Jespersen, L., 2005. Yeast populations associated with Ghanaian cocoa fermentations analyzed using denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE). Yeast, 22, 271–284.
- Nielsen, D.S., Teniola, O.D., Ban-Koffi, L., Owusu, M., Andersson, T.S., Holzapfel, W.H., 2007. The microbiology of Ghanaian cocoa fermentations analysed using culture-dependent and culture-independent methods. Int. J. Food Microbiol., 114, 168–186.
- Nucci, M., and Marr, K. A., 2005. Emerging fungal diseases. Clin. Infect. Dis. 41,521–526.
- Odds, F.C., Brawner, D.L., Staudinger, J. , 1992. Typing of *Candida albicans* strains, J Med and Vet Mycol, 1, 87-94.
- Olasupo, N.A., Bakre, S., Teniola, O.D., James, S.A., 2003. Identification of yeasts isolated from Nigerian sugar cane peels. J. Basic Microbiol., 43, 530–533.
- Osorio-Cadavid, E., Chaves-López, C., Tofalo, R., Paparella, A., Suzzi, G., 2008. Detection and identification of wild yeasts in Champús, a fermented Colombian maize beverage. Food Microbiology, 25 ( 6), 771-777.
- Öner, M., 1998. Mikoloji I Ders Kitabı. Ege üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi, İzmir ss.1-7.
- Özcan, N., Cloning and Sequencing of a Cellulose Gene from *Fibrobacter succinogenes*, Doktora Tezi , Aberdeen Üniversitesi, İngiltere 1992.
- Passoth V., Fredlund, E., Druvefors, U.A., Schnurer, J., 2006. Biotechnology, physiology and genetics of the yeast *Pichia anomala*. FEMS Yeast Res, 6, 3-13.
- Petersen, K.M., Jespersen, L., 2004. Use of chromosome length polymorphism for differentiation of strains of *Debaryomyces hansenii* isolated from surface ripened cheeses. J Appl Microbiol., 97, 205-213.
- Pfaller, M.A., Messer, S.A., Hollisn, R.J., 1995. Variations in DNA subtype, antifungal susceptibility and slime production among clinical isolates of *Candida parapsilosis*. Diagn Microbiol Infect Dis, 21, 9-14.
- Pfaller, M. A., Jones, R.N., Messer, S.A., Edmond, M.B. and Wenzel, R.P., 1998. National surveillance of nosocomial blood stream infection due to species of *Candida* other

than *Candida albicans*: frequency of occurrence and antifungal susceptibility in the SCOPE Program. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 31, 327–332.

- Pitt, J.I., Hocking, A. D., 1985. Fungi and food spoilage. Academic Pres, Sydney, pp. 20-100.
- Ponto'n, J., Ruchel, R., Clemons, K.V., Coleman, D.C., Grillot, R., Guarro, J., Aldebert, D., Ambroise-Thomas, P., Cano, J., Carrillo-Mun'oz, A. J., Gene, J., Pinel, C., Stevens, D.A. and Sullivan, D. J., 2000. Emerging pathogens. Med. Mycol., 38, 225–236.
- Prakitchaiwattana, C.J., Fleet, G.H., Heard, G.M., 2004. Application and evaluation of denaturing gradient gel electrophoresis to analyse the yeast ecology of wine grapes. FEMS Yeast Res., 4, 865–877.
- Purko, M., Nelson, W.O., Wood, W.A., 1951. The associative action between certain yeasts and *Bacterium linens*. J. Dairy Sci., 24, 699-705.
- Roostita, R., Fleet, G.H., 1996. The occurrence and growth of yeasts in Camembert and blue-veined cheeses. Int. J. Food Microbiol., 28, 393–404.
- Ruhnke, M., 2006. Epidemiology of *Candida albicans* infections and role of non-*Candida albicans* yeasts. Curr. Drug Targets 7, 495–504.
- Sampaio, A., Sampaio, J.P., Leao, C. , 2007. Dynamics of yeast populations recovered from decaying leaves in a nonpolluted stream: a 2-year study on the effects of leaf litter type and decomposition time. FEMS Yeast Res., 7, 595–603.
- Samson, R.A., Houbraken, J., Treane, U., Frisvad, J.C., Andersen, B., 2010. Food and Indoor Fungi, CSB-KNAW Fungal Biodiversity Center Utrecht, The Netherlands pp. 352-363.
- Santos, E.A., Oliveira, R.B., Mendonca-Hagler, L.C., Hagler, A.N., 1996. Yeasts associated with flowers and fruits from a semi-arid region of northeastern Brazil. Rev. Microbiol., 27, 33–40.
- Sharma, A. K., Tiwari, R. P., and Hoondal G. S, 2001. Properties of a thermostable and solvent stable extracellular lipase from a *Pseudomonas sp.*. J. Basic Microbiology., 41(6), 363-366.
- Sharman, O.P., 2006. Textbook of Fungi. Tata McGraw-Hill Publishing Company Limited, New Delhi pp. 13-16.
- Snydman, D. R., 2003. Shifting patterns in the epidemiology of nosocomial *Candida* infections. Chest, 123, 500S–503S.
- Soll, D.R., Morrow, B., Srikantha, T., 1993. High-frequency phenotypic switching in *Candida albicans*. Microbiol Rev., 9, 61-65.



- Soll, D.R., 1992. High-frequency switching in *Candida albicans*. Clin Microbiol Rev., 5, 183-203.
- Soll, D.R., Morrow, B., Srikantha, T., Vargas, K., Wertz, P., 1994. Developmental and molecular biology of switching in *Candida albicans*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol, 78, 194-201.
- Stenderup, A., Thomsen, I.B., 1964. Identification of *Candida albicans*. Acta Pathol. Microbiol. Scand., 62, 303-304.
- Stringini, M., Comitini, F., Taccari, M., and Ciani, M., 2008. Yeast diversity in crop growing environments in Cameroon. International Journal of Food Microbiology, 127, 184-189.
- Sümer, S., 2006. Genel Mikoloji. Nobel Basım Evi, Ankara ss.14-23.
- Tempel, V.D., Jakobsen, T., 2000. The technological characteristics of *Debaryomyces hansenii* and *Yarrowia lipolytica* and their potential as starter cultures for production of Danablu. Int. Dairy J., 10, 263-270.
- Trindade, R.C., Resende, M.A., Silva, C.M., Rosa, C.A., 2002. Yeasts associated with fresh and frozen pulps of Brazilian tropical fruit. Syst. Appl. Microb., 25, 294-300.
- Toda, M., Okubo, S., Hara, Y., Shinamura, T., 1991. Antibacterial and bactericidal activities of tea extracts and catechins against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Jpn. J. Bacteriol., 46, 839-845.
- Török, T., King, A.D., 1991. Comparative Study on the Identification of Food-Borne Yeasts. Applied And Environmental Microbiology, 57 (4), 207-1212.
- URL-1, 2011; Fungal Biology\_A Textbook By Jim Deacon Blackwell Publishing 2005. Chapter 3 Images: Fungal Structure And Ultrastructure, <http://www.biology.ed.ac.uk/research/groups/jdeacon/FungalBiology/chap3a.htm>
- URL-2, 2011, Beach, C.B., 1914, Yeast reproducing by budding from The New Student's Reference Work, volum 5, p.137. F. E. Compton and Company, CHicago., [http://commons.wikimedia.org/wiki/File:NSRW\\_Yeast.png](http://commons.wikimedia.org/wiki/File:NSRW_Yeast.png),
- URL-3, 2011, Kingdom Eumycota-The True Fungi. Phylum Ascomycota - "The Ascomycetes" - Refer to chapter 5, In the textbook. Last modified on March 17, 2009 by Martin Huss Ph.D. [http://www.clt.astate.edu/mhuss/phylum\\_ascomycota.htm](http://www.clt.astate.edu/mhuss/phylum_ascomycota.htm)
- URL-4, 2001, Michael J. Gregory, Ph.D. Fungi <http://faculty.clintoncc.suny.edu/faculty/michael.gregory/files/bio%20102/bio%20102%20lectures/fungi/fungi.htm>
- Viljoen, B., 2006. Yeast ecological interactions. Yeast-yeast, yeastbacteria, yeast-fungi interactions and yeasts as biocontrol agents. In *Yeasts in Food and Beverages*. Edited by Querol A, Fleet GH. Springer pp. 83-110.

- Wickerham, L.J., 1951. Taxonomy of Yeast. United States Department of Agriculture, Technical bulletin no: 1029.
- Wingard, J. R.,1994. Infections due to resistant *Candida* species in patients with cancer who are receiving chemotherapy. Clin. Infect. Dis. 19(1), 49–53.
- Wolter, H., Laing, E., and Viljoen, B.C., 2000. Isolation and identification of yeasts associated with intermediate moisture meats. Food technol. biotechnol., 38 (1), 69-75.
- Wright, W. L., and Wenzel, R. P.,1997. Nosocomial *Candida*. Epidemiology, transmission and prevention. Infect. Dis. Clin. N. Am. 11: 411–425.
- Wyder, M.T., 2001. Yeasts in Dairy Products. Swiss Federal Dairy Research Station Liebefeld, CH-3003 Berne p.8-12.
- Yarrow, D., 1999. The yeast, A Taxonomic Study. Fourth edition, Elsevier science B.V., New York pp.77-100.

## ÖZGEÇMİŞ

1979 yılında İstanbul'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Rize'de tamamladı. 2001 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Rize Meslek Yüksek Okulu Elektrik bölümünü birincilikle bitirdi. 2003 yılında Kafkas Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünde bölüm ikincisi oldu, K.T.Ü. Rize Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümüne yatay geçiş yaparak 2006 yılında mezun oldu. 2007 yılında itibaren Rize Ticaret Borsası Özel Gıda Kontrol Laboratuvarında Mikrobiyoloji Laboratuvar Birim sorumlusu olarak çalışmaktadır. 2008 yılında K.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümünde Yüksek Lisans'a başladı, sonra Rize Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümüne yatay geçiş yaparak Yüksek Lisans eğitime devam etti. Halen yüksek lisans eğitimine devam etmektedir. İngilizce bilmektedir.