



MANTAR DERGİSİ

Ekim 2017

Cilt:8

Sayı:2

e-ISSN 2147-6845

E-DERGİ

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

MANTARCILIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ-KONYA-TÜRKİYE

*MANTAR
DERGİSİ*



*THE JOURNAL
OF FUNGUS*

E-DERGİ

E-JOURNAL

e-ISSN 2147-6845

CİLT:8, SAYI:2, EKİM 2017

VOLUME:8, ISSUE 2, OCTOBER 2017

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
MANTARCILIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ MÜDÜRLÜĞÜ
ADINA SAHİBİ

PROF.DR. GIYASETTİN KAŞIK

YAZI İŞLERİ MÜDÜRÜ

UZM.DR. SİNAN ALKAN

Haberleşme/Correspondence

S.Ü.

Mantarcılık Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğü
Alaaddin Keykubat Yerleşkesi, Fen Fakültesi B Blok Zemin Kat
42079 Selçuklu- Konya

Tel:(+90)0 332 223 3998/ Fax:(+90)0 332 241 24 94

Web: <http://www.mantarcilik.selcuk.edu.tr>

E-Posta: mantarcilik@gmail.com

Yayın Tarihi/Publication Date

31/10/2017

İDARİ YAYIN KURULU

(Merkez Yönetim Kurulu)

Prof.Dr. Gıyasettin KAŞIK

Prof.Dr. Celaleddin ÖZTÜRK

Prof.Dr. Hasan Hüseyin DOĞAN

Y.Doç.Dr. Sinan AKTAŞ

Y.Doç.Dr. Gönül EROĞLU

*MANİTAR
DERGİSİ*



*THE JOURNAL
OF FUNGUS*

E-DERGİ

E-JOURNAL

e-ISSN 2147-6845

CİLT:8, SAYI:2, EKİM 2017

VOLUME:8, ISSUE 2, OCTOBER 2017

Baş Editör

Prof.Dr.Gıyasettin KAŞIK(Selçuk Üniv.-Konya)

EDİTÖRLER KURULU (Editorial Board)

| | |
|---|---|
| <u>Prof.Dr. Abdullah KAYA</u> | <u>(Karamanoğlu Mehmetbey Üniv.-Karaman)</u> |
| <u>Prof.Dr. Abdülnasır YILDIZ</u> | <u>(Dicle Üniv.-Diyarbakır)</u> |
| <u>Prof.Dr. Abdurrahman Usame TAMER</u> | <u>(Celal Bayar Üniv.-Manisa)</u> |
| <u>Prof.Dr. Ahmet ASAN</u> | <u>(Trakya Üniv.-Edirne)</u> |
| <u>Prof.Dr. Ali ARSLAN</u> | <u>(Yüzüncü Yıl Üniv.-Van)</u> |
| <u>Prof.Dr. Aysun PEKŞEN</u> | <u>(19 Mayıs Üniv.-Samsun)</u> |
| <u>Prof.Dr. A.Dilek AZAZ</u> | <u>(Balıkesir Üniv.-Balıkesir)</u> |
| <u>Prof.Dr. Ayşen ÖZDEMİR TÜRK</u> | <u>(Anadolu Üniv.- Eskişehir)</u> |
| <u>Prof.Dr. Beyza ENER</u> | <u>(Uludağ Üniv.Bursa)</u> |
| <u>Prof.Dr. Cvetomir M. DENCHEV</u> | <u>(Bulgarian Academy of Sciences, Bulgaristan)</u> |
| <u>Prof.Dr. Celaledin ÖZTÜRK</u> | <u>(Selçuk Üniv.-Konya)</u> |
| <u>Prof.Dr. Ertuğrul SESLİ</u> | <u>(Karadeniz Teknik Üniv.-Trabzon)</u> |
| <u>Prof.Dr. Giovanni PACIONI</u> | <u>(Università Degli Studi Dell'Aquila- L'Aquila, İtalya)</u> |
| <u>Prof.Dr. Hacı Halil BIYIK</u> | <u>(Adnan Menderes Üniv.-Aydın)</u> |
| <u>Prof.Dr. H. Hüseyin DOĞAN</u> | <u>(Selçuk Üniv.- Konya)</u> |
| <u>Prof.Dr. Kenan DEMİREL</u> | <u>(Ordu Üniv.-Ordu)</u> |
| <u>Prof.Dr. Macit İLKİT</u> | <u>(Çukurova Üniv.-Adana)</u> |
| <u>Prof.Dr. Mitko KARADALEV</u> | <u>(Ss.Cyril and Methodius Univ.-Macedonia)</u> |
| <u>Prof.Dr. Mustafa YAMAÇ</u> | <u>(Eskişehir Osmangazi Üniv.-Eskişehir)</u> |
| <u>Prof.Dr. Nur Münevver PINAR</u> | <u>(Ankara Üniv.-Ankara)</u> |
| <u>Prof.Dr. Sevda KIRBAĞ</u> | <u>(Fırat Üniv.-Elazığ)</u> |
| <u>Prof.Dr. Süleyha Hilmioğlu POLAT</u> | <u>(Ege Üniv.-İzmir)</u> |
| <u>Prof.Dr. Şule ÖZTÜRK</u> | <u>(Uludağ Üniv.- Bursa)</u> |
| <u>Prof.Dr. Vasyıl P. HELUTA</u> | <u>(M.G.Kholodny Botany Institute Mycology,Kiev, Ukraine)</u> |
| <u>Prof.Dr Yusuf UZUN</u> | <u>(Yüzüncü Yıl Üniv.-Van)</u> |
| <u>Doç.Dr. Burhan ŞEN</u> | <u>(Trakya Üniv.-Edirne)</u> |
| <u>Doç.Dr. Cem ERGÜL</u> | <u>(Uludağ Üniv.-Bursa)</u> |
| <u>Doç.Dr. Faruk SELÇUK</u> | <u>(Ahi Evran Üniv.-Kırşehir)</u> |
| <u>Doç.Dr. Fatih KALYONCU</u> | <u>(Celal Bayar Üniv.-M)</u> |
| <u>Doç.Dr. Hasan AKGÜL</u> | <u>(Akdeniz Üniv.-Antalya)</u> |
| <u>Doç.Dr. İlğaz AKATA</u> | <u>(Ankara Üniv.-Ankara)</u> |
| <u>Doç.Dr. Kadir KINALIOĞLU</u> | <u>(Giresun Üniv.-Giresun)</u> |
| <u>Doç.Dr. Mehmet CANDAN</u> | <u>(Anadolu Üniv. Eskişehir)</u> |
| <u>Yrd.Doç.Dr. İskender KARALTI</u> | <u>(Yeditepe Üniv.-İstanbul)</u> |
| <u>Yrd.Doç.Dr. Şanlı KABAĞTEPE</u> | <u>(İnönü Üniv.-Malatya)</u> |
| <u>Dr. Sinan ALKAN</u> | <u>(Selçuk Üniv.-Konya)</u> |

*MANĖAR
DERGİSİ*



*THE JOURNAL
OF FUNGUS*

E-DERGİ

E-JOURNAL

e-ISSN 2147-6845

ĖİLT:8, SAYI:2, EKİM 2017

VOLUME:8, ISSUE 2, OCTOBER 2017

Bu sayımızda yer alan eserler hakkında ağağıda isimleri yazılı hakemlerimize yaptıkları değerlendirmeler için teğekkür ederiz.

Prof.Dr. Abdullah KAYA
Prof.Dr. Ahmet ASAN
Prof.Dr. AyĖen ÖZDEMİR TÜRK
Prof.Dr. Celaleddin ÖZTÜRK
Prof.Dr. Ertuğrul SESLİ
Prof.Dr. Gökalp Özmen GÜLER
Prof.Dr. Hacı Halil BIYIK
Prof.Dr. Hasan Hüseyin DOğAN
Prof.Dr. Kenan DEMİREL
Prof.Dr. Mustafa YAMAĖ
Prof.Dr. Sevda KIRBAğ
Prof.Dr. Yusuf UZUN
Doę.Dr. Ahmet UYSAL
Doę.Dr. Evrim ÖZKALE
Doę.Dr. Faruk SELĖUK
Doę.Dr. Fatih KALYONCU
Doę.Dr. Hasan AKGÜL
Doę.Dr. Ilgaz AKATA
Doę.Dr. İbrahim TÜRKEKUL
Doę.Dr. Mehmet CANDAN
Doę.Dr. Özlem Abacı GÜNYAR
Doę.Dr. Rasime DEMİREL
Y.Doę.Dr. Fatma Nur ARSLAN
Y.Doę.Dr. Hakan ALLI
Y.Doę.Dr. Serkan ÖRTÜCÜ
Y.Doę.Dr. Ŗanlı KABAKTEPE
Dr. Sinan ALKAN

| |
|---|
| Macrofungal Diversity of Yalova Province76 <i>Yalova İlinin Makrofungus Çeşitliliği</i> Hakan ALLI, Selime Semra CANDAR, Ilgaz AKATA |
| <i>Entoloma majaloides</i> (Entolomataceae): Türkiye Mikotası İçin Yeni Bir Kayıt.....85 <i>Entoloma majaloides</i> (Entolomataceae): A New Record for the Turkish Mycota Ertuğrul SESLI, Ayşegül TOPCU SESLI |
| Kültüre Alınmış <i>Lentinula edodes</i> 'in Metanol Ekstraktının Antioksidan ve <i>In Vitro</i> Bazı Enzim İnhibitör Aktiviteleri.....90 <i>Antioxidant and In Vitro Some Enzyme Inhibitory Activities</i> <i>of Methanolic Extract of Cultivated Lentinula edodes</i> Sinan ALKAN, Haluk ÖZPARLAK, Gökhan ZENGİN, Gıyasettin KAŞIK |
| Two New Records for Turkey: <i>Ophiobolus erythrosporus</i> and <i>Leptosphaeria modesta</i>99 <i>Türkiye İçin İki Yeni Kayıt: Ophiobolus erythrosporus ve Leptosphaeria modesta</i> Makbule ERDOĞDU, Gökhan DOĞAN |
| <i>Bovista plumbea</i> Pers.'nin Yağ Asiti İçeriklerinin İncelenmesi.....104 <i>Determination of Fatty Acid Contents of Bovista plumbea Pers.</i> Fatih DURMAZ, Sinan AKTAŞ, Ela Nur ŞİMŞEK SEZER |
| Evlerde Kullanılan Buzdolaplarının İç Ortamında Havayla Taşınan Fungusların Biyoçeşitliliği.....109 <i>Biodiversity of Airborne Fungi in the Indoor Environment of Refrigerators Used in Houses</i> Soner OZDIL, Ahmet ASAN, Burhan SEN, Suzan OKTEN |
| An Interesting Half-Free Morel Record for Turkish Mycobiota (<i>Morchella populiphila</i> M. Kuo, M.C. Carter & J.D. Moore).....125 <i>Türkiye Mikobiyotası İçin İlginç Bir Yarı-Serbest Morel Kaydı</i> (<i>Morchella populiphila</i> M. Kuo, M.C. Carter & J.D. Moore) İsmail ACAR, Yusuf UZUN |
| Selçuk Üniversitesi Alaeddin Keykubat Kampüsü (Konya) Makromantarlarına İlaveler.....129 <i>Additions to the Macrofungi of Selçuk University Alaeddin Keykubat Campus(Konya)</i> Gıyasettin KAŞIK, Sinan AKTAŞ, Sinan ALKAN, Celaleddin ÖZTÜRK |

**MANTAR
DERGİSİ**



**THE JOURNAL
OF FUNGUS**

E-DERGİ

E-JOURNAL

e-ISSN 2147-6845

CİLT:8, SAYI:2, EKİM 2017

VOLUME:8, ISSUE 2, OCTOBER 2017

- Molecular Identification and Phylogeny of Some *Hypocreales* Members Isolated from Agricultural Soils.....137
Tarımsal Topraklardan İzole Edilen Bazı Hypocreales Üyelerinin Moleküler Teşhisi ve Filogenisi
Rasime DEMİREL
- Bitki Patojeni Funguslarda Virülans Faktörleri.....143
Virulence Factors in Plant Pathogen Fungi
Özlem Abacı GÜNYAR
- Increasing of Laccase and Manganese Peroxidase Activity By Co-Culture of Immobilized *Pleurotus ostreatus* and *Lentinus tigrinus* Mycelia.....152
Immobilize Pleurotus ostreatus ve Lentinus tigrinus Misellerinin Birlikte Kültürü ile Lakkaz ve Mangan Peroksidaz Enzim Aktivitelerinin Arttırılması
Selen Seyide UZAR, Ayşe Betül KARADUMAN, Mustafa YAMAÇ
- A Hypogeous *Lactarius* sp., New to Turkish Mycobiota.....163
Türkiye Mikobiyotası İçin Yeni Bir Toprakaltı Lactarius Türü
Yasin UZUN, Abdullah KAYA
- Four New Records of Basidiomycota for the Turkish Mycota From Trabzon and İstanbul Provinces168
Türkiye Mikotası İçin Trabzon ve İstanbul İllerinden Dört Yeni Bazidiyomikota Kaydı
İlgaz AKATA, Ertuğrul SESLİ
- Mineral Contents of Some Wild Edible Mushrooms.....178
Bazı Yenilebilir Yabani Mantarların Mineral İçerikleri
Abdullah KAYA, Fevzi KILIÇEL, Hacer Sibel KARAPINAR, Yasin UZUN



Macrofungal Diversity of Yalova Province

Hakan ALLI*¹, Selime Semra CANDAR¹, Ilgaz AKATA²

¹Muğla Sıtkı Koçman University, Faculty of Science,
Department of Biology, Kötekli, Muğla, Turkey

²Ankara University, Faculty of Science,
Department of Biology, Tandoğan, Ankara, Turkey

Abstract: Fungal samples were collected from different localities in the boundaries of Yalova province between 2010 and 2012. As a result of field and laboratory studies, 91 species within the 41 families and 14 orders were identified. 17 of them belong to the division *Ascomycota* and 74 to *Basidiomycota*. The species list is given with the informations on localities, habitats, collecting dates and collection numbers.

Key words: Macrofungal diversity, Yalova, Marmara region, Turkey.

Yalova İlinin Makrofungus Çeşitliliği

Öz: Mantar örnekleri 2010 ve 2012 yılları arasında Yalova il sınırları içerisinde farklı lokalitelerden toplanmıştır. Arazi ve laboratuvar çalışmaları sonucunda, 14 ordo ve 41 familya içerisinde yer alan 91 tür tespit edilmiştir. Bunlardan 17'si *Ascomycota*, 74'ü ise *Basidiomycota* bölümüne aittir. Tür listesi, lokaliteler, habitatlar, toplama tarihleri ve koleksiyon numaraları ile ilgili bilgilerle birlikte verilmiştir.

Anahtar kelimeler: Makrofungus çeşitliliği, Yalova, Marmara Bölgesi, Türkiye.

Introduction

Macrofungi are specific part of kingdom fungi that include the divisions *Ascomycota* and *Basidiomycota* with large and easily observed fruiting bodies (Servi et al., 2010). Most of them are saprobes or mycorrhizal symbionts, but some are parasitics on various plants or fungi species. A great deal of taxonomic studies have been carried out on Turkish macromycota for more than 100 years. The number of these investigations have been increased especially for the last decade and the collected data were presented as checklists by different research groups (Doğan et al., 2005; Sesli and Denchev, 2008). Recently, some new contributions were also added to list from different part of Turkey (Acar et al., 2015; Akata, 2017; Akata and Doğan, 2015; Akata and Uzun, 2017; Akata et al., 2015, 2016a;2016b; Akçay and Uzun, 2016; Alkan et al., 2016; Allı et al, 2016; Demirel and

Koçak, 2016; Doğan and Akata, 2015; Doğan and Kurt, 2016; Dülger and Akata, 2016; Kaya et al., 2016; Sesli and Topçu Sesli, 2016, 2017; Sesli and Vizzini, 2017; Sesli et al., 2016; Öztürk C. et al., 2017; Öztürk Ö. et al., 2016; Taşkın et al., 2016; Vizzini et al., 2016; Uzun et al., 2017). The taxonomic investigations around the study area are conducted by Akata (2017); Allı et al. (2016), Karamanoğlu and Öder (1973), Solak and Gücin (1992), but there is not any report of mycological investigation in Yalova province.

The purpose of this study is to determine the macrofungal diversity of Yalova province and to make a contribution to the mycobiota of Turkey.

Yalova is a province of Marmara Region, on the eastern coast of Marmara sea. The province, which is comprised of 6 districts and 58 villages, is surrounded by Marmara Sea in the north, and the west, Kocaeli province in the east,



Bursa province in the south (Figure 1). It has an area of 839 km² and its elevation varies from sea level to 926 m (Koçyiğit and Özhatay, 2006; Özdemir and Bahadır, 2007). The area, which falls in Euro-Siberian phytogeographical region, is situated in the A2 grid square (Davis, 1965). The climatic characteristics of the region shows transition between the Mediterranean and the Black Sea climates but continental climate features can be seen in some periods. Summers

are hot and relatively dry, winters are warm and rainy. The average annual mean temperature is 14.3 °C and the maximum average temperature is 23.7 °C while the minimum average temperature is 6.6 °C. The coldest months are January and February, the warmest month is July. The average annual precipitation is 1093.4 mm and the average annual humidity is 76%. Most rainfall is seen in November, December and January (Url. 1).

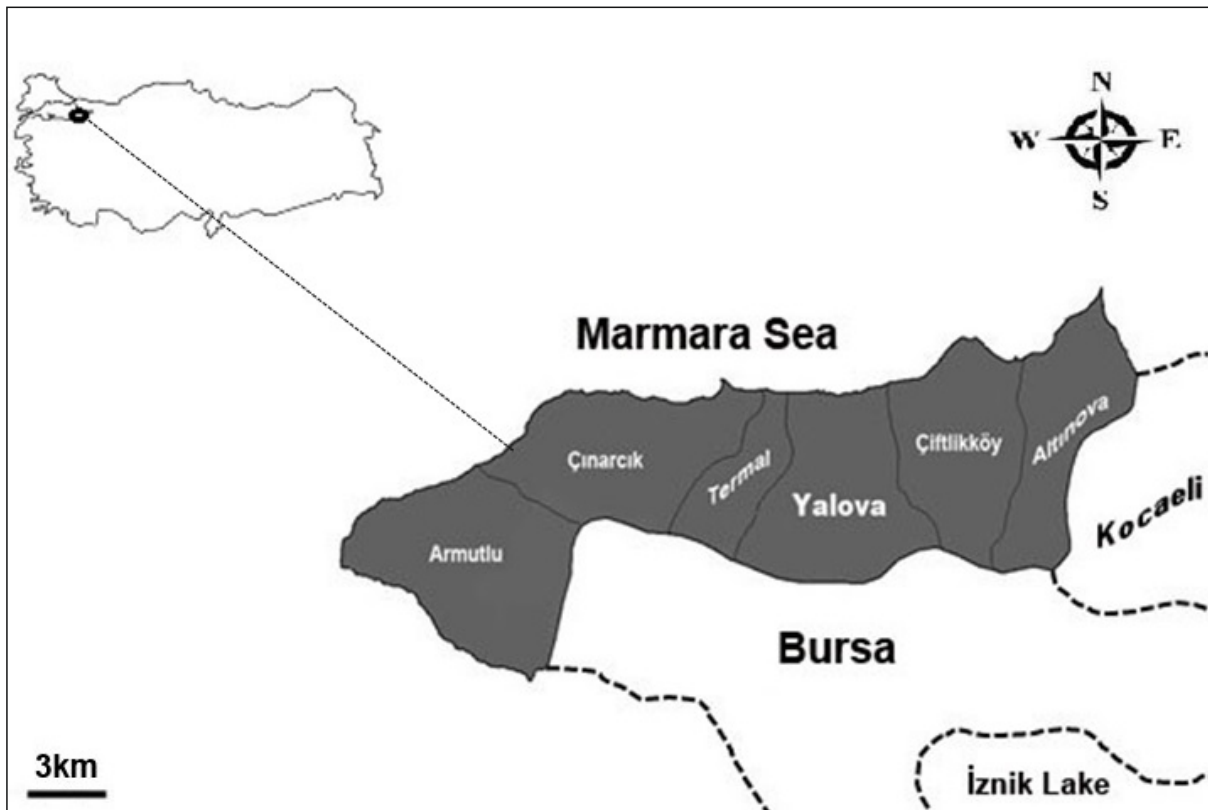


Figure 1. Map of the research area.

The floristic composition of the province is mainly consist of forest and maquis elements such as hairy hoary rock-rose, French lavender, hawthorn, mock privet, strawberry tree, laurel tree, sage-leaved rock-rose, tree heath, thorny broom, beech, oak, hornbeam, chesnut, cornelian cherry, linden and pine (Koçyiğit and Özhatay, 2006; Anonymus, 2016).

Materials and Methods

Macrofungi samples were collected in the boundaries of Yalova province between 2010 and 2012. Necessary morphological and ecological characteristics of the samples were noted and they were photographed in their natural habitats.



Fungal samples were further examined and micro-structural data were obtained by light microscopy. Some reagents such as distilled water, Melzer's reagent, 5% KOH, H₂SO₄, Cotton blue, Congo red etc. were used for microscopic investigations. Identification was performed according to Breitenbach and Kränzlin (1984–2000), Hansen and Knudsen (1992–2000), Ryvarden and Gilbertson (1993), Pegler et al. (1997), Calonge (1998), Kränzlin (2005) and Medardi (2006).

Results

The species list is given in alphabetical order with locality, notes on habitat, collection date and fungarium numbers. The systematics of the taxa are presented in accordance with Cannon and Kirk (2007), Kirk et al. (2008), and the Index Fungorum (Url. 2).

Fungi

Ascomycota

Helotiales

Helotiaceae

Hymenoscyphus calyculus (Fr.) W. Phillips: Yalova centre, Höyük hill, on linden branch, 600 m, 23.11.2011, Candar 250.

Pezizales

Helvellaceae

Helvella acetabulum (L.) Qué!.: Yalova centre, Güney village, mixed forest, 542 m, 25.04.2012, Candar 375.

Helvella cupuliformis Dissing & Nannf.: Armutlu district, beech forest, 553 m, 18.09.2012, Candar 515.

Morchellaceae

Morchella esculenta (L.) Pers.: Yalova centre, Research orchard, pine forest, sea level, 27.11.2012, Candar 651.

Pyronemataceae

Scutellinia scutellata (L.) Lambotte: Çınarcık district, İsmaildere area, on beech stump, 350 m, 24.04.2012, Candar 360.

Scutellinia umbrorum (Fr.) Lambotte: Yalova centre, Güney village, on linden branch, 692 m, 09.05.2012, Candar 386.

Sarcoscyphaceae

Pithya vulgaris Fuckel: Yalova centre, Paşakent

area, on pine branch, 60 m, 27.12.2012, Candar 646.

Xylariales

Diatrypaeae

Diatrype disciformis (Hoffm.) Fr.: Yalova centre, Sugören village, on linden branch, 635 m, 27.12.2011, Candar 311.

Diatrype stigma (Hoffm.) Fr.: Altınova district, Laledere area, on oak branch, 350 m, 17.07.2012, Candar 477.

Diatrypella quercina (Pers.) Cooke: Yalova centre, Mezarlıktepe area, on oak branch, 542 m, 25.04.2012, Candar 379.

Xylariaceae

Biscogniauxia nummularia (Bull.) Kuntze: Yalova centre, Mezarlıktepe area, on linden branch, 542 m, 25.04.2012, Candar 373.

Daldinia concentrica (Bolton) Ces. & De Not.: Termal district, on linden branch, 400 m, 21.11.2011, Candar 176.

Hypoxylon fragiforme (Pers.) J. Kickx f.: Çınarcık district, İsmaildere area, on beech stump, 350 m, 24.04.2012, Candar 356.

Hypoxylon fuscum (Pers.) Fr.: Yalova centre, Güney village, on common hazel branch, 550 m, 09.05.2012, Candar 399.

Kretzschmaria deusta (Hoffm.) P.M.D. Martin: Çınarcık district, İsmaildere area, on beech stump, 350 m, 24.04.2012, Candar 358.

Xylaria hypoxylon (L.) Grev.: Yalova centre, Kurt village, on chestnut stump, 362 m, 25.10.2010, Candar 142; Altınova district, Taşköprü area, on beech stump, 271 m, 24.11.2011, Candar 259.

Xylaria longipes Nitschke: Altınova district, Laledere area, on linden branch, 600 m, 09.07.2012, Candar 454.

Basidiomycota

Agaricales

Agaricaceae

Crucibulum laeve (Huds.) Kambly: Armutlu district, on fern stem, 250 m, 31.10.2012, Candar 582.

Lycoperdon atropurpureum Vittad.: Yalova centre, Güney village, in meadow, 42 m, 20.06.2011, Candar 119; Altınova district, Taşköprü, pine forest, 271 m, 29.11.2011, Candar 274.



Lycoperdon echinatum Pers.: Yalova centre, Sugören village, linden forest, 635 m, 27.12.2011, Candar 630.

Lycoperdon perlatum Pers.: Yalova centre, Paşakent area, pine forest, 60 m, 23.11.2011, Candar 201; Armutlu district, Mecidiye village, pine forest, 250 m, 23.11.2011, Candar 238;

Lycoperdon pyriforme Schaeff.: Yalova centre, Kurt village, on chestnut stump, 362 m, 25.10.2010, Candar 150.

Macrolepiota excoriata (Schaeff.) Wasser: Yalova centre, Güney village, in meadow, 42 m, 24.10.2011, Candar 114.

Macrolepiota procera (Scop.) Singer: Yalova centre, Güney village, in meadow, 42 m, 24.10.2011, Candar 115; Termal district, in meadow, 100 m, 21.11.2011, Candar 193.

Amanitaceae

Amanita argentea Huijsman: Çınarcık district, Kent forest, in meadow, 530 m, 18.09.2012, Candar 519.

Amanita caesarea (Scop.) Pers.: Termal district, mixed forest, 100 m, 21.11.2011, Candar 188.

Amanita pantherina (DC.) Krombh.: Çınarcık district, Teşvikiye area, in meadow, 106 m, 05.06.2012, Candar 444.

Fistulinaceae

Fistulina hepatica (Schaeff.) With.: Çınarcık district, Hasanbaba area, on oak, 30 m, 29.11.2011, Candar 294.

Hydnangiaceae

Laccaria tortilis (Bolton) Cooke: Altınova district, Gacik area, mixed forest, 177 m, 16.07.2012, Candar 470.

Hygrophoraceae

Hygrocybe conica (Schaeff.) P. Kumm.: Yalova centre, Sugören village, linden forest, 635 m, 27.12.2011, Candar 639.

Hygrophorus unicolor Gröger: Termal district, mixed forest, 400 m, 21.11.2011, Candar 170.

Inocybaceae

Crepidotus mollis (Schaeff.) Staude: Çınarcık district, Hasanbaba area, on oak branch, 30 m, 29.11.2011, Candar 298.

Inocybe geophylla (Bull.) P. Kumm.: Yalova centre, Kurt village, chestnut forest, 360 m, 24.10.2011, Candar 148.

Mycenaceae

Mycena crocata (Schrad.) P. Kumm.: Yalova centre, Kurt village, on chestnut stump, 360 m, 24.10.2011, Candar 140; Yalova centre, Höyük hill, on beech stump, 600 m, 23.11.2011, Candar 257.

Omphalotaceae

Omphalotus olearius (DC.) Singer: Yalova centre, Kurt village, on chestnut stump, 360 m, 24.10.2011, Candar 151; Çınarcık district, Hasanbaba area, on oak stump, 30 m, 29.11.2011, Candar 281.

Physalaciaceae

Armillaria mellea (Vahl) P. Kumm.: Altınova district, İstihdam hill, on beech root, 530 m, 24.11.2011, Candar 260; Çınarcık district, Hasanbaba area, on oak root, 30 m, 29.11.2011, Candar 291.

Mucidula mucida (Schrad.) Pat.: Termal district, on beech stump, 100 m, 21.11.2011, Candar 185.

Pleurotaceae

Pleurotus ostreatus (Jacq.) P. Kumm.: Çınarcık district, Hasanbaba area, on oak stump, 30 m, 29.11.2011, Candar 301.

Psathyrellaceae

Coprinellus disseminatus (Pers.) J.E. Lange: Çınarcık district, Kent forest, on plane stump, 530 m, 25.09.2012, Candar 538.

Coprinopsis picacea (Bull.) Redhead, Vilgalys & Moncalvo: Yalova centre, Güney village, oak forest, 42 m, 24.10.2011, Candar 111; Yalova centre, Höyük hill, in meadow, 600 m, 23.11.2011, Candar 247; Çınarcık district, Hasanbaba area, in meadow, 30 m, 29.11.2011, Candar 287.

Schizophyllaceae

Schizophyllum commune Fr.: Termal district, on common hazel, 100 m, 21.11.2011, Candar 189.

Strophariaceae

Cyclocybe cylindracea (DC.) Vizzini & Angelini: Yalova centre, Research orchard, chestnut stump, sea level, 26.09.2012, Candar 543.

Hypholoma fasciculare (Huds.) P. Kumm.: Armutlu district, Mecidiye village, on pine stump, 495 m, 23.11.2011, Candar 213.

Stropharia aeruginosa (Curtis) Quéél.: Altınova district, Gacik area, near pine forest, 177 m, 16.07.2012, Candar 635.



Tricholomataceae

Clitocybe odora (Bull.) P. Kumm.: Yalova centre, Kurt village, chestnut forest, 362 m, 25.10.2010, Candar 157.

Lepista nuda (Bull.) Cooke: Çınarcık district, Kent forest, mixed forest, 530 m, 25.09.2012, Candar 539.

Tricholoma terreum (Schaeff.) P. Kumm.: Yalova centre, Research orchard, pine forest, sea level, 23.11.2011, Candar 205; Armutlu district, Mecidiye village, pine forest, 250 m, 23.11.2011, Candar 233.

Auriculariales

Auriculariaceae

Auricularia auricula-judae (Bull.) Quélet.: Yalova centre, Kurt village, on oak branch, 362 m, 27.12.2011, Candar 306; Yalova centre, Sugören village, on linden stump, 635 m, 27.12.2011, Candar 313;

Exidia nigricans (With.) P. Roberts: Çınarcık district, İsmaildere area, on beech stump, 350 m, 24.04.2012, Candar 355.

Exidia glandulosa (Bull.) Fr.: Yalova centre, Güney village, on oak branch, 30 m, 21.03.2012, Candar 343.

Boletales

Boletaceae

Hortiboletus rubellus (Krombh.) Simonini, Vizzini & Gelardi: Yalova centre, Güney village, oak forest, 42 m, 24.10.2011, Candar 127.

Gomphidiaceae

Chroogomphus helveticus (Singer) M.M. Moser: Armutlu district, pine forest, 250 m, 20.06.2012, Candar 542.

Chroogomphus rutilus (Schaeff.) O.K. Mill.: Yalova centre, Güney village, pine forest, 42 m, 20.06.2011, Candar 129; Armutlu district, Mecidiye village, pine forest, 250 m, 23.11.2011, Candar 241.

Paxillaceae

Paxillus involutus (Batsch) Fr.: Çınarcık district, Kent forest, in meadow, 530 m, 18.09.2012, Candar 508.

Rhizopogonaceae

Rhizopogon ochraceorubens A.H. Sm.: Armutlu district, Anittepe area, pine forest, 250 m,

23.11.2011, Candar 240.

Sclerodermataceae

Pisolithus arhizus (Scop.) Rauschert: Yalova centre, Research orchard, pine forest, sea level, 24.10.2011, Candar 127.

Scleroderma polyrhizum (J.F. Gmel.) Pers.: Yalova centre, Research orchard, pine forest, sea level, 27.11.2012, Candar 650.

Suillaceae

Suillus collinitus (Fr.) Kuntze: Yalova centre, Paşakent area, under stone pine, 60 m, 23.11.2011, Candar 197; Yalova centre, Research orchard, pine forest, 12 m, 23.11.2011, Candar 203; Armutlu district, Mecidiye village, pine forest, 250 m, 23.11.2011, Candar 242.

Cantharellales

Cantharellaceae

Cantharellus cibarius Fr.: Armutlu district, Mecidiye village, pine forest, 250 m, 23.11.2011, Candar 245.

Craterellus cornucopioides (L.) Pers.: Yalova centre, Sugören village, near linden forest, 635 m, 27.12.2011, Candar 319.

Dacrymycetales

Dacrymycetaceae

Calocera cornea (Batsch) Fr.: Çınarcık district, Hasanbaba area, on oak branch, 30 m, 07.10.2016, Candar 612.

Hymenochaetales

Hymenochaetaceae

Fuscoporia torulosa (Pers.) T. Wagner & M. Fisch.: Çınarcık district, Hasanbaba area, on chestnut stump, 30 m, 18.09.2012, Candar 523.

Inonotus hispidus (Bull.) P. Karst.: Yalova centre, on apple tree, sea level, 24.10.2011, Candar 109.

Phallales

Phallaceae

Clathrus ruber P. Micheli ex Pers.: Armutlu district, Anittepe area, pine forest, 495 m, 23.11.2011, Candar 211.

Mutinus caninus (Huds.) Fr.: Armutlu district, Mecidiye village, pine forest, 250 m, 20.06.2012, Candar 545.



Polyporales

Fomitopsidaceae

Daedalea quercina (L.) Pers.: Yalova centre, Kurt village, on chestnut stump, 362 m, 25.10.2010, Candar 158.

Laetiporus sulphureus (Bull.) Murrill: Termal district, on chestnut stump, 100 m, 21.11.2011, Candar 194; Çınarcık district, İsmaildere area, on beech stump, 350 m, 24.04.2012, Candar 366.

Ganodermataceae

Ganoderma applanatum (Pers.) Pat.: Yalova centre, Research orchard, chestnut stump, sea level, 29.02.2012, Candar 336.

Ganoderma lucidum (Curtis) P. Karst.: Çınarcık district, Hasanbaba area, on oak stump, 30 m, 29.11.2011, Candar 294; Çınarcık district, İsmaildere area, on beech stump, 350 m, 24.04.2012, Candar 359.

Ganoderma resinaceum Boud.: Altınova district, Laledere area, on oak stump, 350 m, 17.07.2012, Candar 476.

Meripilaceae

Rigidoporus ulmarius (Sowerby) Imazeki: Çınarcık district, Teşvikiye area, on plane stump, 106 m, 20.03.2012, Candar 341.

Polyporaceae

Fomes fomentarius (L.) Fr.: Yalova centre, Güney village, on chestnut stump, 542 m, 25.04.2012, Candar 376.

Lentinus tigrinus (Bull.) Fr.: Çınarcık district, Kent forest, on plane stump, 530 m, 18.09.2012, Candar 512.

Lentinus substrictus (Bolton) Zmitr. & Kovalenko: Çınarcık district, İsmaildere area, on beech stump, 350 m, 24.04.2012, Candar 362.

Lenzites betulina (L.) Fr.: Yalova centre, Güney village, on oak stump, 30 m, 19.09.2012, Candar 526.

Picipes melanopus (Pers.) Zmitr. & Kovalenko: Yalova centre, Kurt village, on chestnut stump, 490 m, 05.06.2012, Candar 423.

Trametes hirsuta (Wulfen) Lloyd: Armutlu district, mixed forest, on beech branch, 177 m, 20.06.2012, Candar 541.

Trametes ochracea (Pers.) Gilb. & Ryvardeen: Çiftlikköy district, on linden stump, 500 m,

24.04.2012, Candar 370.

Trametes versicolor (L.) Lloyd: Termal district, on common hazel, 400 m, 21.11.2011, Candar 177; Yalova centre, Altınova district, Höyük hill, on beech, 600 m, 23.11.2011, Candar 256 ; Çınarcık district, Hasanbaba area, on oak stump, 30 m, 29.11.2011, Candar 292; Yalova centre, Sugören village, on beech, 635 m, 27.12.2011, Candar 310.

Trametes pubescens (Schumach.) Pilát: Yalova centre, Güney village, on oak branch, 42 m, 24.10.2011, Candar 117.

Russulales

Peniophoraceae

Peniophora quercina (Pers.) Cooke: Çınarcık district, Hasanbaba area, on oak branch, 30 m, 29.11.2011, Candar 284.

Russulaceae

Lactarius aurantiacus (Pers.) Gray: Altınova district, Laledere area, linden-oak mixed forest, 350 m, 15.07.2012, Candar 473.

Lactarius deliciosus (L.) Gray: Yalova centre, Paşakent area, pine forest, 60 m, 23.11.2011, Candar 199; Armutlu district, Mecidiye village, pine forest, 495 m, 23.11.2011, Candar 209.

Lactarius deterrimus Gröger: Armutlu district, Mecidiye village, pine forest, 495 m, 23.11.2011, Candar 210.

Lactarius sanguifluus (Paulet) Fr.: Yalova centre, Research orchard, pine forest, 12 m, 23.11.2011, Candar 202.

Russula acrifolia Romagn.: Çınarcık district, Delmece area, linden forest, 610 m, 10.07.2012, Candar 463.

Russula anatina Romagn.: Yalova centre, Güney village, mixed forest, 62 m, 04.06.2012, Candar 413.

Stereaceae

Stereum gausapatum (Fr.) Fr.: Termal district, on chestnut branch, 400 m, 21.11.2011, Candar 167; Yalova centre, Kurt village, on oak stump, 362 m, 27.12.2011, Candar 303.

Stereum hirsutum (Willd.) Pers.: Yalova centre, Höyük hill, on oak branch, 600 m, 23.11.2011, Candar 249; Yalova centre, Kurt village, on oak stump, 362 m, 27.12.2011, Candar 304;



Thelephorales

Bankeraceae

Sarcodon fuligineoviolaceus (Kalchbr.) Pat.: Yalova Centre, Armutlu district, pine forest, 250 m, 23.11.2011, Candar 215.

Tremellales

Tremellaceae

Tremella mesenterica Retz.: Yalova centre, Güney village, on oak branch, 42 m, 24.10.2011, Candar 124.

Discussion

In this study, Ninety-one macrofungi species belong to 41 families and 14 orders were presented. All species are new for Yalova province. The list contains 17 *Ascomycota* (1 *Helotiales*, 6 *Pezizales* and 10 *Xylariales*), and 74 *Basidiomycota* (30 *Agaricales*, 3 *Auriculariales*, 8 *Boletales*, 2 *Cantharellales*, 1 *Dacrymycetales*, 2 *Hymenochaetales*, 2 *Phallales*, 15 *Polyporales*, 9 *Russulales*, 1 *Thelephorales* and 1 *Tremellales*). Four orders (*Agaricales*, *Polyporales*, *Russulales*, *Boletales*) are the most crowded that contain 68.4% of total species.

Fifty-one species are lignicolous and forty are terricolous. The most common lignicolous species in the research area are; *Xylaria hypoxylon*, *Armillaria mellea*, *Auricularia auricula-judae*, *Laetiporus sulphureus*, *Trametes versicolor*, *Stereum gausapatum* and *S. hirsutum*. Eight terricolous species

(*Lycoperdon perlatum*, *Macrolepiota procera*, *Coprinopsis picacea*, *Tricholoma terreum*, *Pisolithus arhizus*, *Suillus collinitus*, *Chroogomphus rutilus* and *Lactarius deliciosus*) are widely distributed in the research area.

Twenty-two of ninety-one macrofungi are edible but *Amanita caesarea* (Yumurta mantarı), *Lycoperdon perlatum* (Puf mantarı), *Lactarius deliciosus* (Kanlıca), *Macrolepiota procera* (Şemsiye mantarı) and *Pleurotus ostreatus* (Kayın mantarı) are consumed by local people.

Seven species (*Amanita pantherina*, *Clitocybe odora*, *Hypholoma fasciculare*, *Inocybe geophylla*, *Omphalotus olearius* and *Paxillus involutus*) are also reported as poisonous in the research area but there is not any report of mushroom poisoning because the local people collect and consume only well-known edible mushrooms.

With the present study, 91 macrofungi species were determined and an important contribution to Turkish mycobiota has been made by determining the most of the macrofungi species in the boundaries of Yalova province.

Acknowledgements

Authors thank Muğla Sıtkı Koçman University Research Fund (project no: 11/61) for its financial support. Mustafa Sevindik is also thanked for his valuable contribution to prepare the map of the study area.

References

- Acar İ., Uzun Y., Demirel K., Keleş A., *Macrofungal diversity of Hani (Diyarbakır/Turkey) district*, Biological Diversity and Conservation, 8(1)28–341(2015).
- Akata I. *Macrofungal Diversity of Belgrad Forest (İstanbul)*, Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi, 17(1)150-164(2017).
- Akata I., Doğan H.H., *Orbiliaceae for Turkish Ascomycota: Three new records*, Bangladesh Journal of Botany, 44:91-95(2015).
- Akata I., Uzun Y., *Macrofungi determined in Uzungöl Nature Park (Trabzon)*, Trakya University Journal of Natural Sciences, 18(1)(DOI: 10.23902/trkjnat.295542)(2017).
- Akata I., Kabaktepe Ş., Akgül H., *Cortinarius caperatus (Pers.) Fr., A New Record For Turkish Mycobiota*, Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi, 15(1)86-89(2015).
- Akata I., Kabaktepe Ş., Akgül H., *Cordyceps militaris, The First Record From Family Cordycipitaceae in Turkey*, Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi, 16(1)280-284(2016a).



- Akata I., Kaya A., Uzun Y., *Macrofungial diversity of Zigana Mountain (Gümüşhane/Turkey)*. Biological Diversity and Conservation, 9 (2) 57-69(2016b).
- Akçay M.E., Uzun Y., *Belonidium mollissimum (Lachnaceae): Türkiye Mikotası İçin Yeni Bir Tür*, Mantar Dergisi, 7(2)118-121(2016).
- Alkan S., Kaşık G., Öztürk C., Aktaş S., *Çorum İli'nin Yenir Özellikteki Makromantarları*, Türk Tarım Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 4 (3): 131-138(2016).
- Allı H., Şen İ., Altuntaş D., *Macrofungi of İznik Province*, Commun. Fac. Sci.Univ.Ank.Series C, 25(1-2)7-24(2016).
- Anonymous., Orman Genel Müdürlüğü, Yalova Orman İşletme Müdürlüğü, Eylem Planı(2016).
- Breitenbach J., Kränzlin F., *Fungi of Switzerland, Vol: 1, Ascomycetes*. Verlag Mykologia CH-6000 Luzern 9, Switzerland(1984).
- Breitenbach J., Kränzlin F., *Fungi of Switzerland, Volume 2, Nongilled Fungi*, Verlag Mykologia CH-6000 Luzern 9, Switzerland(1986).
- Breitenbach J., Kränzlin F., *Fungi of Switzerland, Volume 3, Boletes and Agarics 1. Part*, Verlag Mykologia CH-6000 Luzern 9, Switzerland(1991).
- Breitenbach J., Kränzlin F., *Fungi of Switzerland, Volume 4, Agarics 2. Part*, Verlag Mykologia CH-6000 Luzern 9, Switzerland(1995).
- Breitenbach J., Kränzlin F., *Fungi of Switzerland, Volume 5, Agarics 3. Part*, Verlag Mykologia CH-6000 Luzern 9, Switzerland(2000).
- Calonge F.D., *Gasteromycetes, I. Lycoperdales, Nidulariales, Phallales, Sclerodermatales, Tulostomatales*. Volume 3., Real Jardin Botanico, Stuttgart(1998).
- Cannon P.F., Kirk, P.M., *Fungal families of the world*, Wallingford: CAB International(2007).
- Davis P.H., *Flora of Turkey and the east Aegean islands*. Volume 1. Edinburgh, Edinburgh University Press, Edinburgh(1965).
- Demirel K., Koçak M.Z., *Zilan Vadisi'nin (Erciş-VAN) Makrofungial Çeşitliliği*, Mantar Dergisi, 7(2):122-134(2016).
- Doğan H.H., Akata I., *New Additions to Turkish Gasteroid Fungi*, Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi, 15(2)329-333(2015).
- Doğan, H.H., Kurt, F., *New macrofungi records from Turkey and macrofungial diversity of Pozantı-Adana*, Turkish Journal of Botany, 40(2)209-217(2016).
- Doğan H.H., Öztürk C., Kaşık G., Aktaş S. A., *Checklist of Aphyllophorales of Turkey*, Pakistan journal of Botany, 37(2)459-485(2005).
- Dülger B., Akata I., *Lasiosphaeria ovina, A first record for family Lasiosphaeriaceae in Turkey*, Mantar Dergisi, 7(1)88-91(2016).
- Hansen L., Knudsen H., *Nordic Macromycetes, Volume 2, Polyporales, Boletales, Agaricales, Russulales*. Nordsvamp, Copenhagen, Denmark(1992).
- Hansen L., Knudsen H., *Nordic Macromycetes, Volume 3. Heterobasidoid, Aphyllophoroid, and Gastromycetoid Basidiomycetes*, Nordsvamp, Copenhagen, Denmark(1997).
- Hansen L., Knudsen H., *Nordic Macromycetes, Volume 1, Ascomycetes*, Nordsvamp, Copenhagen, Denmark(2000).
- Karamanoğlu, K., Öder, N., *Bursa ili ve çevresinde yetişen bazı şapkalı mantarlar*, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi mecmuası, 3(13)13-33(1973).
- Kaya A., Uzun Y., Karacan İ.H., Yakar,S. *Contributions to Turkish Pyronemataceae from Gaziantep province*. Turkish of Botany, 40: 298-307(2016).
- Kirk P.M., Cannon P.F., Minter D.W., Stalpers J.A., *Dictionary of the fungi, 10th ed.* CAB International, Wallingford, UK(2008).



- Koçyiğit M., Özhatay N., *Wild Plants Used as Medicinal Purpose in Yalova (Northwest Turkey)*, Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences, 3(2)91-103(2006).
- Kränzlin F., *Fungi of Switzerland*, Volume 6, Russulaceae 2. Verlag Mykologia, Switzerland(2005).
- Medardi G., *Ascomiceti d'Italia*, Trento: Centro Studi Micologici(2006).
- Özdemir M.A., Bahadır M., Türkiye'de Önemli Bir Seracılık Alanı: Yalova ili, Coğrafi Bilimler Dergisi, 5(1)17-36(2007).
- Öztürk C., Pamukçu D., Aktaş S., *Macrofungi of Nallıhan (Ankara) District*, Mantar Dergisi, 8(1)60-67(2017).
- Öztürk Ö., Doğan H.H., Şanda M., *Some new additions to Turkish mycobiota from Sakarya region*, Biological Diversity and Conservation, 9(1)97-100(2016).
- Pegler D.N., Roberts P.J., Spooner B.M., *British Chanterelles and Tooth Fungi*, Royal Botanic Gardens, Kiew(1997).
- Ryvarden L., Gilbertson R.L., *European Polypores*, Volume 1-2, Synopsis Fungorum 6, Fungiflora, Oslo, Norway(1993).
- Servi H., Akata I., Çetin B., *Macrofungal diversity of Bolu Abant Nature Park (Turkey)*, African Journal of Biotechnology, 9(24)3622-3628(2010).
- Sesli E., Denchev C.M., *Checklists of the myxomycetes, larger ascomycetes, and larger basidiomycetes in Turkey*, Mycotaxon, 106: 65–67(2008).
- Sesli E., Topçu Sesli A., *Türkiye için üç yeni kayıt: Chalciaporus piperatoides, Gymnopus menehune ve Lyophyllum shimeji*, Mantar Dergisi, 7(1)61-66(2016).
- Sesli E., Topçu Sesli A., *Infundibulicybe alkaliviolascens (Tricholomataceae): A New Record for the Turkish Mycota*, Mantar Dergisi, 8(1)6-12(2017).
- Sesli E., Vizzini A., *Two new Rhodocybe species (sect. Rufobrunnea, Entolomataceae) from the East Black Sea coast of Turkey*, Turkish Journal of Botany, 41:200-210(2017).
- Sesli E., Türkekul İ., Akata I., Niskanen T., *New records of Basidiomycota from Trabzon, Tokat, and İstanbul provinces in Turkey*, Turkish Journal of Botany, 40:531-545(2016).
- Solak M.H., Gücin F., *Bursa Yöresinden Türkiye için Yeni Makrofungus Türleri ve Yörede Belirlenen Diğer Makrofunguslar*, Turkish Journal of Botany, 16:335-346(1992).
- Taşkın H., Doğan H.H., Büyükalaca S., Clowez P., Moreu P.A., O'Donnell K., *Four new morel (Morchella) species in the elata subclade (M. sect. Distantes) from Turkey*, Mycotaxon, 131:467-482(2016).
- Vizzini A., Baroni T.J., Sesli E., Antonin V., Saar, I., *Rhodocybe tugrulii (Agaricales, Entolomataceae), a new species from Turkey and Estonia based on morphological and molecular data, and a new combination in Clitocella (Entolomataceae)*, Phytotaxa, 267(1)001–015(2016).
- Url. 1: <http://www.yalovakulturturizm.gov.tr/en/yalova/geographical-structure-and-climate>.
- Url. 2: <http://www.indexfungorum.org>. (accessed: 25 December 2016).
- Uzun Y., Acar İ., Akçay M.E., Kaya A., *Contributions to the macrofungi of Bingöl, Turkey*, Turkish Journal of Botany, 41:516-541(2017).



***Entoloma majaloides* (Entolomataceae): Türkiye Mikotası İçin Yeni Bir Kayıt**

Ertuğrul SESLİ^{1*}, Ayşegül TOPCU SESLİ²

¹Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fatih Eğitim Fakültesi,
Biyoloji Eğitimi Ana Bilim Dalı, Trabzon, Türkiye

²İMKB Mesleki ve Teknik Anadolu Lisesi,
Yenicuma Mah., Adres Sokak, Ortahisar, Trabzon, Türkiye

Öz: *Entoloma majaloides* Türkiye'den ilk kez rapor edilmiş olup, arazi ve mikroskopik resimleri ile desteklenip kısa bir tartışma ile birlikte sunulmuştur.

Anahtar kelimeler: *Entoloma majaloides*, Trabzon, Türkiye, Yeni kayıt.

***Entoloma majaloides* (Entolomataceae): A New Record for the Turkish Mycota**

Abstract: *Entoloma majaloides* was reported for the first time from Turkey, supported with field and microscopical images and was presented with a short discussion.

Key words: *Entoloma majaloides*, Trabzon, Turkey, New record.

Giriş

Entoloma Fr. ex P.Kumm., genellikle toprak üzerinde yetişen pembe sporlu mantarların oluşturduğu binden fazla tür içeren oldukça büyük bir cinstir (Kirk ve Ark., 2008). Grup üyelerinin früktofikasyon organları çok çeşitlidir. Şapka konik, küremsi, içbükey veya nispeten düz; çeşitli renklerde; yüzeyi genellikle çizgili, az veya çok lifli, pullu, tozlu, damarlı veya düz olup üzerinde tepe şeklinde merkezi bir çıkıntı veya zıt yönde içe doğru sığ veya derin bir çukurluk bulunur. Lameller serbest, sapa kısa bir bölgede birleşik veya sap üzerine yayılmış; farklı sıklıkta ve çok çeşitli renklerde olabilir. Sap genellikle uzunlamasına lifli, pullu, tozlu, parlak ve çeşitli renklerde; bazı türlerde merkezde, kısmen merkez dışında veya yanal olabilir. Bazidiyumlar genellikle 4 sporlu; sistityumlar sadece bazı türlerde mevcuttur. Sporlar köşeli ve genellikle kalın çeperlidir. Grup üyeleri çürükçül veya mikorizal, ender olarak da parazit yaşar

(Noordeloos, 1992; Knudsen ve Vesterholt, 2008).

Son yıllarda Türkiye mikotasının belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen çalışmalarda çeşitli yeni kayıtlar saptanmıştır (Kaşık ve Ark., 2013; Akata ve Ark., 2014; Akata ve Ark., 2016; Doğan ve Kurt, 2016). Çalışmanın amacı; bazidiyokarpları Türkiye'den ilk kez toplanan *E. majaloides* P.D.Orton (*Domuz içkenarı*) mantarını tanıtmaktır.

Materyal ve Metot

Bazidiyokarplar 2016 yılı Ekim ayında Trabzon-Hıdırnebi Yaylası'nda gerçekleştirilen arazi çalışmaları sırasında toplanmıştır. Arazide saptanan bazidiyokarpların öncelikle fotoğrafları çekilmiş, yakınında bulunan bitki türleri not edildikten sonra toplanarak laboratuvara getirilmiştir



Şekil 1. *Entoloma majaloides*: a-b= Bazidiyokarplar (ölçek çubukları: a= 50 mm, b= 25 mm).



Spor izleri alındıktan sonra kurutularak fungaryum dolabına yerleştirilen bazidiyokarplardan daha sonra kesitler alınarak bazidiyum ve hifal yapıları görüntülenmiştir. İncelemelerde Kongo kırmızısı, amonyak ve saf su kullanılmıştır. Sporlar sıkma yöntemi veya doğrudan spor izinden alınan numunelerin incelenmesi ile görüntülenmiştir. Görüntüleme işlemlerinde Zeiss Axio Imager araştırma mikroskobu; ölçümlerin yapılmasında ise Zeiss Axiocam marka kamera ile birlikte Zen 2 (mavi versiyon) yazılım programı kullanılmıştır.

Bulgular

Entolomataceae Kotl. & Pouzar 1972.

Entoloma Fr. ex P.Kumm., Führ. Pilzk.: 23 (1871). / *İçkenar*.

E. majaloides P.D.Orton, Trans. Br. Mycol. Soc. 43(2): 230 (1960) (Şekil 1, 2). / *Domuz içkenarı*. [Sin.: *Rhodophyllus majaloides* (P.D.Orton) M.M.Moser, Kl. Krypt.Fl., Edn 3(2): 156 (1967)., *Entoloma sericatum* var. *majaloides* (P.D.Orton) Krieglst., Die Großpilze Baden-Württembergs, 4. Ständerpilze: Blätterpilze 2: 443 (2003).]

Teşhis: Şapkası koyu bal veya açık kahverengi, sapı beyaz ve eğri, lamelleri geniş ve soluk pembe, eti ince ve tatlı, kokusu belirgin olmayan, tabanda beyaz miselleri bulunan, gevşek yapılı ve genellikle nemli ortamlarda yayılış gösteren bir mantardır.

Şapka: 20–60 mm; genç iken koni veya yarı küre biçiminde, zamanla daha düz olup ortasında yukarıya doğru yayvan tepe şeklinde bir çıkıntı bulunur. Fazlaca muntazam olmayıp, yer yer kenarları yırtık veya dalgalı ve yüzeyi olukludur. Tepesi ile kenarı arasında yarıçapın yarısına kadar uzanan saydam ve ışınal çizgiler bulunur. Soluk kahverengi veya sarımsı kahverengiden bal rengine kadar değişmekle birlikte merkeze doğru daha koyu ve kenarlara doğru daha açık renklidir.

Lameller: Nispeten seyrek, genç iken beyaz, zamanla hafif pembemsi, kenarları hemen hemen düz, geniş fakat; sapa bağlanma yerinde daralmıştır. Olgun lamellerin sayısı 35–45 arasında, iki olgun lamel arasındaki

olgunlaşmamış olanların sayısı ise 1–4 civarındadır. Şapka eti ince, gri, bej veya soluk kahverengidir.

Sap: 30–60 × 5–10 mm, silindir görünümünde fakat; tepeden tabana doğru gittikçe inceliyor ve genellikle eğridir. Yüzeyi beyaz, uzunluğuna lifli, az veya çok tozlu görünümündedir. Genç iken içi dolu zamanla boştur. Tabanında beyaz miselyum bulunur ve dokunma ile hafifçe sararma görülebilir.

Bazidiyosporlar: 5–7 açılı, saydam, 8–10 × 7.5–9 µm; spor izi pembemsidir.

Bazidiyumlar: 40–50 × 11.5–14 µm, çomak şeklinde, şeffaf, tanecikli ve 4 sporludur. Lamel hifleri düzenli ve bazıları kancalı olup sistityum izlenmemiştir.

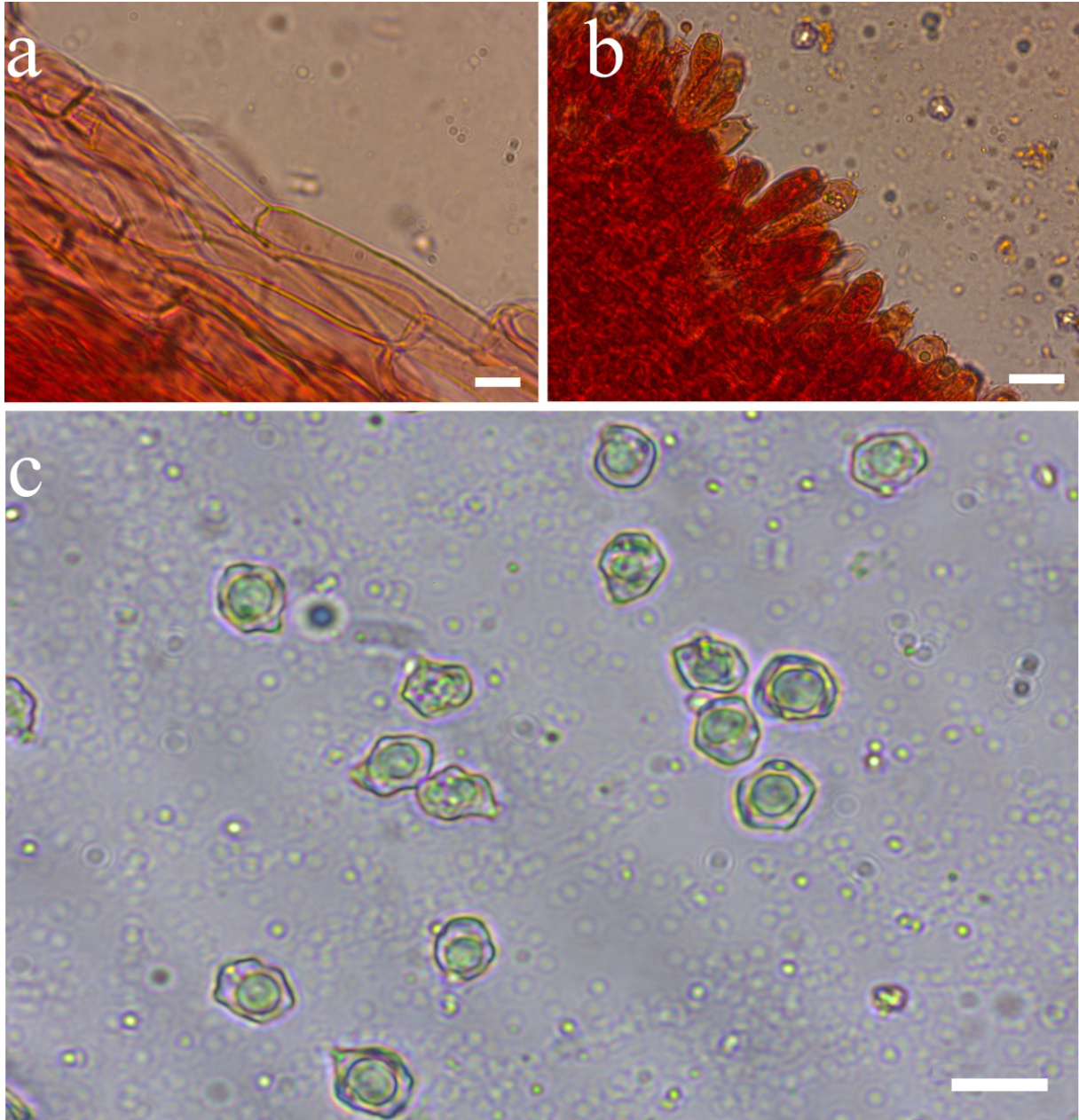
Türkçe İsim Etimolojisi: “*Entoloma*” cinsine verilen “*İçkenar*” ve “*E. majaloides*” türüne verilen “*Domuz içkenarı*” adları, Latince isimlerinden esinlenilerek türetilmiştir.

İncelenen materyal: Trabzon, Hıdırnebi Yaylası, 40°57'34.17"K, 39°25'31.93"D, 1459 m, 01 Ekim 2016; gruplar halinde ladin (*Picea orientalis* L.) altında, Fatih Eğitim Fakültesi Kişisel Fungaryumu 3792.

Tartışma

Bu çalışmada *E. majaloides* P.D.Orton (*Domuz içkenarı*) Türkiye için yeni kayıt olarak belirlenmiştir (Sesli ve Denchev, 2008). Çalışmada saptanan makroskobik ve mikroskobik veriler, mevcut literatürlerle yüksek düzeyde benzerlik göstermiştir (Noordeloos, 1992; Breitenbach ve Kränzlin, 1991). Yeni kayıt kendine özgü morfolojisi ile kolayca teşhis edilebilen bir *Entoloma* türüdür.

E. majaloides P.D.Orton (*Domuz içkenarı*)'nın benzerlik gösterdiği türlerden birisi *E. rhodopolium* (Fr.) P.Kumm. olmakla birlikte, bu türün bazidiyosporları daha farklı ölçülerde (6.5–9.5 × 5.5–7.8 µm) ve şapkası çok daha açık renklidir. Nispeten benzer olan diğer bir tür (*E. sericatum* (Britz.) Sacc.) narin yapısı, oldukça küçük şapkası (8–20 mm) ve ince yapılı sapı (1–3 mm) ile yeni kayıttan kolaylıkla ayırt edilebilir.



Şekil 2. *Entoloma majaloides*: a. şapka derisi hipleri, b. bazidiyumlar, c. bazidiyosporlar (ölçek çubukları: a-c= 10 µm, b= 20 µm).

Kısmen benzerlik gösteren *Entocybe turbida* (Fr.) T.J.Baroni, V.Hofst. & Largent'nin bazidiyosporları daha küçük ($6.5-8.2 \times 5.8-7.5$ µm) ve şapkası daha koyu gri-kahverengidir (Noordeloos, 1992; Breitenbach ve Kränzlin, 1991).

Teşekkür

Bu araştırmanın finansmanı Karadeniz Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'nce (BAP No: 11300) sağlanmıştır.



Kaynaklar

- Akata I., Kaya A., Uzun Y., *Two new Lachnum records for Turkish Mycobiota*, Journal of Applied Biological Sciences, 8: 28–30 (2014).
- Akata I., Kaya A., Uzun Y., *Two new genus records for Turkish Helotiales*, Kastamonu Univ. Journal of Forestry Faculty, 16: 131–134 (2016).
- Breitenbach J.; Kränzlin, F., *Fungi of Switzerland 4: Agarics, 2nd Part*. p. 64. ISBN 3-85604-240-7 (1991).
- Doğan H.H., Kurt F., *New macrofungi records from Turkey and macrofungal diversity of Pozanti-Adana*, Turkish Journal of Botany, 40: 209–217 (2016).
- Kaşık G., Öztürk C., Aktaş S., Alkan S., Eroğlu G., *Kefe Yaylası (Denizli) yenen mantarları*, Mantar Dergisi, 4: 19–27 (2013).
- Kirk P.M, Cannon P.F, Minter D.W, Stalpers J.A., *Dictionary of the Fungi* (10th ed.). Wallingford: CABI. p. 237. ISBN 0-85199-826-7 (2008).
- Knudsen H., Vesterholt J., *Funga Nordica: Agaricoid, Boletoid and Cyphelloid Genera*. Narayana Press, Copenhagen (2008).
- Noordeloos M.E., *Fungi Europaei: Entoloma* (in Italian). Saronno, Italy: Giovanna Biella. p. 13 (1992).
- Sesli E., Denchev C.M., *Checklists of the myxomycetes, larger ascomycetes, and larger basidiomycetes in Turkey*, Mycotaxon, 106: 65–67 (2008). Up-dated online version (February 2014): 1–136. <http://www.mycotaxon.com/resources/checklists/sesli-v106-checklist.pdf>.
- Sesli, E., Topcu Sesli, A., *Infundibulicybe alkaliviolascens (Tricholomataceae): Türkiye mikotası için yeni bir kayıt*. Mantar Dergisi, 8: 6-12 (2017).



Kültüre Alınmış *Lentinula edodes*'in Metanol Ekstraktının Antioksidan ve *In Vitro* Bazı Enzim İnhibitör Aktiviteleri

Sinan ALKAN¹, Haluk ÖZPARLAK^{2*},
Gökhan ZENGİN², Gıyasettin KAŞIK¹

¹Selçuk Üniversitesi, Mantarcılık Uygulama ve Araştırma Merkezi Müd., Konya, Türkiye.

²Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Konya, Türkiye.

Öz: Shiitake mantarı adıyla da bilinen *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler Doğu Asya'ya özgü yenilebilir bir mantar olup antioksidan ve antimikrobiyal özellikleriyle tedavi edici etkiler içermektedir. Bu çalışmanın ilk kısmı Türkiye'deki kültür *L. edodes*'in metanolik ekstraktının antioksidan aktivitesini ayrıca total fenolik ve flavonoid içeriğini ilk kez tespit etmeyi amaçladı. Çalışmanın ikinci kısmında, bu mantar ekstraktının kolinesteraz, tirozinaz, amilaz ve glukozidaza karşı enzim inhibitör potansiyelleri araştırıldı. Bu çalışmada rutin çalışmalardan farklı olarak ultrasonik ekstraksiyon yöntemi kullanıldı. Ekstrakttaki total fenolik ve flavonoid içerikleri de Folin-Ciocalteu ve AlCl₃ yöntemleriyle tespit edildi. Antioksidan aktiviteleri serbest radikal süpürme (DPPH ve ABTS), indirgeme gücü (FRAP ve CUPRAC), fosfomolibdat ve metal şelatlama testleri gibi farklı yöntemlerle araştırıldı. *In vitro* enzim inhibitör potansiyelleri bir mikroplate okuyucuyla ölçüldü. Bu çalışmada flavonoid içerik ve tirozinaz enzim inhibisyonu tespit edilemedi. Ayrıca *L. edodes* ekstraktının antioksidan aktivitesi ve enzim inhibisyonu verilerinin özellikle, popüler ve etkili bir başka tıbbi mantar olan *Ganoderma lucidum*'un ekstraktından elde edilen verilerden daha düşük olduğu dikkat çekti.

Anahtar kelimeler: Antioksidan, kültür *Lentinula edodes*, enzim inhibisyonu.

Antioxidant and *In Vitro* Some Enzyme Inhibitory Activities of Methanolic Extract of Cultivated *Lentinula edodes*

Abstract: *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler, as called Shiitake mushroom, is an edible fungus native to East Asia and contains several therapeutic actions such as antioxidant and antimicrobial properties. The first part of this work aimed to evaluate the antioxidant activity of methanolic extract of cultivated *L. edodes* in Turkey for the first time, as well as to measure the content of total phenolic and flavonoid compounds of mushroom extract. In the second part of this work, the enzyme inhibitory potentials of this mushroom extract were investigated against cholinesterase, tyrosinase, amylase and glucosidase. In this study, ultrasonication assisted extraction method was used in contrast to routine methods. Total phenolics and flavonoids contents in the extract were determined by Folin-Ciocalteu and AlCl₃ assays. Antioxidant activities were investigated by using different assays, including free radical scavenging assays (DPPH and ABTS) reducing power (FRAP and CUPRAC), phosphomolybdenum and metal chelating assays. The *in vitro* enzyme inhibitory potentials were measured with a microplate reader. Flavonoid content and tyrosinase enzyme inhibition could not be detected in the present study. It has been noted especially that the antioxidant activity and enzyme inhibition data of the *L. edodes* extract were lower than those of the *Ganoderma lucidum*, another popular and effective medical mushroom.

Key words: Antioxidant, cultivated *Lentinula edodes*, enzyme inhibition.



Giriş

Doğal ve kültürü yapılan makrofunguslar tüm dünyada olduğu gibi Türkiye'de de başta gıda olmak üzere yoğun bir şekilde tüketilmektedir. Besin değerlerinin yanı sıra makrofunguslar antimikrobiyal, antioksidan, antikanserijen ve immünostimülan gibi biyolojik etkilere sahiptirler. Makrofungusların geniş bir biyolojik aktivite yelpazesine sahip olmaları özellikle ilaçlara alternatif olma yolunda önemlerini her geçen gün daha da artırmaktadır. *Ganoderma*, *Pleurotus*, *Lactarius*, *Auricularia*, *Hericium* ve *Lentinula* gibi cinslere ait bazı mantar türleri sahip oldukları biyolojik aktiviteleriyle tıbbi açıdan dikkat çekmektedirler (Üstün, 2011). Shiitake mantarı olarak da adlandırılan *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler, dünyada kültürü yapılan mantar üretiminin %10'unu oluşturmaktadır. Başta Uzakdoğu ülkeleri olmak üzere Asya, Avrupa ve Amerika'da üretimi artmakta olan Shiitake mantarı taze ve kurutulmuş olarak tüketilmektedir. Protein, vitamin ve mineral maddeler bakımından oldukça zengin olması yanı sıra bünyesinde bulunan Lentinan maddesinin bir kanser tedavisinde olumlu sonuç vermiş olması sebebiyle tıp alanında kullanılması *L. edodes*'e olan ilgiyi artırmaktadır (Özçelik ve Pekşen, 2006).

Günümüzde serbest radikallerin nükleik asit, lipid, protein ve karbohidratlarla etkileşerek doku ve hücre hasarının ortaya çıkmasında önemli rol oynadığı, ayrıca pek çok kanser türüne, kardiyovasküler hastalıklara, dejeneratif ve kronik hastalıkların gelişmesine sebep olduğu bilinmektedir (Aruoma, 1996; Hou ve ark., 2003). Organizmada serbest radikalleri veya bunların zararlı etkilerini gideren enzimatik savunma sistemleri vardır. Ancak insanlar günlük hayatta dengesiz beslenme, ilaç kullanımı, stres, sigara kullanımı, UV ışınları ve çevre kirliliği gibi çeşitli faktörlere maruz kaldıkları için bu savuma sisteminin çalışması bozulmakta, bunun sonucunda organizmada serbest radikallerin birikimi ve zararlı etkilerinin ortaya çıkması söz konusu olmaktadır. Bundan dolayı antioksidan olarak nitelendirilen bileşiklerin insanlar tarafından diyetle alınmaları

oldukça önem kazanmaktadır. Çünkü antioksidanlar serbest radikalleri çeşitli mekanizmalarla (toplayıcı, bastırıcı ve zincir kırıcı etkilerle) etkisiz hale getirirler veya serbest radikallerin oluşturdukları hasarları onarırlar (Halliwell, 1994; Shahidi, 1996).

Enzim inhibisyonu teorisi günümüzde pek çok sağlık probleminin tedavisinde en çok kabul gören stratejilerden birisidir. Bu teori hastalık belirtilerinin hafifletilmesi için anahtar enzimleri inhibe etme temeline dayandığından çok sayıda enzim inhibitörü olan sentetik ilaç üretilmektedir. Ancak bu ilaçların etkinliklerinin sınırlı olması ve yan etkileri olması gibi olumsuz yönleri doğal enzim inhibitörlerinin önemini artırmaktadır. Asetilkolinesteraz (AChE) ve bütirikolinesteraz (BChE) Alzheimer hastalığıyla, α -amilaz ve α -glukozidaz diyabetle ve tirozinaz ise deri hastalıklarıyla ilişkili enzimlerdir ve bu hastalıkların tedavisinde bu enzimleri inhibe eden sentetik inhibitörler kullanılmaktadır. Bununla birlikte sentetik olanların yerine kullanılacak doğal inhibitörlerin tespit edilmesine yönelik çalışmalar her geçen gün daha çok popüler olmaktadır (Melzer, 1998; Tocco ve ark., 2009; Tundis ve ark. 2010).

Bu çalışmada Türkiye'de doğal yayılış göstermeyen bununla birlikte son yıllarda ülkemizde kültür yetiştiriciliğiyle gündeme gelen *L. edodes*'in kültür formundan ultrasonik ekstraksiyon yöntemiyle hazırlanan metanolik ekstraktının antioksidan özelliklerinin ortaya konması yanı sıra bazı enzim (AChE, BChE, tirozinaz, α -amilaz ve α -glukozidaz) inhibitör özelliklerinin ilk kez belirlenmesi amaçlandı.

Materyal ve Metot

Mantar materyali ve ekstraktların hazırlanması

Kültür *L. edodes* örnekleri (Şekil 1) Selçuk Üniversitesi Mantarcılık Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğü'ndeki kültür ortamından elde edildi ve laboratuarda özel kurutma dolaplarında 40-45°C'de kurutularak değirmende toz haline getirildi. Bu çalışmada rutin yöntemlerin aksine ultrasonik ekstraksiyon yöntemi kullanıldı.



):



Şekil 1. *Lentinula edodes*'in kültür ortamındaki görünümü

Metanolik ekstraktın hazırlanması için 20 mL metanol içerisindeki kurutulmuş 10 g mantar örneği 60 dk süreyle 30°C'lik bir sonikatör banyoda (WiseClean, WUC-D06H) bekletildi. Daha sonra 40°C'de rotary evaporatörde metanol uzaklaştırıldı ve elde edilen ekstrakt analize kadar +4°C'de saklandı.

Toplam Fenolik Madde Tayini

Mantar ekstraktından (2 mg/mL) 250 µL bir deney tüpüne alındı ve ardından 1mL Folin-Ciocalteu reaktifi (1:9 oranında seyreltilerek) eklendi. Daha sonra 750 µL %1'lik Na₂CO₃ çözeltisinden ilave edildi. Bu karışım karanlıkta ve oda sıcaklığında 2 saat bekletildikten sonra 765 nm'de absorbanı ölçüldü (Shimadzu UV-1800). Tüm işlemler standart olarak kullanılan gallik asit için de gerçekleştirildi. Mantar örneğinin fenolik madde içeriği g ekstraktta gallik asit eş değeri (mgGAE/g) olarak sunuldu (Zengin ve ark., 2015; Özparlak ve ark., 2016a).

Toplam flavonoid madde tayini

Mantar ekstraktından (1 mg/mL) 1 mL deney tüpüne konuldu ve ardından 1mL metanolik AlCl₃ çözeltisi eklendi. 10 dakika bekledikten sonra 415 nm'de karışımın köre karşı absorbanı belirlendi. Tüm işlemler standart flavonoid olan rutin için de yapılarak rutine ait kalibrasyon eğrisi çizildi. Mantar örneğinin toplam flavonoid madde içeriği g

ekstraktta rutin eş değeri (mgRE/g) olarak sunuldu (Zengin ve ark., 2015; Özparlak ve ark., 2016a).

DPPH radikal giderme (süpürme) aktivitesinin belirlenmesi

Metanolik DPPH çözeltisi %0.004'lük olacak şekilde hazırlandı, ardından mantar ekstraktının 1 mL'si hazırlanan DPPH çözeltisinin 4 mL'siyle karıştırıldı. Tüpün ağzı kapatılıp iyice karıştırıldıktan sonra karanlıkta ve oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi. Ardından absorbanı 517 nm'de okundu. Aynı işlemler troluks için de gerçekleştirildi ve mantar örneğinin DPPH radikalini giderme (süpürme) aktiviteleri g ekstraktta troluks eş değeri (mgTE/g) olarak sunuldu (Zengin ve ark., 2015; Özparlak ve ark., 2016a).

ABTS radikal giderme aktivitesinin belirlenmesi

Bu metotta ABTS⁺ radikal katyonu, 7.4 mM ABTS solüsyonu ile 2.45 mM potasyum persülfatın reaksiyona girmesiyle direk olarak üretildi. Bu karışım 12-16 saat karanlıkta bekletilerek aktif radikal oluşması sağlandı. Analizden önce ABTS solüsyonunun 734 nm'de absorbanı 0.700±0.02 olacak şekilde metanolla seyreltilti. Mantar ekstraktından 1 mL alınarak 2 mL ABTS solüsyonuyla karıştırıldı. Kapalı tüp oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi ardından absorbanı 734 nm'de okundu. Aynı işlemler troluks içinde gerçekleştirildi ve ekstraktın ABTS katyon radikalini süpürme aktivitesi troluks eş değeri (mgTE/g) olarak sunuldu (Zengin ve ark., 2015; Özparlak ve ark., 2016a).

FRAP testi

Bu test için öncelikle 0.3 M pH'sı 3.6 olan asetat tamponu, 10 mM TPTZ ve 20 mM FeCl₃'ün 10:1:1 oranında karıştırılmasıyla FRAP reaktifi hazırlandı. Mantar ekstraktının 0.1 mL'si hazırlanan FRAP reaktifinin 2 mL'siyle karıştırılarak, oda sıcaklığında 30 dakika inkübasyona bırakıldı. Bu karışımın absorbanı 593 nm'de okundu ve sonuçlar g ekstraktta troluks eşdeğeri (mgTE/g) olarak sunuldu (Zengin ve ark., 2015; Özparlak ve ark., 2016a).



):

CUPRAC testi

Mantar ekstraktından 0.5 mL alınarak üzerine 1 mL $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (10 mM), 1 mL amonyum asetat (1 M; pH:7) ve 1 mL neokuproin (7.5 mM) çözeltileri konuldu. Ağızı kapalı bir biçimde karanlıkta ve oda sıcaklığında 30 dakika bekletilerek ardından absorbansları 450 nm'de okundu. Sonuçlar g ekstraktta troloks eşdeğer (mgTE/g) olarak sunuldu (Zengin ve ark., 2015; Özparlak ve ark., 2016a).

Fosfomolibdat testi

2 mg/mL konsantrasyonunda mantar ekstraktından 0.3 mL bir tüpe alınarak, bunun üzerine reaktif çözeltilisinden (0.6 M H_2SO_4 , 28 mM $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ve 4 mM amonyum molibdat) 3 mL eklendi. İyice karıştırılan tüp 95°C 'de 90 dakika inkübe edildi ve ardından çözeltilerin absorbansı 695 nm'de okundu. Tüm işlemler standart antioksidan olarak kullanılan troloks için de uygulandı. Antioksidan aktivite g ekstraktta troloks eşdeğeri (mmolTE/g) olarak sunuldu (Zengin ve ark., 2015; Özparlak ve ark., 2016a).

Metal şelatlama aktivitesi

Mantar ekstraktının Fe^{2+} iyonlarını şelatlama kapasitelerini belirlemek için önce içerisinde 2 mL ekstrakt (1 mg/mL) bulunan deney tüpüne 2 mM 0.05 mL FeCl_2 çözeltilisi ilave edildi. Reaksiyon 0.2 mL 5 mM ferrozin ilavesiyle başlatıldı, tüpler karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 10 dakika inkübasyona bırakıldı ve ardından 562 nm'de absorbans ölçümü gerçekleştirildi. Tüm işlemler şelatlayıcı ajan olan EDTA içinde uygulandı. Sonuçlar g ekstraktta EDTA eş değeri (mgEDTA/g) olarak sunuldu (Zengin ve ark., 2015; Özparlak ve ark., 2016a).

Antikolinesteraz aktivitesi

Kolinesteraz inhibitör aktivite 96 kuyucuklu mikropate kullanılarak ölçüldü. Mikropate kuyucuklarına 2 mg/mL konsantrasyondaki 50 μL mantar ekstraktı, 125 μL DTNB [5,5-Dithio-bis(2-nitrobenzoik) asit], 25 μL Tris-HCl tamponunda (pH=8.0) hazırlanan AChE veya BChE enzim çözeltilisi ilave edildi. Ardından karışım oda sıcaklığında 15 dakika bekletilerek 25 μL asetiltiyokolin iyodür (ATCI) veya

butiriltiyokolin iyodür (BTCl) eklendi. Aynı şekilde, AChE veya BChE enzim çözeltilisi olmadan hazırlanan reaksiyon reaktiflerine örnek çözeltilisi ilave edilerek kör hazırlandı. Oda sıcaklığında 10 dakika süreyle inkübe edildikten sonra örneklerin ve körlerin absorbansları mikropate okuyucuda 405 nm'de kaydedildi. Körlerin absorbansları örneklerden çıkarılarak gerçek absorbanslara ulaşıldı. Kolinesteraz inhibitör aktiviteleri g ekstraktta galantamine eşdeğer (mgGALAE/g) olarak sunuldu (Zengin ve ark., 2015; Özparlak ve ark., 2016b).

Antitirozinaz aktivitesi

Bu çalışmada tirozinaz inhibitör aktivite L-DOPA'nın substrat olarak kullanıldığı dopachrome yöntemiyle belirlenmeye çalışıldı. Mikropate kuyucuklarına 2 mg/mL konsantrasyondaki 25 μL mantar ekstraktı, 40 μL tirozinaz çözeltilisi ve 100 μL fosfat tamponu (pH=6.8) ilave edildi. Bu karışım 15 dakika süreyle 25°C 'de bekletildikten sonra 40 μL L-DOPA eklendi. Aynı şekilde, tirozinaz enzim çözeltilisi olmadan hazırlanmış reaksiyon reaktiflerine örnek çözeltilisi eklenerek kör hazırlandı. Örneklerin ve körlerin absorbansları 10 dakika oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra mikropate okuyucuda 492 nm'de kaydedildi. Körlerin absorbansları örneklerden çıkarılarak gerçek absorbanslara ulaşıldı. Tirozinaz inhibitör aktiviteleri g ekstraktta kojik asite eşdeğer (mgKAE/g) olarak sunuldu (Zengin ve ark., 2015; Özparlak ve ark., 2016b).

Antiglukozidaz aktivitesi

α -glukozidaz inhibitör aktivitenin belirlenmesi için mikropate kuyucuklarına 2 mg/mL konsantrasyondaki 50 μL mantar ekstraktı, 50 μL glutasyon, fosfat tamponunda çözülmüş 50 μL α -glukozidaz çözeltilisi ile 50 μL PNPG (4-p-nitrofenil- α -D-glukopiranozid) ilave edilerek 10 dakika süreyle 37°C 'de inkübe edildi. Aynı şekilde, α -glukozidaz enzim çözeltilisi konmadan hazırlanmış reaksiyon reaktiflerine örnek çözeltilisi eklenerek kör hazırlandı. Reaksiyon 0.2 M 50 μL sodyum karbonat ilavesiyle tamamlandı.



Örneklerin ve körlerin absorbanları mikrolate okuyucuda 400 nm'de kaydedildi ve körlerin absorbanları örneklerden çıkarılarak gerçek absorbanlara ulaşıldı. α -glukozidaz inhibitör aktiviteleri g ekstrakta akarboza eşdeğer (mmolAKAE/g) olarak sunuldu (Zengin ve ark., 2015; Özparlak ve ark., 2016b).

Antiamilaz aktivitesi

Bu çalışmada α -amilaz inhibitör aktivite Caraway-Somogyi iyot/potasyum iyodür (IKI) yöntemiyle belirlendi. Mikrolate kuyucuklarına 2 mg/mL konsantrasyondaki 25 μ L mantar ekstraktı ve fosfat tamponunda (pH=6.9 ve 6 mM sodyum klorür) hazırlanmış 50 μ L α -amilaz çözeltisi eklenerek, 10 dakika süreyle 37°C'de inkübe edildi. Ardından bu örnekler %0.05'lik 50 μ L nişasta çözeltisi eklendi. Aynı şekilde, α -amilaz enzim çözeltisi olmadan hazırlanmış reaksiyon reaktiflerine örnek çözeltisi ilave edilerek kör hazırlandı ve karışım 10 dakika süreyle 37°C'de inkübe edildi. 1 M 25 μ L HCl eklenerek reaksiyon durduruldu ve ardından 100 μ L iyot-potasyum iyodür çözeltisi ilave edildi. Örneklerin ve körlerin absorbanları mikrolate okuyucuda 630 nm'de kaydedildi ve körlerin absorbanları örneklerden çıkarılarak gerçek absorbanlara ulaşıldı. α -amilaz inhibitör aktiviteleri g ekstrakta akarboza eşdeğer (mmolAKAE/g) olarak sunuldu (Zengin ve ark., 2015; Özparlak ve ark., 2016b).

Bulgular ve Tartışma

Antioksidan kapasiteyi tamamıyla ortaya koyan tek bir metot henüz geliştirilememiş olmasından dolayı birden fazla metot kullanılarak antioksidan tablonun tümüyle yorumlanması daha doğru olacaktır. Bu sebeple bu çalışmada da *L. edodes*'in kültür formundan elde edilen metanolik ekstraktın antioksidan özellikleri farklı antioksidan test sistemleri kullanılarak belirlenmeye çalışılmıştır. Ayrıca, ekstraktların toplam fenolik ve flavonoid içerikleri de araştırılmıştır. Ancak bu çalışmada *L. edodes*'de flavonoid içerik tespit edilmemiştir. Benzer şekilde, Gil-Ramirez ve ark. (2016) mantarlarda flavonoidlerin bulunamayacağını rapor etmişlerdir. Fenolik bileşikler, antimikrobiyal, antikanser

ve antioksidan aktivite gibi oldukça geniş bir sahada biyolojik potansiyele sahip olmaları sebebiyle oldukça ilgi çeken bir bileşik grubudur. *L. edodes* ekstraktının toplam fenolik içeriği spektrofotometrik Folin metoduyla tespit edilmiştir (Tablo 1). Bununla birlikte *L. edodes*'in toplam fenolik içeriğini, günümüzde oldukça popüler ve etkili bir başka tıbbi mantar olan *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst'ın Türkiye'deki yabani ve kültür formlarının sulu ekstraktından elde edilen fenolik içeriğiyle (Özparlak ve ark., 2016a) karşılaştırdığımızda *L. edodes*'in daha düşük içeriğe sahip olduğu görülmektedir (Tablo 1).

Genellikle antioksidan kapasite çalışmalarında en az bir radikal kullanılarak incelenen ekstraktın bu radikali hangi seviyede giderdiği tespit edilmeye çalışılmaktadır. En çok kullanılan radikaller DPPH ve ABTS radikalleridir. DPPH stabil bir radikaldir ve metanolik çözeltisi mor renklidir. Antioksidan maddelerin bu radikale elektron veya hidrojen aktarmalarıyla mor renk sarı renge dönüşmektedir. Bu renk değişimi 517 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülmektedir. ABTS radikali ise potasyum persülfatla reaksiyona girerek 12-16 saat sonra aktif hale gelmekte ve radikalin koyu mavi rengi antioksidan maddelerin etkisiyle açılmaktadır. *L. edodes* ekstraktının bu iki metoda göre radikal giderme etkinliği Tablo 1'de verilmiştir ve görülebileceği gibi bu etkinlikler *G. lucidum*'dan elde edilen değerlerden (Özparlak ve ark., 2016a) oldukça düşüktür. Bu durum *L. edodes* ekstraktındaki fenolik bileşik miktarının düşük olması ile açıklanabilir ve çeşitli araştırmacılar da benzer şekilde fenolik bileşik düzeyi ile serbest radikal giderme arasında güçlü bir ilişkinin varlığını rapor etmişlerdir (Chen ve ark., 2017; Zhang ve ark., 2017).

İndirgeme gücü antioksidan kapasitenin ölçülmesinde önemli bir parametredir ve antioksidan bileşiklerin elektron verme yeteneğini gösterir. Bu çalışmada CUPRAC ve FRAP testleri uygulanmıştır. CUPRAC testi antioksidan bileşiklerin Cu^{2+} -neokuproin kompleksini Cu^{+} 'e indirgemesine ve 450 nm'de bu değişimin ölçülmesi prensibine dayanır.



Tablo 1. *Lentinula edodes*'in metanol ekstraktının antioksidan aktivitesi ve *Ganoderma lucidum*'dan daha önce elde edilen sonuçlar ile karşılaştırılması

| Parametreler | <i>Lentinula edodes</i> | <i>Ganoderma lucidum</i> (Kültür) ^a | <i>Ganoderma lucidum</i> (Yabani) ^a |
|--|-------------------------|--|--|
| Toplam fenolik içerik (mgGAE/g ekstrakt) | 5.25±0.35 * | 21.22±0.17 | 25.58±0.15 |
| Toplam flavonoid içerik (mgRE/g ekstrakt) | ** | 0.78±0.14 | 0.67±0.13 |
| DPPH radikal giderme aktivitesi (mgTE/g ekstrakt) | 7.43±0.29 | 16.10±0.84 | 17.67±0.06 |
| ABTS radikal giderme aktivitesi (mgTE/g ekstrakt) | 30.88±2.26 | 75.39±0.61 | 83.44±0.23 |
| FRAP aktivitesi (mgTE/g ekstrakt) | 6.47±0.11 | 38.15±0.59 | 46.55±0.45 |
| CUPRAC aktivitesi (mgTE/g ekstrakt) | 16.51±0.75 | 59.91±0.77 | 78.02±0.69 |
| Fosfomolibdat aktivitesi (mmolTE/g ekstrakt) | 0.43±0.03 | 0.41±0.06 | 0.46±0.10 |
| Metal şelatlama aktivitesi (mgEDTAE/g ekstrakt) | 6.35±0.20 | 8.02±0.05 | 14.45±0.15 |

*Üç paralel ölçümün ortalaması±standart sapma.

**Ölçülebilir flavonoid içerik tespit edilememiştir.

GAE: gallik asit eşdeğeri; RE: rutin eşdeğeri; TE: trolox eşdeğeri; EDTAE: EDTA eşdeğeri.

^aÖzparlak ve ark. (2016a)'na göre

FRAP testinde ise Fe⁺³-TPTZ kompleksinin Fe⁺²'ye indirgenmesi ve bunun 595 nm'de spektrofotometrik ölçümü söz konusudur. *L. edodes* ekstraktının bu iki metoda göre indirgeme gücü Tablo 1'de sunulmuştur ve bu değerlerin *G. lucidum*'dan elde edilen indirgeme güçlerinden (Özparlak ve ark., 2016a) oldukça düşük olduğu tespit edilmiştir. Fosfomolibdat testi asidik ortamda antioksidan bileşiklerin Mo(VI)'yı Mo(V)'e indirgemesine ve oluşan yeşil renkli Mo(V)-fosfat kompleksinin 595 nm'de ölçülmesi temeline dayanır. Ekonomik ve kolay olmasından dolayı son yıllarda antioksidan kapasite çalışmalarında çok tercih edilmektedir. *L. edodes* ekstraktının bu testteki aktivitesi 0.43 mmolTE/g ekstrakt olarak belirlenmiştir. Bu değer *G. lucidum* için rapor edilenlerle (Özparlak ve ark., 2016a)

benzerlik göstermektedir(Tablo 1). Bu durum *L. edodes* ekstraktında fenolikler dışında çeşitli bileşiklerin (askorbik asit, tokoferol vb.) fosfomolibdat testinde aktif rol aldığını göstermektedir.Geçiş metalleri Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonlarıyla hidroksil radikalının üretiminde bir katalizör gibi rol üstlenir. Hidroksil radikali lipid peroksidasyonun bir başlatıcısıdır ve bu radikalin etkisiz hale getirilmesi büyük önem arz eder. Bu sebeple geçiş metallerinin şelatlama yeteneği antioksidan özelliklerin başında gelmektedir. Bu çalışmada ekstraktın şelatlama yeteneği ferrozin testi kullanılarak incelenmiştir ve testin sonucu EDTA eşdeğeri olarak verilmiştir. Bu testin sonucuna göre de *L. edodes* ekstraktının aktivitesi *G. lucidum*'un (Özparlak ve ark., 2016a) gerisinde kalmıştır (Tablo 1).



L. edodes'in antioksidan özellikleri üzerine çeşitli çalışmalar olmasına rağmen bu çalışmalarda farklı sonuçlara ulaşılmıştır (Kitzberger ve ark., 2007; Da Silva ve Jorge, 2011; Carneiro ve ark., 2013). Genel olarak bakıldığında *L. edodes*'in orta düzeyde antioksidan aktivite sergilediği gözlenmiştir. Bu durum çalışmamızda da ortaya konulmuştur. Bununla birlikte sentetik antioksidanların yan etkileri düşünüldüğünde *L. edodes* doğal antioksidan kaynağı olarak düşünülebilecek niteliktedir.

Deri ve saç renginin oluşmasında görev alan tirozinaz bakır içeren bir enzimdir. Tirozinaz enziminin inhibisyonu deri hastalıklarında hiperpigmentasyon tedavisinin temelidir. Hidrokinon, arbutin ve kojik asit bilinen tirozinaz inhibitörleridir. Bu inhibitörler beyazlatıcı ajanlar olarak kozmetik alanında kullanılmaktadır. Ancak bu bileşiklerin yan etkileri göz ardı edilememektedir (Kim ve Uyama, 2005; Solano ve ark. 2006). Bu çalışmada gerçekleştirilen enzim inhibisyon testleri sonuçlarına baktığımızda *L. edodes* metanolik ekstraktının tirozinaz enzim inhibisyon özelliği tespit edilmemiştir.

Alzheimer hastalığında nöron ve akson kaybı ile asetilkolin seviyesinde azalma gerçekleşir. Bu sebeple asetilkolin seviyesini artırmak Alzheimer tedavisinde önemlidir. Asetilkolin düzeyi asetilkolini yıkan kolinesteraz enzimlerinin baskılanmasıyla artırılabilir. AChE ve BChE farklı genlerle kodlanan ancak özellikle substrat seçicilikleri ve bazı katalitik mekanizmalarındaki farklılıkları sebebiyle birbirinden ayrılan enzimlerdir (Howes ve ark., 2003). Çalışmalarda, kolinesteraz inhibisyonuna bağlı asetilkolin düzeyindeki artışların, Alzheimer hastalığının erken dönemlerindeki bilinç kayıplarını iyileştirebileceği rapor edilmektedir ve bu sebeple Alzheimer tedavisinde galantamin, fizostigmin gibi sentetik kolinesteraz inhibitörleri geliştirilmiştir. Bununla birlikte bu sentetik inhibitörlerin çeşitli toksik etkileri olması ve kısa ömürlü olmaları klinik açıdan kullanımlarının sınırlandırılmalarına sebep olmuştur (Melzer, 1998). Tablo 2'de görülebileceği gibi *L. edodes*

ekstraktının AChE inhibisyon değeri hem kültür hem de yabani *G. lucidum*'dan elde edilen değerlere (Özparlak ve ark., 2016b) oldukça yakın bulunmuştur. Ancak *L. edodes* ekstraktının BChE inhibisyon değeri *G. lucidum*'un değerlerinin (Özparlak ve ark., 2016b) oldukça altındadır.

α -amilaz ve α -glukozidaz enzimleri karbohidrat sindiriminde görev alan anahtar enzimlerdir. Nişasta, α -dekstrin ve maltoz α -amilaz tarafından hidrolize edilirken, α -glukozidaz ince barsakta disakkaritleri ve oligosakkaritleri glukoz monomerlerine hidroliz etmektedir. Bu sebeple α -amilaz ve α -glukozidaz enzimlerinin inhibisyonu artan kan glukoz seviyesinin azaltılmasında önemli bir noktadır. Akarboz ve miglitol gibi glukoz seviyesini düşüren inhibitör ilaçların yerine doğal inhibitörlerin önemi dünya sağlık örgütü (WHO) tarafından yapılan öneriden sonra daha da fazla dikkat çekmektedir (Laube, 2002; Singh ve ark., 2010). Bu çalışmada elde edilen *L. edodes* ekstraktına ait α -amilaz inhibisyon değerleri hem kültür hem de yabani *G. lucidum*'dan elde edilen değerlere (Özparlak ve ark., 2016b) oldukça benzerdir (Tablo 2). Bununla birlikte Tablo 2'de görülebileceği gibi α -glukozidaz inhibisyon değerleri oldukça düşüktür.

Mantarların doğal enzim inhibitörlerinin bir kaynağı olabileceği çeşitli çalışmalarda ortaya konulmuştur (Afrin ve ark., 2016; Gheibi ve ark., 2016; Özparlak ve ark., 2016b). Bu çalışmada *L. edodes*'den elde edilen inhibisyon verilerinin çalışılan enzimlerle ilgili yeni inhibitörler geliştirilmesine ışık tutması umut edilmektedir. Bununla birlikte bu çalışmada tespit edilen *L. edodes*'e ait antioksidan kapasite ve enzim inhibisyon verilerine bakıldığında; Türkiye'deki kültür *L. edodes*'in genel olarak güncel ve önemli bir tıbbi mantar olan *G. lucidum*'un Türkiye'deki kültür ve yabani formları kadar potansiyele sahip olmadığı sonucu ortaya konmuştur.



Tablo 2. *Lentinula edodes*'in metanol ekstraktının enzim inhibitör özellikleri ve *Ganoderma lucidum*'dan daha önce elde edilen sonuçlar ile karşılaştırılması

| Parametreler | <i>Lentinula edodes</i> | <i>Ganoderma lucidum</i> (Kültür) ^b | <i>Ganoderma lucidum</i> (Yabani) ^b |
|---|-------------------------|--|--|
| Asetilkolinesteraz inhibisyonu (mgGALAE/g ekstrakt) | 0.90±0.03 * | 0.92±0.01 | 1.02±0.01 |
| Butirikolinesteraz inhibisyonu (mgGALAE/g ekstrakt) | 0.23±0.05 | 0.30±0.04 | 1.29±0.37 |
| Tirozinaz inhibisyonu (mgKAE/g ekstrakt) | ** | 0.59±0.01 | 9.04±0.01 |
| α-amilaz inhibisyonu (mmolAKAE/g ekstrakt) | 0.16±0.01 | 0.14±0.01 | 0.18±0.01 |
| α-glukozidaz inhibisyonu (mmolAKAE/g ekstrakt) | 0.33±0.04 | 0.60±0.04 | 1.11±0.01 |

*Üç paralel ölçümün ortalaması±standart sapma.

**Ölçülebilir tirozinaz inhibisyonu tespit edilememiştir.

GALAE: Galantamin eş değeri; KAE: Kojik asit eş değeri; AKAE: Akarboz eş değeri.

^bÖzparlak ve ark. (2016b)'na göre

Kaynaklar

- Afrin S., Rakib M.A., Kim B.H., Kim, J.O., Ha Y.L., *Eritadenine from edible mushrooms inhibits activity of angiotensin converting enzyme in vitro*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 64: 2263-2268 (2016).
- Aruoma O.I., *Assessment of potential prooxidant and antioxidant actions*, Journal of the American Oil Chemists Society, 73(12): 1617-1625 (1996).
- Carneiro A.A., Ferreira I.C., Dueñas M., Barros L., Da Silva R., Gomes E., Santos-Buelga, C., *Chemical composition and antioxidant activity of dried powder formulations of Agaricus blazei and Lentinus edodes*, Food Chemistry, 138: 2168-2173 (2013).
- Chen G.L., Zhang X., Chen S.G., Han M.D., Gao Y.Q., *Antioxidant activities and contents of free, esterified and insoluble-bound phenolics in 14 subtropical fruit leaves collected from the south of China*, Journal of Functional Foods, 30: 290-302 (2017).
- Da Silva A.C., Jorge N., *Antioxidant properties of Lentinus edodes and Agaricus blazei extracts*, Journal of Food Quality, 34: 386-394 (2011).
- Gheibi N., Zavareh S.H., Behbahani G.R., Haghbeen K., Sirati-sabet M., Ilghari D., Chegini K.G., *Comprehensive kinetic and structural studies of different flavonoids inhibiting diphenolase activity of mushroom tyrosinase*, Applied Biochemistry and Microbiology, 52: 304-310 (2016).
- Gil-Ramírez A., Pavo-Caballero C., Baeza E., Baenas N., Garcia-Viguera C., Marín FR., Soler-Rivas C., *Mushrooms do not contain flavonoids*, Journal of Functional Foods, 25: 1-13. (2016).
- Halliwell B., *Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence*, Lancet, 344: 721-724 (1994).
- Hou W.C., Lin R.D., Cheng K.T., Hung Y.T., Cho C.H., Chen C.H., Hwang S.Y., Lee M.H., *Free radical scavenging activity of Taiwanese native plants*, Phytomedicine, 10: 170-175 (2003).



- Howes M.J.R., Houghton P.J., Perry N.S.L., *Plants with traditional uses and activities, relevant to the management of Alzheimer's disease and other cognitive disorders*, *Phytotherapy Research*, 17: 1-18 (2003).
- Kim Y.J., Uyama H., *Tyrosinase inhibitors from natural and synthetic sources: structure, inhibition mechanism and perspective for the future*, *Cellular and Molecular Life Sciences*, 62(15): 1707-23 (2005).
- Kitzberger C.S.G., Smânia A., Pedrosa R.C., Ferreira S.R.S., *Antioxidant and antimicrobial activities of shiitake (*Lentinula edodes*) extracts obtained by organic solvents and supercritical fluids*, *Journal of Food Engineering*, 80: 631-638 (2007).
- Laube H., *Acarbose: An update of its therapeutic use in diabetes treatment*, *Clinical Drug Investigation*, 22: 141-156 (2002).
- Melzer D., *New drug treatment for alzheimer's diseases: lessons for healthcare policy*, *British Medical Journal*, 316: 762-764 (1998).
- Özçelik E., Pekşen A., *Lentinus edodes yetiştiriciliğinde fındık zurufundan hazırlanan farklı yetiştirme ortamlarının verim ve bazı mantar özelliklerine etkileri*, 21(1): 65-70 (2006).
- Özparlak H., Zengin G., Kaşık G., *Türkiye'den yabani ve kültüre alınmış *Ganoderma lucidum*'un sulu ekstraktlarının antioksidan özelliklerinin karşılaştırılması*, *Mantar Dergisi*, 7(2): 102-109 (2016a).
- Özparlak H., Alkan S., Zengin G., Aktümsek A., *Türkiye'deki yabani ve kültüre alınmış *Ganoderma lucidum*'un sulu ekstraktlarının in vitro bazı enzim inhibitör özelliklerinin karşılaştırılması*, *Mantar Dergisi*, 7(2): 110-117 (2016b).
- Shahidi F., *Natural Antioxidants, Chemistry, Health Effects and Applications*, AOCS Press, Champaign, Illinois (1996).
- Singh J., Dartois, A., Kaur, L., *Starch digestibility in food matrix: A review*, *Trends in Food Science & Technology*, 21: 168-180 (2010).
- Solano F., Briganti S., Picardo M., Ghanem G., *Hypopigmenting agents: an updated review on biological, chemical and clinical aspects*, *Pigment Cell & Melanoma Research*, 19: 550-571 (2006).
- Tocco G., Fais A., Meli G., Begala M., Podda G., Fadda M.B., Corda M., Attanasi O.A., Filippone P., Berretta S., *Peg-immobilization of cardol and soluble polymer-supported synthesis of some cardol-coumarin derivatives: preliminary evaluation of their inhibitory activity on mushroom tyrosinase*, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 19: 36-39 (2009).
- Tundis R., Loizzo M.R., Menichini F., *Natural products as alpha-amylase and alpha-glucosidase inhibitors and their hypoglycaemic potential in the treatment of diabetes: An update*, *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 10: 315-331 (2010).
- Üstün O., *Makrofungusların besin değeri ve biyolojik etkileri*, *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 68(4): 223-240 (2011).
- Zengin G., Sarikurkcu C., Gunes E., Uysal A., Ceylan R., Uysal S., Güngör H., Aktümsek A., *Two *Ganoderma* species: profiling of phenolic compounds by HPLC-DAD, antioxidant, antimicrobial and inhibitory activities on key enzymes linked to diabetes mellitus, Alzheimer's disease and skin disorders*, *Food Function*, 6: 2794-2802 (2015).
- Zhang XX., Shi QQ., Ji D., Niu LX., Zhang YL., *Determination of the phenolic content, profile, and antioxidant activity of seeds from nine tree peony (*Paeonia* section *Moutan* DC.) species native to China*, *Food Research International* 97: 141-148 (2017).



Two New Records for Turkey: *Ophiobolus erythrosporus* and *Leptosphaeria modesta*

Makbule ERDOĞDU*, Gökhan DOĞAN

Ahi Evran University, Arts and Sciences Faculty, Department of Biology, Kırşehir/ TURKEY

Abstract: *Ophiobolus erythrosporus* (Riess) G. Winter and *Leptosphaeria modesta* Rabenh. are new records for Turkish mycobiota. Distinguishing morphological characters of these species are described and their photographs are provided.

Key words: Microfungi, *Pleosporales*, New records, Turkey.

Türkiye İçin İki Yeni Kayıt: *Ophiobolus erythrosporus* ve *Leptosphaeria modesta*

Öz: *Ophiobolus erythrosporus* (Riess) G. Winter ve *Leptosphaeria modesta* (Desm.) Rabenh. Türkiye mikobiyotası için yeni kayıttır. Bu türlerin ayırt edici morfolojik karakterleri tanımlanmış ve fotoğrafları verilmiştir.

Anahtar kelimeler: Mikromantarlar, *Pleosporales*, Yeni kayıtlar, Türkiye.

Introduction

Ophiobolus Riess was introduced with *Ophiobolus disseminans* Riess (*Phaeosphaeriaceae*) as the type species. The genus is characterized by its solitary to clustered ascomata, immersed to erumpent, spherical to obpyriform, brown to black, with a conical papilla; numerous, long-cylindrical, fissitunicate asci; and multiseptate, yellow to brown scolecosporeous ascospores (Shoemaker, 1976, Walker, 1980). *Ophiobolus graminis* (Sacc.) Sacc., *O. miyabeanus* S. Ito & Kurib. and *O. periclymeni* (P. Crouan & H. Crouan) Sacc. were recorded from Turkey (Aktaş et al., 1996, Göbelez, 1963, Selçuk et al., 2016). Of these, *O. graminis* and *O. miyabeanus* were transferred to the genera *Gaeumannomyces* and *Bipolaris* respectively.

The genus *Leptosphaeria* Ces. & De Not. is saprobic or pathogenic on stems and leaves of herbaceous or woody plants in terrestrial habitats. Even though *Leptosphaeria* shares some similar morphological characters with

Amarenomyces O.E. Erikss., *Bricookea* M.E. Barr, *Kalmusia* Niessl, *Entodesmium* Riess, *Melanomma* Nitschke ex Fuckel, *Nodulosphaeria* Rabenh., *Paraphaeosphaeria* O.E. Erikss., *Passeriniella* Berl., *Phaeosphaeria* I. Miyake and *Trematosphaeria* Fuckel, it differs in producing ascomata on dicotyledonous hosts, in having cylindrical asci with short bulbous pedicels and smooth-walled, fusoid, multi-septate ascospores (Ariyawansa et al., 2015). *Leptosphaeria* is one of the largest genera of the *Leptosphaeriaceae*, accommodating more than 1600 taxa (Crane and Shearer, 1991). In Turkey, the species of *Leptosphaeria* are poorly known and not yet intensively studied. Some species of *Leptosphaeria* have been recorded in Turkey (*Leptosphaeria acuta* (Fuckel) P. Karst. on *Urtica dioica* L. (Baydar, 1975), *L. affinis* P. Karst. on *Verbascum* sp. (Baydar, 1982), *L. davisiana* Petr. on *Scutellaria brevibracteata* L. (Karel, 1958), *L. fuckelii* Niessl on *Fibigia clypeata* (L.) Medik. (Erdoğan and Hüseyin, 2008), *L. lusitanica*



Thüm. on *Spartium junceum* L. and *L. tolgorensis* Petr. on *Euphorbia* sp. (Petraik, 1953), *L. platycarpa* Sacc. on *Juglans regia* L. (Selçuk et al. 2015), *L. rusci* (Fr.) Sacc. on *Ruscus aculeatus* L. (Göbelez, 1963), *L. vagabunda* Sacc. on *Berberis crataegina* L. (Baydar, 1975) etc.).

The current study deals with two microfungi species collected from Erciyes Mountain in Kayseri province and aims to make a contribution to the mycobiota of Turkey.

Materials and Methods

Plant specimens infected with microfungi were collected from Erciyes Mountain in Kayseri province of Turkey. The host specimens were prepared according to the conventional herbarium techniques. Host plants were identified using the Flora of Turkey and East Aegean Islands (Davis, 1965-1985). The fungal specimens were isolated from the host plants by obtaining thin sections. Microscopic examination and microphotographs were done by means of Leica DM E light microscope. The fungi were identified using relevant literature (Dennis, 1981, Ellis and Ellis, 1987, Shoemaker, 1976 – for *Ophiobolus*; Dennis, 1981, Ellis and Ellis, 1987 – for *Leptosphaeria*). All specimens examined were deposited in the Mycology Laboratory of Ahi Evran University, Arts and Sciences Faculty, Department of Biology and have collection numbers of Gökhan DOĞAN (GD). Identified species and their author's names are given according to Index fungorum database (accessed 2017).

Results

Ascomycota Caval.-Sm.

Pleosporales Luttr. ex M.E. Barr

Leptosphaeriaceae M.E. Barr

Leptosphaeria Ces. & De Not.

Leptosphaeria modesta (Desm.) Rabenh.

Syn.: *Sphaeria modesta* Desm., *Leptosphaeria modesta* var. *cibostii* (Ces. & De Not.) Sacc., *Heptameria cibostii* (Ces. & De Not.) Cooke, *Sphaeria modesta* var. *rubellula* Desm., *Leptosphaeria modesta* var. *rubellula* (Desm.) Sacc., *Leptosphaeria modesta* Rabenh. var.

modesta, *Heptameria modesta* (Rabenh.) Cooke, *Nodulosphaeria modesta* (Rabenh.) Munk ex L. Holm.

The characteristic features: Perithecia scattered, at first immersed in the tissue later becoming erumpent, unilocular, globose to pyriform, 230-450 µm diam., blackish. Asci numerous, cylindrically-clavate, attenuate at the base, 8-spored, 83-106 × 13-16 µm. Ascospores cylindric, mostly 4-septate, occasionally 6-septate, constricted at the septum, rounded both ends, 37.5-45 (-50) × 6-7 µm, pale olive-brown, ends bearing a small, rounded, 2-5 µm long, hyaline appendage, second cell from the top shorter and broader than the rest (Figure 1).

Specimens examined: Kayseri province, Erciyes mountain, Develi district, tree plantation area, on dead branches of *Scrophularia* sp. (Scrophulariaceae), 38°28'977"N, 35°30'665"E, 2000-2050 m, 25.07.2011, GD 1099; Kayseri province, Erciyes mountain, Develi district, tree plantation area, on dead branches *Rumex* sp. (Polygonaceae), 38°28'977"N, 35°30'665"E, 2000-2050 m, 25.07.2011, GD 1095.

Phaeosphaeriaceae M.E. Barr

Ophiobolus Riess

Ophiobolus erythrosporus (Riess) G. Winter

Syn.: *Sphaeria erythrospora* Riess, *Ophiobolus erythrosporus* (Riess) G. Winter f. *erythrosporus*, *Nodulosphaeria erythrospora* (Riess) L. Holm, *Rhaphidophora urticae* Rabenh., *Ophiobolus urticae* (Rabenh.) Sacc., *O. urticae* (Rabenh.) Sacc. var. *urticae*, and *O. urticae* var. *clematidis* Berl.

The characteristic features: Ascocarps scattered or in groups, at first immersed in the tissue later becoming erumpent, globose, 170-335 µm diam, blackish; neck erumpent, terete, 25 µm long. Asci numerous in a broad hymenium, cylindric to clavate, 114-151 × 11-12.5 µm, 8-spored. Ascospores parallel in one fascicle, cylindrical, attenuated both ends, 13-17-septate, with one short cell a little above the middle distinctly swollen, becoming curved when released from the ascus, (81-) 85-124 (-130) × 3-3.5 (-4) µm, guttulate, pale yellow (Figure 2).



Figure 1. *Leptosphaeria modesta*: a. vertical section of an ascoma, b. ascus, c. ascospores, d. ascospore with hyaline appendage.

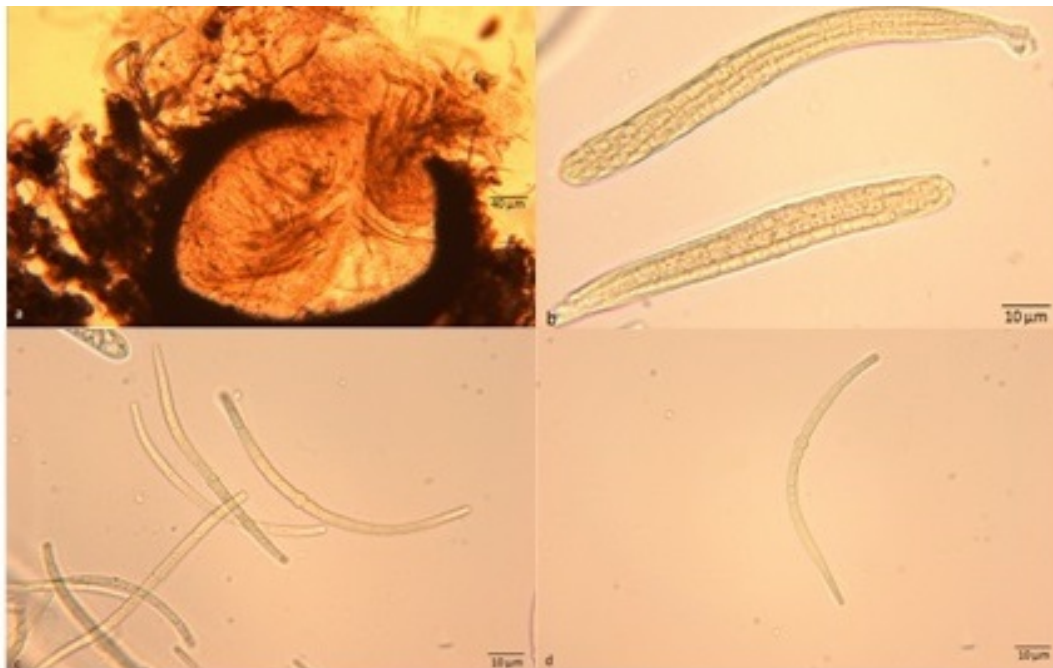


Figure 2. *Ophiobolus erythrosporus*: a. vertical section of an ascoma, b. asci, c. ascospores, d. ascospore.



Specimens examined: Kayseri district, Kayseri memorial forest, on dead branches of *Teucrium polium* L. (Lamiaceae), 38°36'134"N, 35°30'581"E, 1850-1900 m, 25.07.2011, GD 1108; Kayseri province, Erciyes mountain, Develi district, tree plantation area, on dead branches *Alkanna orientalis* (L.) Boiss. (Boraginaceae), 38°28'977"N, 35°30'665"E, 2000-2050 m, 25.07.2011, GD 1094.

Discussion

Leptosphaeria modesta is found on dead stems of many herbaceous plants. This fungus was known from Austria on *Thlaspi goesingense* Halácsy (Petraik, 1959), from China on *Bupleurum scorzonerifolium* Willd. (Tai, 1979), from Denmark on *Geum* sp., *Lotus* sp. and *Solidago* sp. (Munk, 1957), from England on *Aconitum* sp., *Bupleurum* sp., *Phyteuma* sp., *Sanguisorba* sp., *Scabiosa columbaria* L., *Scrophularia* sp., *Seseli* sp. and *Tofieldia* sp. (Dennis, 1981), from France on *Digitalis lutea* L. (Crane and Shearer, 1991), from Greenland on *Angelica archangelica* L. (Conners, 1967), from India on *Chrysanthemum richteria* Benth., *Draba lanceolata* Royle, *Eritrichium* sp. and *Scrophularia scabiosaefolia* Benth. (Wehmeyer, 1963), from Ireland on *Scabiosa succisa* L. (Muskett and Malone, 1983), from Poland on *Aconitum firmum* Rchb., *Angelica sylvestris* L., *Betonica officinalis* L., *Bupleurum longifolium* L., *Clinopodium vulgare* L., *Digitalis grandiflora*

Mill., *Lonicera* sp., *Pimpinella saxifraga* L., *Scabiosa ochroleuca* L., *Scrophularia nodosa* L., *Solidago virgaurea* L. and *Torilis japonica* (Houtt.) DC. (Mulenko et al., 2008), from Portugal on *Coptis aspleniifolia* Salisb. (Unamuno, 1941), from Russia on *Campanula* sp. (Babuschkina, 1995), from Ukraine on *Cephalaria coriacea* Steud., *Dictamnus gymnostylis* Steven, *Galium mollugo* L. and *Philadelphus caucasicus* Koehne (Dudka et al., 2004), from United States on *Actaea* sp., *Castilleja pallida* (L.) Spreng., *Helenium hoopesii* A. Gray and *Scrophularia parviflora* Wooton & Standl. (Cooke, 1985, Conners, 1967). *Leptosphaeria modesta* is reported for the first time from Turkey.

Ophiobolus erythrosporus has got a broad host range. It is found on *Achillea* sp., *Aster macrophyllus* L., *Marrubium vulgare* L., *Solanum tuberosum* L. and *Solidago* sp. in Canada (Ginns, 1986), on *Centaurea* sp., *Lamium maculatum* L. and *Urtica dioica* L. in Germany (Schmid-Heckel, 1988), on *Cirsium* sp. in Pakistan (Ahmad, 1997), on *Scrophularia lanceolata* Pursh and *Urtica* sp. in United Kingdom (Shoemaker, 1976, Cannon et al., 1985), on *Senecio campestris* DC. in Russia (Babuschkina, 1995), on *Urtica dioica* L. in Denmark and Poland (Munk, 1957, Mulenko et al., 2008) and on *Urtica* sp. in England (Dennis, 1981). *Ophiobolus erythrosporus* is reported for the first time from Turkey.

References

- Ahmad S., Iqbal S.H., Khalid A.N., *Fungi of Pakistan*. Sultan Ahmad Mycological Society of Pakistan, Department of Botany, University of Punjab, Quaid-e-Azam Campus, Lahore(1997).
- Aktaş H., Bostancıoğlu H., Tunalı B., Bayram E., *Sakarya Yöresinde Buğday Kök ve Kök Boğazı Çürüklüğüne Neden Olan Hastalık Etmenlerinin Belirlenmesi ve Bu Etmenlerin Buğday Yetiştirme Teknikleri ile İlişkileri Üzerinde Araştırmalar*, Bitki Koruma Bülteni, 36(3-4)151-167(1996).
- Ariyawansa H.A., Phukhamsakda C., Thambugala K.M., Bulgakov T.S., Wanasinghe D.N., Perera R.H., Mapook A., Camporesi E., Kang J.C., Jones E.B.G., Bahkali A.H., Jayasiri S.C., Hyde K.D., Liu Z.Y., Bhat, D.J., *Revision and Phylogeny of Leptosphaeriaceae*, Fungal Diversity, 74, 19-51(2015).
- Babuschkina I.N., *Ad Floram Ascomycetum Reservati Svirensis Inferioris Notula*, Novosti Sist. Nizsh. Rast., 30, 16-18(1995).
- Baydar S., *Erzurum, Erzincan ve Gümüşhane İllerinde Bitkilerden Toplanan Ascomycetes Fungusları Üzerinde Araştırmalar*, Atatürk Üniv. Fen Fakültesi Yayınları, Erzurum(1975).



- Baydar S., *Trabzon ve Rize İllerinin (Ascomycetes) Fungus Türleri*, Atatürk Üniv. Fen Fakültesi Dergisi, 1(1)250-281(1982).
- Cannon P.F., Hawksworth D.L., Sherwood-Pike M.A., *The British Ascomycotina. An Annotated Checklist*, Commonwealth Mycological Institute, Kew(1985).
- Connors I.L., *An Annotated Index of Plant Diseases in Canada and Fungi Recorded on Plants in Alaska, Canada and Greenland*, Canadian Department of Agriculture, Ottawa(1967).
- Cooke W.B., *The 1980 Arizona Foray*. Mycologia 77(1)168-171(1985).
- Crane J.L., Shearer C.A., *A Nomenclator of Leptosphaeria V. Cesati & G. de Notaris (Mycota- Ascomycotina- Loculoascomycetes)*, Bulletin Illinois Natural History Survey, 34(3)195-355(1991).
- Davis P.H., *Flora of Turkey and the East Aegean Island, Vol. 1-9*, Edinburgh Univ. Press., Edinburgh(1965-1985).
- Dennis R.W.G., *British Ascomycetes*. J. Cramer, Vaduz(1981).
- Dudka I.O., Heluta V.P., Tykhonenko Y.Y., Andrianova T.V., Hayova V.P., Prydiuk M.P., Dzhanagan V.V., Isikov V.P., *Fungi of the Crimean Peninsula*, M.G. Kholodny Institute of Botany, Ukraine(2004).
- Ellis B.M., Ellis J.P., *Microfungi on Land Plants*, Croom Helm, London-Sydney(1987).
- Erdoğan M., Hüseyin E., *Microfungi of Kurtboğazi Dam (Ankara) and its Environment*, Ot Sistematik Botanik Dergisi, 14(1)131-150(2008).
- Ginns J.H., *Compendium of Plant Disease and Decay Fungi in Canada 1960-1980*, Canadian Government Publishing Centre, Ottawa(1986).
- Göbelez M., *La Mycoflora de Turquie, I*, Mycopathologia et Mycologia Applicata, 19(4)296-314(1963).
- Karel G.A., *Preliminary List of Plant Diseases in Turkey*, Ayyıldız Matbaası, Ankara(1958).
- Mulenko W., Majewski T., Ruszkiewicz-Michalska M., *A Preliminary Checklist of Micromycetes in Poland*, W. Szafer Institute of Botany, Polish Academy of Sciences, Poland(2008).
- Munk A., *Danish Pyrenomycetes. A Preliminary Flora*, Dansk Botanisk Arkiv, 17(1)1-491(1957).
- Muskett A., Malone J., *Catalogue of Irish Fungi - IV. Ascomycotina*, Proceedings of the Royal Irish Academy. Section B: Biological, Geological, and Chemical Science, 83(B)151-213(1983).
- Petrak F., *Neue Beiträge zur Pilzflora der Türkei*, Sydowia, 7(1-4)14-44(1953).
- Petrak F., *Beiträge zur Österreichischen Pilzflora*, Sydowia, 13(1-6)67-86(1959).
- Schmid-Heckel H., *Pilze in den Berchtesgadener Alpen*, Forschungsberichte aus dem Nationalpark Berchtesgaden, 15, 1-136(1988).
- Selçuk F., Gündoğan T., Akata I., *A New Record of Ophiobolus Riess for Turkey*, Communications Faculty of Sciences University of Ankara, 25(1-2)1-6(2016).
- Selçuk F., Hüseyin E., Cebeci C.C., *Juglans regia L. Mikromikotası İçin Yeni Kayıtlar*, XII. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi, 14-17 Eylül 2015, Bildiri Özetleri Kitabı, s. 115, Muğla(2015).
- Shoemaker R.A., *Canadian and Some Extralimital Ophiobolus Species*, Canadian Journal of Botany, 54, 2365-2404(1976).
- Tai F.L., *Sylloge Fungorum Sinicorum*, Science Press, Academica Sinica, Peking(1979).
- Unamuno P.L.M., *Enumeracion y distribución geografica de los ascomicetos de la Peninsula Iberica y de las Islas Baleares*, Memorias de la Real Academia de Ciencias, Madrid(1941).
- Walker J., *Gaeumannomyces, Linocarpon, Ophiobolus and Several Other Genera of Scolecospored Ascomycetes and Phialophora Conidial States, with a Note on Hyphopodia*, Mycotaxon, 11(1)1-129(1980).
- Wehmeyer L.E., *Some Himalayan Ascomycetes of the Punjab and Kashmir*, Mycologia, 55(3)309-336(1963).



***Bovista plumbea* Pers.'nin Yağ Asiti İçeriklerinin İncelenmesi**

Fatih DURMAZ¹, Sinan AKTAŞ², Ela Nur ŞİMŞEK SEZER²

¹Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, 42075, Selçuklu, Konya

²Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 42075, Selçuklu, Konya

Öz: Bu çalışmada halk arasında puf mantarı olarak bilinen ve çeşitli bölgelerden toplanan *Bovista plumbea* Pers. türünün yağ asit kompozisyonları incelenmiştir. İncelenen türe ait yağ asit kompozisyonlarında oran olarak en fazla heneikosanoik asit (C21:0), eikosenoik asit (C20:1), behenik asit (C22:0), vaksenik asit (C18:1), linoleik asit (C18:2) ve linolenik asit (C18:3) izomerleri tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Makrofungus, *Bovista plumbea*, Yağ asiti, Ekstraksiyon.

Determination of Fatty Acid Contents of *Bovista plumbea* Pers.

Abstract: In this study, fatty acid compositions of *Bovista plumbea* Pers., known as puffball mushrooms and collected from different localities, were examined. In the fatty acid compositions of the examined species, the ratio is at most heneicosanoic acid (C21:0), eicosenoic acid (C20:1), behenic acid (C22:0), vaccenic acid (C18:1), linoleic acid (C18:2), and linolenic acid (C18:3) isomers.

Key words: Macrofungus, *Bovista plumbea*, Fatty acid, Extraction..

Giriş

Yağların insan sağlığı bakımından önemli etkileri bulunmaktadır. Özellikle de doymamış yağ asitlerinin etkileri önem arz etmektedir ve bu yağlar metabolizma tarafından sentezlenmediği için diyet olarak alınması gerekmektedir. Ayrıca unutulmaması gereken bir nokta da yağların karbonhidratlardan sonra enerji elde edilen önemli kaynaklar olduğudur.

Günümüzde diyet olarak kullanılan birçok besin maddesinin insan vücudu için gerekli yağ asitlerine sahip oldukları birçok çalışma ile ortaya konulmuştur. Bu besin maddeleri içerisinde yer alan mantarlar, özellikle Avrupa ve Uzak Doğu ülkelerinde sıklıkla tüketildiği görülmektedir. Ülkemizde ise, yapılan çalışmalarda ortaya konulan çok sayıda mantar türü bulunmasına ve önemli derecede

besleyicilik özellikleri olmasına rağmen besin olarak yeterince tüketilmediğini görmekteyiz (Doğan ve Ark., 2007; Servi ve ark. 2010; Sesli ve Denchev, 2014; Kaya 2015; Demirel ve Ark. 2016). Bu ve benzer çalışmalar ile mantarların faydalı yönleri ortaya çıkarılarak, halkımızın diyet olarak tüketmesine katkı yapılması amaçlanmaktadır (Aktümsek ve ark. 1998; Longvah ve Deosthale 1998; Diez ve ark. 2001; Yılmaz ve ark. 2006; Çolak ve ark. 2009; Riberio ve Ark. 2009; Kaşık ve Ark. 2013; Yılmaz ve ark. 2016).

Materyal ve Metot

Çalışma materyalini 2012-2017 tarihleri arasında Afyon, Konya (Akşehir, Kadınhanı, Beyşehir), Bolu illerinden toplanan örnekler oluşturmaktadır.



Toplanan numuneler laboratuvara getirilip, elde edilen veriler ve mevcut literatürün yardımıyla teşhisleri yapılmıştır (Watling (1973), Philips (1981), Moser (1983), Ellis ve Ellis (1990), Breitenbach ve Kränzlin (1984,1986, 1991, 1995, 2000, 2005), Dähncke (1993),Jordan (1995), Winkler (1996). Mantarlar kurutma dolabı içinde kurutulmuş ve kurutulan örnekler değirmen yardımıyla toz haline getirilmiştir.

Ekstraksiyon analizleri:

Sürekli ekstraksiyon yöntemlerinden biri olan Soxhlet ekstraksiyon yöntemini uygulamak için, Soxhlet cihazının kurulumu yapılmıştır. Bu cihazın ekstraksiyon haznesine önceden kurutulmuş ve toz haline getirilmiş olan doğal mantar konularak ekstraksiyon bölümüne yerleştirilmiştir. Ekstraksiyon sıvısı olarak hekzan kullanılmıştır. Alınan saf hekzan çözücü balonuna yerleştirilip Soxhlet cihazıyla birleştirilmiştir. Bu sistemin aşağısındaki montolu ve ayarlı ısıtıcı hekzanın kaynama noktası olan 68 °C ye ayarlanmıştır ve bu sıcaklıkta sabit kalması sağlanmıştır. Sistem bu şekilde sürekli bir ekstraksiyon yöntemi uygulanarak Soxhlet cihazıyla 6 saat ekstraksiyon yapılmış ve sistem durdurularak elde edilen ekstraksiyon çözeltisi başka bir kaba aktarılmıştır. Serbest yağ asitlerini tayin etmek için esterleşme yöntemi kullanılmıştır. Bu amaçla alınan ekstraksiyon çözeltisinden 5 mL alınarak üzerine 1 mL 2N metanollü KOH çözeltisi ilave edilerek esterleşme reaksiyonu için bir müddet bekletilmiş ve sonra analiz için bu çözeltiden 1 mL alınarak GC deki enjeksiyon bölümüne yerleştirilerek analizler yapılmıştır.

Agilent 6890 GC de ki analizler:

GC kolon: Agilent HP-88 Capillary 100 m x250 µm x 0.25 µm özelliklerindedir.

Splitless modunda taşıyıcı gaz He (1,3 ml/dk) kullanılmıştır. 50 °C den 250 °C ye kademeli olarak arttırılmış ve bu noktada analiz süresince sabit tutulmuştur. 50 µL enjeksiyon yapılarak 3 tekrarlı analizler yapılmıştır. Sistemin kalibrasyonu için verilen yağ asit standart numuneleriyle kalibrasyon yapılarak doğal mantar numunesindeki serbest yağ asidi kompozisyonu çıkartılmıştır.

Bulgular

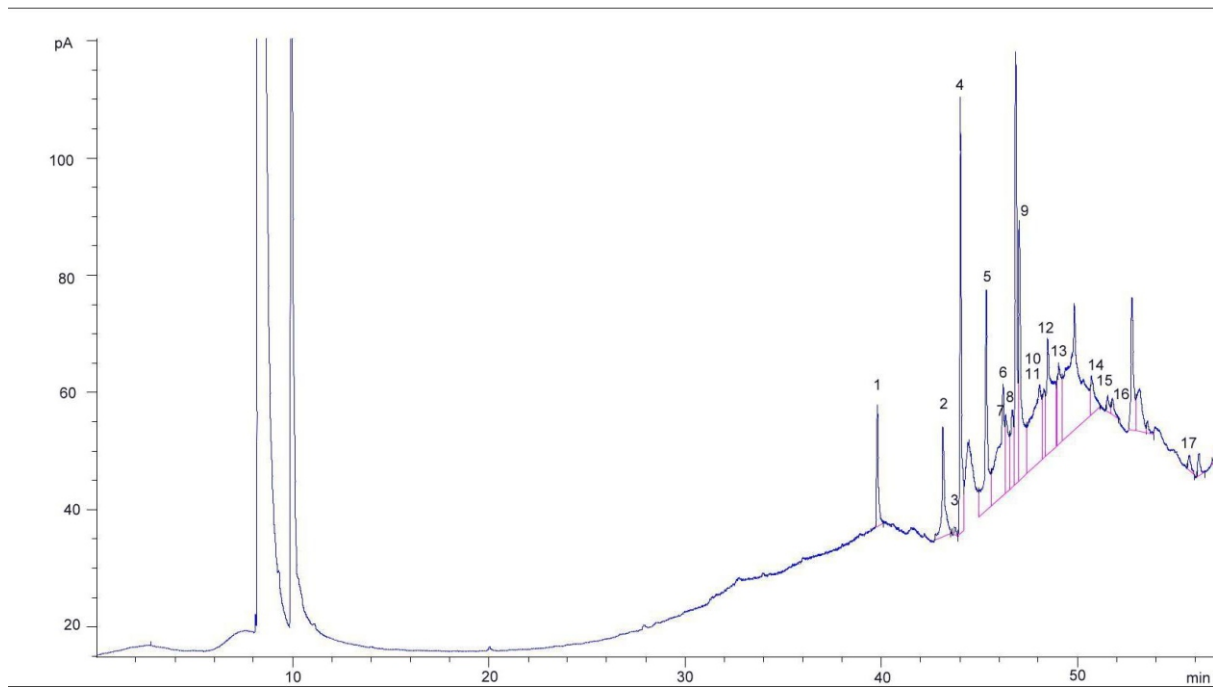
Farklı bölgelerden toplanan, kurutulduktan sonra değirmen yardımıyla toz haline getirilip ekstraksiyonu yapılan *Bovista plumbea* Pers. türünün Agilent 6890 GC'de yapılan analizi sonucunda tespit edilen yağ asidi içerikleri kromatogram (Şekil 1) ve tablo (Tablo 1) halinde verilmiştir.

Tartışma

Çeşitli bölgelerden toplanan ve yenilebilir bir tür olan *Bovista plumbea*'nın tayin edilen yağ asit kompozisyonlarının çok miktarda olandan az miktarda olana doğru sıralanışı aşağıdaki gibidir: Heneikosanoik asit (C21:0) 7.56%, Vaksenik asit (C18:1c) 7.15%, Eikosenoik asit (C20:1) 7.14%, Behenik asit (C22:0) 6.80%, Gamma Linolenik asit (c18:3n6) 6.38%, Linoleik asit (C18:2c) 5.88%, Homo Gamma Linolenik asit (C20:3n6) 3.35%, Stearik asit (C18:0) 3%, Araşidik asit (C20:0) 2.41%, Alfa Linolenik asit (C18:3n3) 2.36%, Palmitik asit (C16:0) 2.01%, Eikodienoik asit (C20:2) 1.84%, Dokosadienoik asit (C22:2) 1.56%, Lignoserik asit (C24:0), 0.44%, Dokosahekzaenoik asit (C22:6) 0.43%, Eikosapentaenoik asit (C20:5) 0.40%, Elaidik asit (C18:1 t) 0.16% (Tablo 1). Buna göre çalışılan türde en çok oranda tespit edilen yağ asitleri C21:0, C20:1, C22:0, C18 ve izomerleridir (C18:0, C18:1c, C18:2c, C18:3n6).

Bovista plumbea'da oransal olarak fazla miktarda bulunan bu yağ asitlerinin hem sağlık hem de endüstriyel açıdan birçok faydalı yönleri bulunmaktadır. Ayrıca hem vücutta hem de birçok besin maddesinde de bulunmaktadır. Heneikosanoik asit, insan sütünde bulunur. Ayrıca eklem kıkırdak sınırı yağlayıcı maddenin fosfolipidlerinin ve kırmızı kan hücresi yağ asitlerinin bir unsurudur (Rose 1997; Li ve ark. 2013). Eikosenoik asit, çeşitli bitki yağlarında bulunan tekli doymamış bir omega-9 yağlı asididir.

Ayrıca, regresif otistik çocuklarda artmış konsantrasyonları olan kırmızı hücre zarında da bulunur (Deshimaru ve ark. 2005; Bu ve ark. 2006). Behenik asit, saç kremlerine ve nemlendiricilerine yumuşatma özelliklerini vermek için sıklıkla kullanılır (Akoh ve Min 2008).

Şekil 1. *Bovista plumbea*'ya ait yağ asiti kromatogramı

(1. C16:0, 2. C18:0, 3. C18:1t, 4. C18:1c, 5. C18:2c, 6. C18:3n6, 7. C20:0, 8. C18:3n3, 9. C20:1, 10. C21:0, 11. C20:2, 12. C22:0, 13. C20:3n6, 14. C22:2, 15. C:20:5, 16. C24:0, 17. C:22:6.)

Tablo 1. *Bovista plumbea*'nın yağ asiti kromatogram değerleri

| Peak | Retention Time (Min) | Area (pA*s) | Area (%) | Name of Fatty acids |
|------|----------------------|-------------|----------|---------------------|
| 1 | 39.812 | 123.61284 | 2.01118 | C16:0 |
| 2 | 43.162 | 184.16034 | 2.99629 | C18:0 |
| 3 | 43.782 | 9.59962 | 0.15619 | C18:1 trans |
| 4 | 44.044 | 439.69403 | 7.15381 | C18:1 cis |
| 5 | 45.357 | 361.44339 | 5.88068 | C18:2 cis |
| 6 | 46.217 | 392.18018 | 6.38076 | C18:3n6 |
| 7 | 46.365 | 148.21259 | 2.41142 | C20:0 |
| 8 | 46.684 | 144.78404 | 2.35563 | C18:3n3 |
| 9 | 47.049 | 438.85617 | 7.14018 | C20:1 |
| 10 | 48.076 | 464.69644 | 7.56060 | C21:0 |
| 11 | 48.307 | 113.15279 | 1.84099 | C20:2 |
| 12 | 48.498 | 417.89294 | 6.79911 | C22:0 |
| 13 | 49.064 | 205.85345 | 3.34923 | C20:3n6 |
| 14 | 50.728 | 96.01342 | 1.56214 | C22:2 |
| 15 | 51.549 | 24.40848 | 0.39713 | C20:5 |
| 16 | 51.793 | 27.25977 | 0.44352 | C24:0 |
| 17 | 55.700 | 26.32914 | 0.42837 | C22:6 |



Stearik asit, ilaç ve kozmetik sanayinde emülgatör olarak, mum yapımında, pastel boya yapımında ve sabunu sertleştirmek amacı ile kullanılır. Ayrıca şekerlemelerde glikoz ile beraber kullanılarak sertleşmeyi sağlar. Vaksenik asit, tüm dokularda bulunur. Gama Linolenik asit, hem bir besleyici hem de terapötik bir ajan olarak bilinir. Linoleik asit, normal meme dokusunun gelişimi için, en azından kısmen, ana eikozanoidlerin biyosentezi için gerekli olan metabolik öncülük sağladığı için gereklidir. Benzer bir gereklilik, östrojenden bağımsız fakat görünüşte östrojene bağımlı kemirgen memesi ve insan göğüs karsinom hücrelerinin in vitro

büyümesi için de geçerlidir. Alfa Linolenik asit, vücudumuzun çeşitli fizyolojik fonksiyonlarını düzgün gerçekleştirebilmesi için ihtiyaç duyulan, esansiyel yağ asitlerinden biridir, en çok bitkisel yağlar ve tohum yağında yaygındır (Loor ve ark .2003).

Sonuç olarak, yenilebilir bir tür olan *Bovista plumbea*'nın insan vücudunun gereksinim duyduğu ve metabolizma tarafından üretilmeyen yağ asitlerini ihtiva etmesi açısından, halkımıza diyet olarak önermeyi uygun bulmaktayız.

Kaynaklar

- Akoh C.C., Min D.B., Food lipids: chemistry, nutrition, and biotechnology 3th ed., Marcel Dekker, New York (2008).
- Aktümsek A., Öztürk C., Kaşık G., *Agaricus bisporus (Lange) Sing.'un Yağ Asidi Bileşimi*, Tr. J. of Biology, 22:75-79 (1998)
- Breitenbach J., Kränzlin F., *Fungi of Switzerland*, Volume 1-5. Verlag Mykologia CH-6000 Luzern 9, Switzerland (1983-2005).
- Bu B., Ashwood P., Harvey D., King I.B., Water J.V., Jin L.W., *Fatty acid compositions of red blood cell phospholipids in children with autism*, Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids, 74(4):215-21 (2006).
- Çolak, A., Faiz, Ö., Sesli, E., *Nutritional Composition of Some Wild Edible Mushrooms.*, Turkish Journal of Biochemistry. 34(1); 25–31 (2009).
- Dähncke R.M., *1200 Pilze*, AT Verlag Aarau, Stuttgart (1993).
- Deshimaru R., Ishitani K., Makita K., Horiguchi F., Nozawa S., *Analysis of fatty acid composition in human bone marrow aspirates*, The Keio Journal of Medicine, 54(3):150-5 (2005).
- Demirel K., Acar A., Ömeroğlu Boztepe G., *Lice (Diyarbakır) Yöresi Makrofungusları*, Mantar Dergisi/The Journal of Fungus, 7(1)29-39 (2016).
- Diez V.A., Alvarez A., *Compositional and nutritional studies on two wild edible mushrooms from northwest Spain*, Food Chemistry, 75:417–422 (2001).
- Doğan H.H., Kaşık G., Öztürk C., Aktaş S., *A Checklist of Aphyllorphorales of Turkey*, Pakistan J. Bot., 37(2): 459-485 (2007).
- Ellis M.B., Ellis J.P., *Fungi Without Gills (Hymenomycetes and Gasteromycetes)*, Chapman and Hill, London (1990).
- Jordan K., *The New Guide to Mushrooms*, Anness Publishing Ltd., Singapore (1996).
- Kaşık G., Öztürk C., Aktas S., Alkan S., Eroğlu G., *Kefe Yaylası (Denizli) Yeneni Mantarları*, Mantar Dergisi/The Journal of Fungus, 4(2) 19-27 (2013).
- Kaya A., *Contributions to the macrofungal diversity of Atatürk Dam Lake basin*, Turk J Bot, 39:162-172(2015).
- Kreisel H., *Grundzüge Eines Natürlichen Systems der Pilze*, Verlag Von J. Cramer, Stuttgart (1969).
- Li D., Lei H., Li Z., Li H., Wang Y., Lai Y., *A novel lipopeptide from skin commensal activates TLR2/CD36-p38 MAPK signaling to increase antibacterial defense against bacterial infection*, PLoS One, 8(3):58288 (2013).
- Longvah T., Deosthale Y. G., *Compositional and nutritional studies on edible wild mushroom from northeast India*, Food Chemistry, 63:331-334 (1998).
- Loor J.J., Lin X., Herbein J.H., *Effects of dietary cis 9, trans 11-18 : 2, trans 10, cis 12-18 : 2, or vaccenic acid (trans 11-18 : 1) during lactation on body composition, tissue fatty acid profiles, and litter growth in mice*, British Journal of Nutrition, 90, 1039–1048 (2003).



- Moser M., *Keys to Agarics and Boleti*, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart (1983).
- Phillips R., *Mushrooms and Other Fungi of Great Britain and Europe*, Pan Books Ltd., London (1981).
- Ribeiro B., de Pinho P.G., Andrade P.B., Baptista P., Valentão P., *Fatty acid composition of wild edible mushrooms species: A comparative study*, Microchemical Journal, 93:29–35 (2009).
- Rose D.P., *Effects of dietary fatty acids on breast and prostate cancers: evidence from in vitro experiments and animal studies*, The American Journal of Clinical Nutrition, 66(6 Suppl):1513S-1522S (1997).
- Servi H., Akata I., Çetin B., *Macrofungi Diversity of Bolu Abant Nature Park (Turkey)*, African Journal of Biotechnology, 9(24):3622-3628 (2010).
- Sesli, E., Denchev, C.M., *Checklists of the myxomycetes, larger ascomycetes, and larger basidiomycetes in Turkey*. 6th edn. Mycotaxon Checklists Online (2014). (<http://www.mycotaxon.com/resources/checkilsts/sesli-v106-checklist.pdf>): 1–136.
- Watling R., *Identification of The Larger Fungi*, Hulton Educational Publications Ltd (1973).
- Winkler R., *2000 Pilze Einfach Bestimmen*, ATV. Aarau, Schweiz (1996).
- Yılmaz A., Yıldız S., Yıldırım İ., Aydın A., *Trabzon'da Mantar Tüketimi ve Tüketim Alışkanlıklarının Belirlenmesi*, Mantar Dergisi/The Journal of Fungus, 7(2)135-142 (2016).
- Yılmaz N., Solmaz M., Türkekul İ., Elmastaş M., *Fatty acid composition in some wild edible mushrooms growing in the middle Black Sea region of Turkey*, Food Chemistry, 99:168-174 (2006).



Evlerde Kullanılan Buzdolaplarının İç Ortamında Havayla Taşınan Fungusların Biyoçeşitliliği

Soner OZDIL¹, Ahmet ASAN^{2,3}, Burhan SEN², Suzan OKTEN⁴

¹Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Edirne

²Trakya Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Edirne

⁴Trakya Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Edirne

Öz: Bu çalışmada, 4 farklı evde kullanılan buzdolaplarının iç ortam havasında bulunan mikrofungal morfolojik ve moleküler identifikasyonu yapılarak, buzdolabı hava ortamındaki mikrofungal çeşitliliğin tesbiti amaçlanmıştır. Araştırma materyali Ekim, Kasım ve Aralık 2012 aylarının ilk ve son haftasında 4 farklı istasyondan (her ay ikişer kez olmak üzere) toplam 24 kez örnekleme yapılarak elde edilmiştir. Hava örnekleme cihazı (Millipore) ile, bir örneklemede 100 L hava aspire edilerek alınmıştır. Örnekleme işleminde Dichloran Glycerol Agar (DG 18) besiyerleri kullanılmıştır. İzolatlar saf kültür olarak elde edilip yatık Potato Dextrose Agar (PDA) besiyerine pasaj alınarak 25°C'de 7 gün inkübe edilmiş ve daha sonra stok kültür olarak 4°C'de saklanmıştır. Elde edilen izolatlar özelliklerine göre PDA, Malt Extract Agar (MEA), Czapek Yeast Extract Agar (CYA), Czapek Yeast Extract Agar with 20% Sucrose (CY20S), Glycerol Nitrate Agar (G25N), Czapeks-Dox Agar (CZ), Creatine Sucrose Agar (CREA), Yeast Extract Sucrose Agar (YES) ve DG 18 besiyerlerine ekilerek morfolojik teşhisleri ilgili monograflardan yararlanılarak yapılmıştır. Moleküler teşhiste ise elde edilen fungal amplikonların dizi analizleri Sanger yöntemiyle, ABI prism Big Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit kullanılarak, ABI Prism 377 DNA Sequencer'da (Applied Biosystems, ABD) belirlenmiştir ve gen bankasındaki benzer sekanslarla BLAST Analizi yapılarak kıyaslanmıştır. Araştırmanın sonucunda teşhisi yapılan mantarların yüzdelik dağılımları % 34 *Penicillium*, % 24 *Cladosporium*, % 17 *Alternaria*, % 11 *Aspergillus* türleri ve % 9 diğer türler olarak tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Havayla taşınan funguslar, ITS gen dizisi, Buzdolabı, RT-Q-PCR, Sanger Dizileme

Biodiversity of Airborne Fungi in the Indoor Environment of Refrigerators Used in Houses

Abstract: In this study, it was aimed to determination of microbial diversity from indoor air flora of refrigerators used at four different homes with conventional and molecular identifications. Research materials were obtained by taking samples twice each months from all refrigerators (totally twenty four times) at first and last weeks of October, November and December months of 2012. Air sampler (Millipore) were used to take samples and 100 L air was aspirated for each sampling. Dichloran Glycerol Agar (DG 18) medium was used on the sampling process. All isolates taken like a pure culture and to incubated at 25°C during 7 days after to passaged on slant Potato Dextrose Agar (PDA) medium.

³Sorumlu yazar: ahmetasan84@gmail.com



After that, these pure cultures at PDA medium were stored at 4°C as storage cultures. Conventional identifications of obtained isolates were diagnosed according to their features by using related monographs after to cultured on PDA, Malt Extract Agar (MEA), Czapek Yeast Extract Agar (CYA), Czapek Yeast Extract Agar with 20% Sucrose (CY20S), Glycerol Nitrate Agar (G25N), Czapeks-Dox Agar (CZ), Creatine Sucrose Agar (CREA), Yeast Extract Sucrose Agar (YES) and DG18 mediums. On the molecular identification, sequence analysis of obtained fungal amplicons were determined on Sanger Method at ABI Prism 377 DNA Sequencer (Applied Biosystems, ABD) by using ABI prism Big Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit and to compared with similar sequences on gene bank by BLAST Analysing. As a result of this study, it was identified what 34 % *Penicillium*, 24 % *Cladosporium*, 17 % *Alternaria*, 11 % *Aspergillus* species and 9 % other species as a percentage distribution of obtained fungi isolates.

Key words: Airborne fungus, ITS gene region, Refrigerator, RT-Q-PCR, Sanger Sequencing

Giriş

Fungal yapıların, özellikle sporların uzak mesafelere kadar ulaşabilmesinin en önemli etkenlerden biri hava yolu ile taşınmalarıdır. Aslında hava, fungal gelişim için uygun bir ortam değildir. Ancak rüzgar, insan faaliyetleri, hayvanlar v.s. sayesinde çeşitli kaynaklardan atmosfere nüfuz eden fungal yapılar, uzun mesafelere kadar taşınabilmektedir (Sen ve Asan, 2009; Okten ve Ark., 2007). Hem iş yerlerinde hem de evlerde havayla taşınan biyolojik ajanlara maruz kalınmasının; enfeksiyon hastalıkları, akut toksik etkiler, alerji ve kanser gibi önemli halk sağlığı hastalıkları ile ilişkilendirilmesinden bu yana, iç ortam havasında bulunan funguslara karşı olan ilgi oldukça artmış bulunmaktadır (Simon-Nobbe ve Ark., 2008; Brett ve Ark., 2006). Sıcaklık, mantarların gelişimi için çok önemli bir faktör olmasına rağmen, 20°C'nin altında da *Penicillium* spp. ve *Cladosporium* spp. gibi soğuğu tölere edebilen (psikrotrof) mantarların üremesi mümkündür (Atanda ve Ark., 2011). Çalışmamızda, buzdolaplarının iç ortam havasında bulunan mikrofungusların morfolojik ve moleküler tanısı yapılarak, buzdolabı hava ortamındaki fungal çeşitliliğin tesbiti amaçlanmıştır.

Türkiye'de, iç hava funguslarıyla ilgili çeşitli çalışmalar olmakla birlikte (Sen ve Asan, 2009; Okten ve Ark., 2007; Çolakoğlu, 2004;

Kadaifçiler ve Ark., 2013), yapılan literatür araştırmasına göre, direkt buzdolabı ortam havasını inceleyen araştırmalar çok az olsa da, vardır (Altunalmaz ve Ark., 2012; Dogen ve Ark., 2013).

Materyal ve Metot

Materyal

Araştırma materyali, 4 farklı evde kullanılan buzdolaplarının iç ortam havasından Tablo 1'de belirtilen şekilde, Ekim 2012, Kasım 2012 ve Aralık 2012 aylarının ilk haftasında ve son haftasında, her ay 2'şer kez (her bir istasyondan) olmak üzere toplam 24 kez örnekleme yapılarak temin edilmiştir.

Metot

Araştırmada seçilen evlerdeki buzdolaplarının iç ortam havasından mikrobiyal hava örnekleme cihazı (Millipore) kullanarak, bir örneklemede 100 L olmak üzere hava aspire edilmiştir. Örnekleme işleminde Dichloran Glycerol Agar (DG 18) besiyerleri kullanılmış ve örnek alma işleminden sonra laboratuvar ortamına getirilerek 25°C'lik etüvde inkübe edilmiştir. Gelişen mikrofungus kolonilerinden tek spor izolasyonu [Choi ve Ark., 1999] yapılarak saf kültür elde edilip, izolatlar yatkı Patates Dekstroz Agar (PDA) besiyerine pasajlanarak 4°C'de saklanmıştır.



Tablo 1. Araştırma için seçilen evlerdeki buzdolaplarının iç ortam havasından aspire edilen hava miktarı.

| İstasyon | Örnek zamanı ve aspire edilen hava miktarı (L) | | | Toplam(L) |
|-------------------|--|------------|-------------|-------------|
| | Ekim 2012 | Kasım 2012 | Aralık 2012 | |
| 1. Ev | 100 | 100 | 100 | 300 |
| 2. Ev | 100 | 100 | 100 | 300 |
| 3. Ev | 100 | 100 | 100 | 300 |
| 4. Ev | 100 | 100 | 100 | 300 |
| Toplam (L) | 400 | 400 | 400 | 1200 |

DG 18 besiyerinin içerisinde olan mikrofungus kolonilerinin çok fazla yayılmalarını engelleyen dichloran maddesi ile bakterilerin gelişmelerini inhibe eden chloramphenicol ve chlortetracycline antibiyotikleri bulunur (Samson ve Ark., 2010). Dichloran maddesi, Rose Bengal Agar'daki Rose Bengal Boyası'yla aynı fonksiyonu yerine getirir.

Mikrofungusların Morfolojik-Koloniyal Tanısı

Dematiaceous Hyphomycetes türlerinin teşhisi için, Ellis'in (1971)'in "Dematiaceous Hyphomycetes"; *Alternaria* spp. türlerinin teşhisi için Simmons'un (2007) "*Alternaria an Identification Manual*" ve *Cladosporium* spp. türlerinin teşhisi için Crous ve Ark. (2007)'nin "*The Genus Cladosporium and Similar Dematiaceous Hyphomycetes*" adlı eserleri kullanılmıştır. *Penicillium* spp. cinsine ait türlerin tanımlanması için Czapek Yeast Autolysate Agar (CYA), Yeast Ekstrat Sukroz (YES), % 25 Gliserol Nitrat Agar (G₂₅N), Kreatin Sukroz (CREA) Agar ve Malt Ekstrat Agar (MEA) besiyerleri ve Pitt'in eserleri (1979 ve 2000) kullanılmıştır. *Aspergillus* spp. ve *Penicillium* spp. türlerinin teşhisi için Samson ve Ark. (2010) "*Food and Indoor Fungi*" adlı eserinden faydalanılmıştır. *Aspergillus* spp. türlerinin üretilmesinde CYA, % 20 Sukroz içeren Czapek Yeast Ekstrat Agar (CY₂₀S), Czapek Agar (CZ), DG-18 ve MEA besiyerleri kullanılmıştır. *Aspergillus* spp. için ayrıca Raper & Fennell'in (1965) ve Klich'in (2002) eserlerinden de yararlanılmıştır. Mikrofunguslar cins seviyesinde, Barnett ve Hunter'ın (1999)

"*Illustrated genera of imperfect fungi*" eseri ve Hasenekoğlu'nun (1991) "*Toprak Mikrofungusları*" kullanılarak teşhis edilmiştir. Fungal inceleme ortamı olarak ise lakto pamuk mavisini (Lacto-cotton blue – LCB- Mounting Medium (Sime ve Ark., 2002) kullanılmıştır.

Mikrofungusların Moleküler Tanısı DNA İzolasyonu

DNA İzolasyonu için Biospeedy Fungal DNA İzolasyon Kiti kullanılmıştır. DNA kalite kontrolü için; MSP-100 Mikro Spektrofotometre (Inovia Teknoloji Ltd. Şti., Türkiye) kullanılarak DNA örneklerinin saflıkları (ABS₂₆₀/ABS₂₈₀) ve konsantrasyonları ölçülmüştür. Miktarı en az 20 ng/µl olan ve ABS₂₆₀/ABS₂₈₀ değeri 1,6-2,0 aralığında olan DNA izolatları analizlerde kullanılmıştır.

Gerçek Zamanlı (Real Time) PCR (Q-PCR)

Q-PCR için Biospeedy Fungal Çeşitlilik Çalışma Kiti (Bioeksen, Türkiye) kullanılmıştır. Kit (Conrad ve Ark., 2012) tarafından tanımlanan, 18S rRNA'nın 3' ucu kısmi dizisi, ITS1, 5.8S rRNA ve ITS2 bölgesinin tümü ve 28S rRNA'nın 5'ucu kısmi dizisi bölgesini hedefleyen ileri 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3' ve geri 5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3' primerlerini içermektedir. Bütün reaksiyonlarda Roche Light Cycler Nano (Roche Diagnostics, Almanya) kullanılmıştır. Reaksiyon 1.5 mM MgCl₂, 0.2 mM dNTP mix, 1x Reaksiyon Tamponu, 0.1U Fast Start Taq DNA Polimeraz, 1x SybrGreen-I, 5 ng/µl kalıp DNA ve her bir primerden 0.5 µM içermektedir.



Cihazda, primer çiftine özgü optimizasyonu sağlanmış Tablo 2'deki ısı döngüsü programı uygulanmıştır. Q-PCR sırasında sadece istenilen ürünün çoğaltıldığını belirlemek için 55°C-95°C arasında erime eğrisi analizi yapılmıştır. Q-PCR dataları Roche LightCycler NanoSoftware 1.0'da analiz edilmiştir.

Dizi Analizi

Elde edilen Fungal ampikonların dizi analizleri Sanger yöntemiyle, ABI prism Big Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit kullanılarak, ABI Prism 377 DNA Sequencer'da (Applied Biosystems, ABD)

belirlenmiştir. Dizi analizi için Bioeksen firmasından hizmet alınmıştır. Her bir fungal örnek için elde edilen diziler Finch programıyla analiz edilmiştir. Elde edilen dizilerin DNA Data bankasında en çok benzer olduğu diziler NCBI BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>) programı kullanılarak belirlenmiştir. DNA data bankasındaki mevcut dizilere % 97 ve üzeri benzerlik gösteren diziler, benzer dizilime sahip organizma ile aynı tür olarak kabul edilmiştir. % 70-97 arasında benzerlik gösteren türler ise, hem morfolojik özellikleri hem de ITS (Schoch ve Ark., 2012) bölgelerinin en çok benzediği organizma göz önüne alınarak sınıflandırılmıştır.

Tablo 2. Isı döngüsü programı

| Tespit Formatı | | Reaksiyon Hacmi | | |
|----------------------|--------------|---------------------|------------|-------------------|
| SYBR Green | | 20 µl | | |
| Programlar | | | | |
| Program İsmi | Döngü Sayısı | Analiz Modu | | |
| Ön-İnkübasyon | 1 | | | |
| Çoğalma | 35 | Sayım | | |
| Erime Eğrisi | 1 | Erime Eğrisi | | |
| Soğuma | 1 | | | |
| Sıcaklık Hedefleri | | | | |
| Hedef (°C) | Okuma Modu | Bekletme (hh:mm:ss) | Hız (°C/s) | Okuma (°C başına) |
| Ön İnkübasyon | | | | |
| 95 | | 00:10:00 | 4,8 | – |
| Çoğalma | | | | |
| 95 | | 00:00:20 | 4,8 | – |
| 55 | | 00:00:20 | 2,5 | – |
| 72 | Tek | 00:00:25 | 4,8 | – |
| Erime Eğrisi | | | | |
| 95 | | 00:00:05 | – | – |
| 65 | | 00:01:00 | – | – |
| 98 | Sürekli | – | 1 | 10 |
| Soğuma | | | | |
| 40 | Tek | 00:00:10 | 2,5 | – |



Bulgular

4 farklı buzdolabı havasından alınan örneklemeler sonucunda teşhis edilemeyen türler ve kontaminasyonlar hariç toplam 1680 CFU/m³ mikrofungus izole edilmiştir (Tablo 3). Bu koloniler içinde *Penicillium* spp. türleri (% 34) başta olmak üzere sırasıyla *Cladosporium* spp. (% 24), *Alternaria* spp. (% 17), *Aspergillus* spp.

(% 11) ve diğer türler (% 9) tespit edilmiştir. Ayrıca tüm izolatların % 4'ünde kontaminasyon görülmüş ve % 1'i teşhis edilememiştir. Toplam 6 *Alternaria* spp. izolatından 3'ünün tür düzeyinde teşhisi yapılmış, diğer 3'ünün ise yapılamamıştır. *Cladosporium* cinsine ait toplam 13 farklı izolatın 4'ünün tür düzeyinde teşhisi yapılmış, 9'unun ise yapılamamıştır.

Tablo 3. Türlerin istasyonlardaki koloni miktarları

| Tür ismi | İstasyonlara Göre Dağılımları (CFU/m ³) | | | | TOPLAM |
|-------------------------------------|---|-------------|-------------|-------------|--------|
| | 1. istasyon | 2. istasyon | 3. istasyon | 4. istasyon | |
| <i>Alternaria</i> spp. | 40 | 10 | 70 | 130 | 250 |
| <i>Alternaria alternata</i> | 10 | 10 | 20 | 60 | 110 |
| <i>Alternaria tenuissima</i> | 20 | 0 | 20 | 20 | 60 |
| <i>Alternaria citri</i> | 0 | 0 | 20 | 30 | 50 |
| <i>Alternaria</i> sp1 | 0 | 0 | 0 | 20 | 20 |
| <i>Alternaria</i> sp2 | 0 | 0 | 10 | 0 | 10 |
| <i>Alternaria</i> sp3 | 10 | 0 | 0 | 0 | 10 |
| <i>Aspergillus</i> spp. | 60 | 10 | 60 | 60 | 190 |
| <i>Aspergillus flavus</i> | 10 | 0 | 0 | 0 | 10 |
| <i>Aspergillus fumigatus</i> | 0 | 0 | 10 | 0 | 10 |
| <i>Aspergillus niger</i> | 20 | 0 | 0 | 20 | 40 |
| <i>Aspergillus niveoglauca</i> | 0 | 10 | 10 | 10 | 30 |
| <i>Aspergillus ochraceus</i> | 10 | 0 | 0 | 0 | 10 |
| <i>Aspergillus terreus</i> | 0 | 0 | 0 | 10 | 10 |
| <i>Aspergillus tubingensis</i> | 20 | 0 | 0 | 0 | 20 |
| <i>Aspergillus versicolor</i> | 0 | 0 | 10 | 0 | 10 |
| <i>Aspergillus wentii</i> | 0 | 0 | 30 | 20 | 50 |
| <i>Cladosporium</i> spp. | 80 | 120 | 150 | 70 | 420 |
| <i>Cladosporium cladosporioides</i> | 20 | 10 | 60 | 30 | 120 |
| <i>Cladosporium grevilleae</i> | 10 | 10 | 0 | 0 | 20 |
| <i>Cladosporium macrocarpum</i> | 10 | 0 | 0 | 0 | 10 |
| <i>Cladosporium sphaerospermum</i> | 0 | 0 | 20 | 0 | 20 |
| <i>Cladosporium</i> sp1 | 0 | 0 | 10 | 10 | 20 |
| <i>Cladosporium</i> sp2 | 0 | 0 | 10 | 0 | 10 |
| <i>Cladosporium</i> sp3 | 20 | 40 | 10 | 20 | 90 |
| <i>Cladosporium</i> sp4 | 10 | 30 | 0 | 0 | 40 |
| <i>Cladosporium</i> sp5 | 0 | 10 | 0 | 0 | 10 |
| <i>Cladosporium</i> sp6 | 0 | 20 | 0 | 0 | 20 |
| <i>Cladosporium</i> sp7 | 0 | 0 | 10 | 0 | 10 |
| <i>Cladosporium</i> sp8 | 10 | 0 | 20 | 0 | 30 |
| <i>Cladosporium</i> sp9 | 0 | 0 | 10 | 10 | 20 |
| <i>Penicillium</i> spp. | 130 | 150 | 110 | 210 | 600 |
| <i>Penicillium adametzii</i> | 0 | 0 | 0 | 10 | 10 |



Tablo 3. devamı

| Tür ismi | İstasyonlara Göre Dağılımları (CFU/m ³) | | | | TOPLAM |
|-------------------------------------|---|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | 1. istasyon | 2. istasyon | 3. istasyon | 4. istasyon | |
| <i>Penicillium aurantiogriseum</i> | 0 | 0 | 0 | 10 | 10 |
| <i>Penicillium brevicompactum</i> | 0 | 0 | 30 | 10 | 40 |
| <i>Penicillium charlesii</i> | 10 | 0 | 0 | 0 | 10 |
| <i>Penicillium citrinum</i> | 40 | 0 | 0 | 10 | 50 |
| <i>Penicillium commune</i> | 30 | 10 | 20 | 0 | 50 |
| <i>Penicillium digitatum</i> | 0 | 0 | 10 | 20 | 30 |
| <i>Penicillium freii</i> | 0 | 0 | 10 | 0 | 10 |
| <i>Penicillium glabrum</i> | 0 | 20 | 0 | 0 | 20 |
| <i>Penicillium granulatum</i> | 0 | 20 | 0 | 0 | 20 |
| <i>Penicillium griseofulvum</i> | 30 | 10 | 0 | 0 | 40 |
| <i>Penicillium olsonii</i> | 0 | 10 | 0 | 0 | 10 |
| <i>Penicillium pimateouiense</i> | 0 | 10 | 0 | 0 | 10 |
| <i>Penicillium sanguifluum</i> | 0 | 0 | 0 | 10 | 10 |
| <i>Penicillium sp1</i> | 0 | 0 | 10 | 0 | 10 |
| <i>Penicillium sp2</i> | 20 | 10 | 20 | 70 | 120 |
| <i>Penicillium sp3</i> | 0 | 0 | 0 | 10 | 10 |
| <i>Penicillium sp4</i> | 0 | 0 | 10 | 0 | 10 |
| <i>Penicillium sp5</i> | 0 | 60 | 0 | 60 | 120 |
| Diğer Türler | 30 | 90 | 30 | 10 | 160 |
| <i>Acremonium implicatum</i> | 0 | 10 | 0 | 0 | 10 |
| <i>Acremonium sp.</i> | 10 | 20 | 0 | 0 | 30 |
| <i>Cochliobolus australiensis</i> | 20 | 0 | 0 | 0 | 20 |
| <i>Geosmithia pallida</i> | 0 | 20 | 0 | 0 | 20 |
| <i>Lewia infectoria</i> | 0 | 0 | 20 | 0 | 20 |
| <i>Talaromyces verruculosus</i> | 0 | 0 | 10 | 0 | 10 |
| <i>Trichoderma longibrachiatum</i> | 0 | 0 | 0 | 10 | 10 |
| <i>Trichotesium roseum</i> | 0 | 40 | 0 | 0 | 40 |
| Kontaminasyon | 0 | 40 | 0 | 30 | 70 |
| Tanısı yapılamayan izolatlar | 0 | 10 | 0 | 10 | 20 |
| TOPLAM | 340 | 430 | 420 | 520 | 1710 |

Q-PCR sırasında sadece istenilen ürünün çoğaltıldığını belirlemek için 55°C - 95°C arasında erime eğrisi analizi yapılmıştır. Erime sıcaklığı 80-85 °C aralığında olan ürünler spesifik ITS ampikonları, 74-76 °C olan ürünler spesifik olmayan primer dimer ampikonları olarak değerlendirilmiştir. Bu sıcaklık aralıkları dışında, spesifik olmayan bir ampikon türü gözlemlenmemiştir.

DNA dizi analizi öncesi, 80-85 °C aralığında spesifik ITS ampikonunun içeren PCR ürünleri, reaksiyonlarda hedef ürün dışında

bulunan nükleotidler, floresan boyalar, primerler, primer dimerler vb. bileşenlerden PCR ürün saflaştırılması ile ayrıştırılmıştır. Saflaştırma için silika DNA kolonları, DNA bağlama tamponu (4M Guanidinium thiocyanate, %50 izopropanol, 15mM Tris-Cl pH 8.0), yıkama tamponu (20 mM NaCl, 2 mM Tris-HCl, pH 7.5; 80% v/v Etanol) ve çözücü olarak moleküler ölçekli su kullanılmıştır.

Morfolojik teşhis sonucunda tahmin edilen türler ile moleküler teşhis sonucunda elde edilen türler arasındaki karşılaştırma yapılarak tür düzeyinde teşhis yapılmıştır (Tablo 4).



Tablo 4. Karşılaştırmalı olarak morfolojik ve moleküler teşhisler

| Morfolojik Tanı | Koleksiyon No | GenBank Accession Numaraları | Closest Blast hit (% identity/%coverage) |
|-------------------------------------|---------------|------------------------------|--|
| <i>Alternaria alternata</i> | 28.3H1 | KY859400 | <i>A.alternata</i> JF973293.1 (549/549) |
| <i>A.alternata</i> | 33.1E42 | KY859401 | <i>A.alternata</i> GQ220708.1 (526/526) |
| <i>A.alternata</i> | 40.1N31 | KY859403 | <i>A.alternata</i> GQ169728.1 (565/565) |
| <i>A.alternata</i> | 91.2B2 | KY859360 | <i>A.alternata</i> JF817259.1 (563/565) |
| <i>A.citri</i> | 57.1N24 | KY859404 | <i>A.citri</i> AY154705.1 (1488/1488) |
| <i>Alternaria sp.</i> | 37.1E8 | KY859402 | <i>L.infectoria</i> AY154692.1 (579/579) |
| <i>Alternaria sp.</i> | 58.6E5 | KY859405 | <i>A.tenuissima</i> FJ827038.1 (552/552) |
| <i>Alternaria sp.</i> | 74.6E6 | KY859406 | <i>A.tenuissima</i> EF432264.1 (571/571) |
| <i>Aspergillus.flavus</i> | 53.2H2 | KY859367 | <i>A.flavus</i> JX157882.1 (576/576) |
| <i>A.fumigatus</i> | 97.6E4 | KY859370 | <i>A.fumigatus</i> JF729022.1 (597/597) |
| <i>A.niger</i> | 21.1N20 | KY859363 | <i>A.niger</i> EF121326.1 (538/538) |
| <i>A.niger</i> | 34.5H2 | KY859364 | <i>A.niger</i> GU338398.1 (569/569) |
| <i>A.ochraceus</i> | 64.3H12 | KY859368 | <i>A.ochraceus</i> EU273559.1 (559/559) |
| <i>A.terreus</i> | 65.1N18 | KY859369 | <i>A.terreus</i> FJ011538.1 (578/578) |
| <i>A.versicolor</i> | 98.3E5 | KY859361 | <i>A.versicolor</i> AJ937755.1 (524/540) |
| <i>A.wentii</i> | 103.1E19 | KY859371 | <i>A.wentii</i> FR670319.1 (568/568) |
| <i>Aspergillus sp.</i> | 36.2H1 | KY859365 | <i>A.tubingensis</i> JX287371.1 (499/499) |
| <i>Aspergillus sp.</i> | 39.2B16 | KY859366 | * <i>A.niveoglauca</i> KC009789.1 (527/527) |
| <i>Cladosporium cladosporioides</i> | 2.1E32 | KY859391 | <i>C.cladosporioides</i> HM008931.1 (515/515) |
| <i>C.cladosporioides</i> | 11.1N28 | KY859392 | <i>C.cladosporioides</i> AF538619.2 (524/524) |
| <i>C.cladosporioides</i> | 99.2H23 | KY859398 | <i>C.cladosporioides</i> JQ936096.1 (556/556) |
| <i>C.cladosporioides</i> | 104.1E24 | KY859399 | <i>C.cladosporioides</i> HM852082.1 (521/521) |
| <i>C.macrocarpum</i> | 50.3H10 | KY859394 | <i>C.macrocarpum</i> KC311478.1 (515/515) |
| <i>C.sphaerospermum</i> | 81.6E3 | KY859396 | <i>C.sphaerospermum</i> JQ768326.1 (536/536) |
| <i>C.sphaerospermum</i> | 95.4E7 | KY859397 | <i>C.sphaerospermum</i> JN942901.1 (509/509) |
| <i>Cladosporium sp.</i> | 75.2B4 | KY859395 | * <i>C.grevilleae</i> JF770450.1 (574/574) |
| <i>Drechslera australiensis</i> | 45.1H6 | KY859393 | <i>Cochliobolus australiensis</i> HQ608034.1 (549/549) |
| <i>Penicillium adametzii</i> | 62.2N11 | KY859389 | <i>P.adametzii</i> JN887322.1 (490/490) |
| <i>P.aurantiogriseum</i> | 14.1N7 | KY859377 | <i>P.aurantiogriseum</i> JF311946.1 (522/522) |



Tablo 4. devamı

| Morfolojik Tanı | Koleksiyon No | GenBank Accession Numaraları | Closest Blast hit (% identity/%coverage) |
|----------------------------|----------------|------------------------------|--|
| <i>P.brevicompectum</i> | 1.3N3 | KY859372 | <i>P.brevicompectum</i> KC009796.1 (550/550) |
| <i>P.brevicompectum</i> | 22.2E7 | KY859380 | <i>P.brevicompectum</i> JX270584.1 (518/518) |
| <i>P.brevicompectum</i> | 23.2E5 | KY859381 | <i>P.brevicompectum</i> JQ781717.1 (517/517) |
| <i>P.citrinum</i> | 12.2H4 | KY859375 | <i>P.citrinum</i> EU645682.1 (460/460) |
| <i>P.citrinum</i> | 31.2H6 | KY859384 | <i>P.citrinum</i> JQ724445.1 (464/464) |
| <i>P.citrinum</i> | 66.4H1 | KY859390 | <i>P.citrinum</i> FJ765031.1 (480/480) |
| <i>P.citrinum</i> | 61.2N6 | KY859362 | <i>P.citrinum</i> JQ776540.1 (276/312) |
| <i>P.commune</i> | 19.6H1 | KY859379 | <i>P.commune</i> JX436464.1 (558/558) |
| <i>P.digitatum</i> | 13.5N1 | KY859376 | <i>P.digitatum</i> AY924259.1 (556/556) |
| <i>P.glabrum</i> | 6.6B1 | KY859373 | <i>P.glabrum</i> JN887323.1 (555/555) |
| <i>P.granulatum</i> | 10.1B9 | KY859374 | <i>P.granulatum</i> JN903645.1 (564/564) |
| <i>P.griseofulvum</i> | 24.3H7 | KY859382 | <i>P.griseofulvum</i> GU566224.1 (564/564) |
| <i>P.olsonii</i> | 41.4B3 | KY859385 | <i>P.olsonii</i> JQ663620.1 (561/561) |
| <i>Penicillium sp.</i> | 17.3N1 | KY859378 | * <i>P.sanguifluum</i> JN617681.1 (541/541) |
| <i>Penicillium sp.</i> | 30.6B3 | KY859383 | * <i>P.pimiteouiense</i> FJ624254.1 (530/530) |
| <i>Penicillium sp.</i> | 42.3H8 | KY859386 | <i>P.charlesii</i> FJ430768.1 (557/557) |
| <i>Penicillium sp.</i> | 44.2E9 | KY859387 | <i>Talaromyces verruculosus</i> HQ608025.1 (571/571) |
| <i>Penicillium sp.</i> | 59.1E2 | KY859388 | <i>P.freii</i> AJ005479.1 (564/564) |
| <i>Trichoderma sp.</i> | 3.6N2 | KY859408 | <i>T.longibrachiatum</i> HQ717798.1 (600/600) |
| <i>Trichotesium roseum</i> | 52.1B12 | KY859410 | <i>T.roseum</i> JQ434580.1 (618/618) |
| Tanısı yapılamadı | 26.1B16 | KY859407 | <i>A.implicatum</i> FN706541.1 (535/535) |
| Tanısı yapılamadı | 93.5B3 | KY859409 | <i>G.pallida</i> HF546292.1 (597/597) |
| <i>Aspergillus sp.</i> | 89.4B7 | | Kontaminasyon |
| <i>Cladosporium sp.</i> | 18.4B1 | | Kontaminasyon |
| <i>Cladosporium sp.</i> | 25.1B10 | | Kontaminasyon |
| Teşhis edilemedi | 29.4B8 | | Kontaminasyon |
| Teşhis edilemedi | 90.2N3 | | Kontaminasyon |
| Teşhis edilemedi | 5.2B14 | | Kontaminasyon |

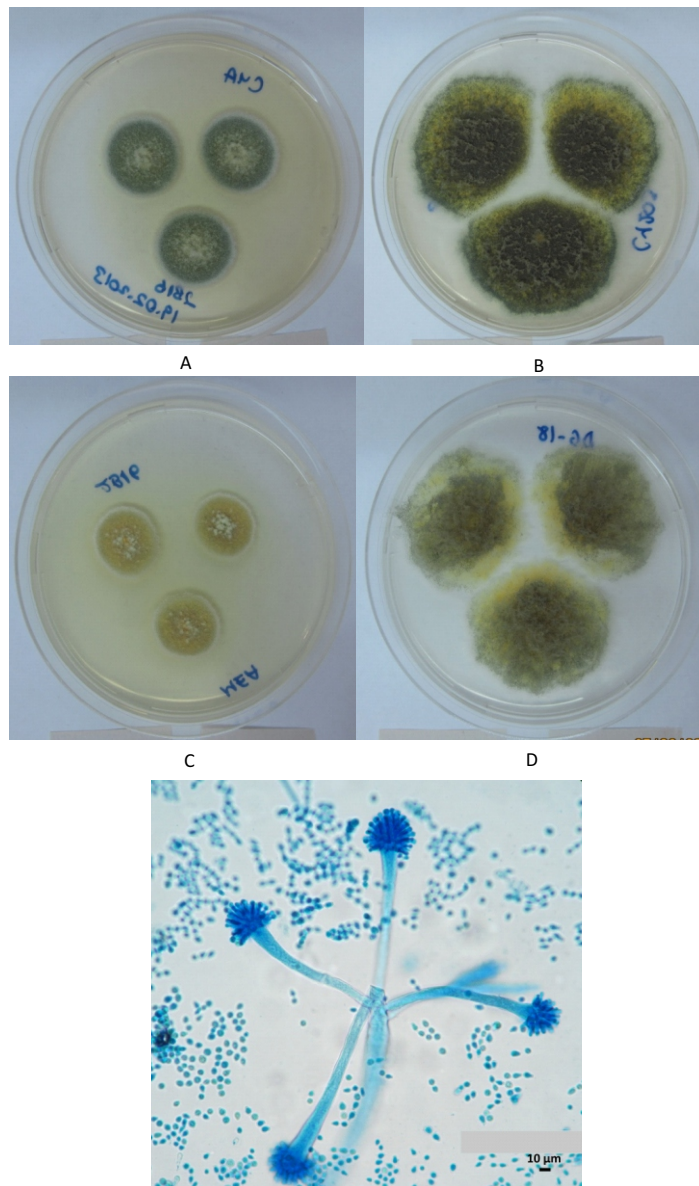
*ITS sekansı bakımından Türkiye için yeni kayıt (4 tür) (Asan, 2004; Asan ve Ark., 2016)



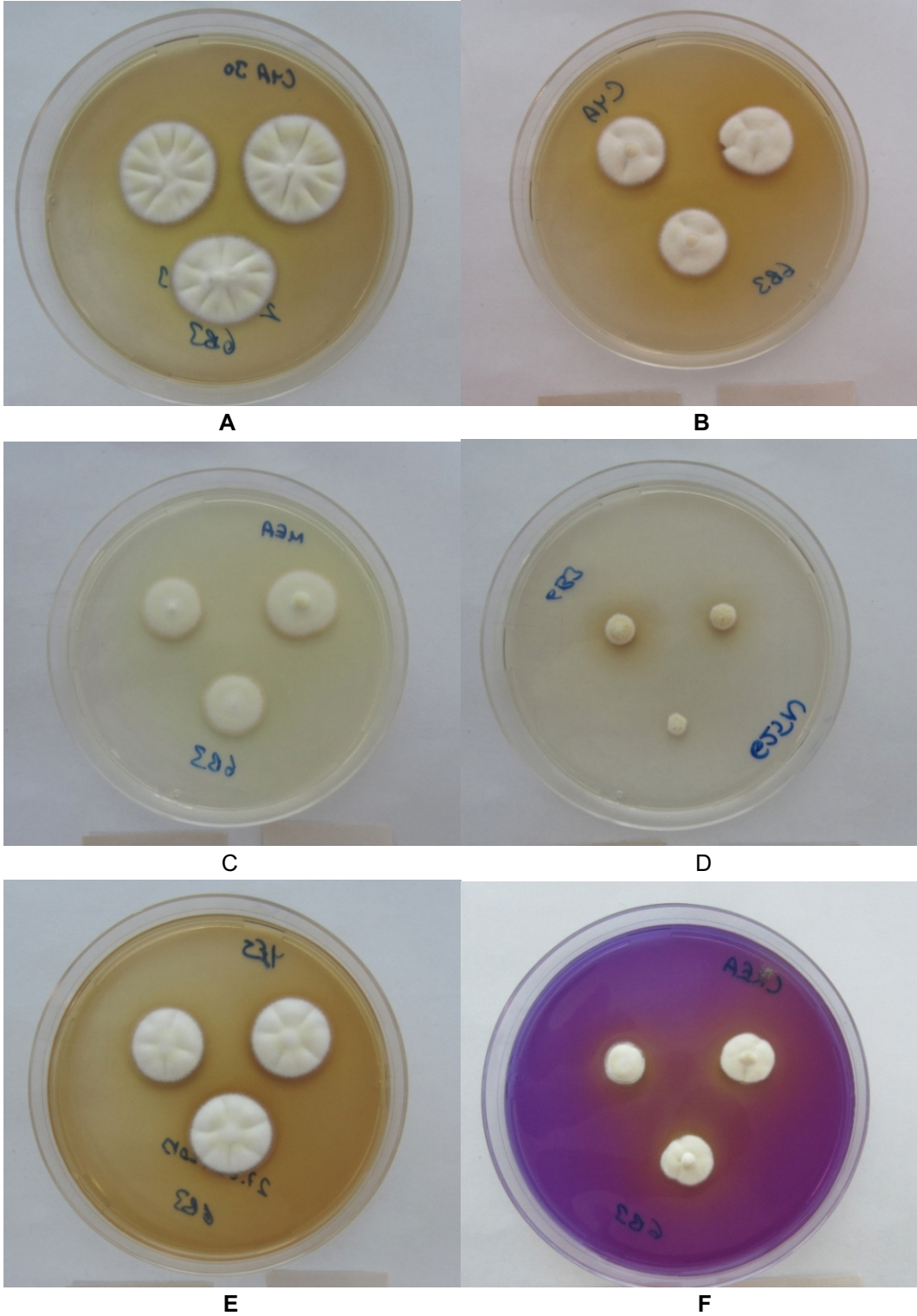
Morfolojik ve moleküler analizin sonucunda 2 farklı mikrofungus türünün teşhisi yapılamamış olup, 18 farklı mikrofungus izolatının morfolojik olarak cins düzeyinde teşhisleri yapılmış ve bu teşhisler Blast Analizi ile de desteklenmiştir.

Morfolojik ve moleküler analizlerin ardından yapılan tür teşhislerinin sonucunda (cins düzeyinde yapılanlar hariç) *Alternaria* cinsine ait toplam 3, *Aspergillus* cinsine ait

toplam 9, *Cladosporium* cinsine ait toplam 4, *Penicillium* cinsine ait toplam 14 farklı tür tespit edilmiştir. Bunların yanında *Acremonium* sp., *Cochliobolus australiensis*, *Geosmithia pallida*, *Lewia infectoria*, *Talaromyces verruculosus*, *Trichoderma longibrachiatum* ve *Trichotesium roseum* türlerinin teşhisi yapılmıştır. Bunlardan Türkiye için yeni kayıt olanlardan 2 tanesiyle ilgili fotoğraflar verilmiştir (Şekil 1 ve 2).



Şekil 1. *Aspergillus niveoglacus* (7 günlük koloni görünümü); CYA 37 °C'de üreme yok. A. CYA B. CY20S C. MEAD. DG-18 E. Mikroskopik görüntüsü (x400)



Şekil 2. *Penicillium pimateouiense* (7 günlük koloni görünümü); A. CYA 30°C B. CYA C. MEA D. G25N E. YES F. CREA



Tartışma

Buzdolabı sıcaklığında üreyebilen ve gıdaların bozulmasına neden olan funguslara her zaman rastlamak mümkündür [www.mikrobiyoloji.org, Kavanagh, 2011]. Bizim çalışmamız da bu fikri desteklemektedir. Çalışma boyunca buzdolaplarından toplam 11 farklı fungus cinsi izole edilmiştir. İzole edilen fungus sayısının bu kadar çok olması aslında fungusların canlı kalabildiği sıcaklık aralığının ne kadar geniş olduğunu göstermektedir [Pietikäinen ve Ark., 2005]. Gıdaları saklamak için kullanılan buzdolaplarında bulunan funguslar genellikle dolap kaynaklı olmayıp, gıdalar ve hava hareketleriyle gelmiş olabilirler. Çalışmamızda izole edilen *Aspergillus spp.* içinde *A.wentii* ve *A. niger*'in fazla görülmesini (Tablo 3), türlerin gıdalar üzerinde yaşayabilme özelliğinden kaynaklandığını söyleyebiliriz; çünkü *A.wentii* ve *A. niger*, amilaz, sellobiaz, katalaz, lipaz, proteaz, maltaz, vs. gibi çeşitli enzimlere sahiptir [www.mikrobiyoloji.org]. En fazla izole edilen ikinci fungal cins *Cladosporium spp.* (420 CFU/m³), üçüncü cins ise *Alternaria spp.* (300 CFU/m³)'dir. Her iki cinsin bitki patojeni olması ve organik gıdalar üzerinde bulunma özellikleri bu iki cinsin buzdolabı havası ortamına meyve ve sebzelerle taşınmış olması olasılığını arttırmaktadır [Brensch ve Ark., 2012, El-Alwany 2015].

Uygun saklama sıcaklıklarında dahi, bozulmaya neden olan veya patojen mikroorganizmalar düşük sıcaklıklarda büyür ve raf ömrünü kısaltır veya tüketici sağlığını etkiler [Irkin, R. 2010]. Altunatmaz ve Ark. (2012)'nin yapmış oldukları çalışmada da en fazla izole edilen cins *Penicillium spp.*'dur (600 CFU/m³). *Penicillium spp.* türlerinin 4°C'de üreyebilme yetenekleri, bu sonucun tesadüf olmadığını göstermektedir. Buzdolaplarında fungusların bulunması, sağlık açısından da risk oluşturmaktadır. Nitekim, Brunetti ve Ark. (2006), patojenik fungal sporların buzdolabı gibi ekipmanlarda bulunabileceğini belirtmişlerdir. Ayrıca Kowalski (1998), fungal sporların nem ve besin buldukları zaman, buzdolabı bobinlerinde çimlenip üreyebileceklerini belirtmiştir. İlave olarak, Baumgardner (2016), küflerin buzdolabı

kapı lastiklerinde bulunabileceğini belirtmiştir. Dolayısıyla fungal sporlar buralardan havaya karışabilir ve kapı açıldıkça buzdolabı içine de girebilir. Thrasher (2016) ise, buzdolabı kompressörlerden elde ettikleri tozlardan çeşitli mikotoksinler tespit etmişlerdir; bu durum da orada fungusların bulunduğunu göstermektedir.

Alternaria sp1, *Cladosporium sp1*, *Cladosporium sp2* ve *Cladosporium sp3*'e baktığımızda, "BLAST Analizi" sonucunda en yüksek oranda benzerlik gösteren türler için maksimum teşhis değerleri sırasıyla % 94, % 95, % 92 ve % 96 olarak bulunmuştur (Tablo 5). Dolayısıyla, sekans analizi sonucunda elde edilen baz sayısının yetersiz ya da baz dizisinin verimsiz olmasından dolayı, teşhisi yapılmak istenen örneklerle Gen Bankasındaki örneklerin benzerlik oranları düşüktür. Tanımlanması yapılan fungal türleri değerlendirdiğimizde, hemen hemen tüm cinslerinin morfolojik tanımlama ile yapılan tür teşhisleri ile moleküler yöntemler ile yapılan tür teşhislerinin benzer olduğu görülmektedir. Ancak morfolojik olarak tür tanımı yapılamamış funguslarda moleküler yöntemler daha etkili olmuş ve tür tanımlanması gerçekleştirilebilmiştir. Buna rağmen bazı cinslerde moleküler yöntemlerin de yetersiz kaldığı görülmüştür.

Alternaria sp1, *Cladosporium sp1*, *Cladosporium sp2* ve *Cladosporium sp3* dışındaki teşhis edilemeyen diğer *Alternaria spp.* ve *Cladosporium spp.* izolatlarına baktığımızda ise, "BLAST Analizi" sonucunda MI (Maksimum teşhis) %'si tür düzeyinde teşhise uygun olmasına rağmen, sözkonusu bu izolatların MI %'si, birden fazla farklı türle aynı olduğu tespit edilmiştir (Tablo 5). Morfolojik incelemeler sonucunda da bu duruma bir çözüm getirilememesinden dolayı bu izolatların teşhisi yapılamamıştır. Son zamanlarda tür teşhisi için yapılan moleküler analizlerde, protein kodlayan genler ön plana çıkmaktadır. Bu genler; elongation factor 1 alpha (TEF1 α), calmodulin (Cmd), β - Tubulin (Ben A), Actin (act) ve histone (HIS) genleridir (Samson ve Ark., 2010). Dolayısıyla, bu problem protein kodlayan uygun bir gen dizisi incelenerek çözülebilir.



Aspergillus spp. türlerinin tamamının moleküler olarak teşhisi yapılabilmektedir. Toplam 19 *Penicillium* spp. izolatının 14'ü tür düzeyinde teşhis edilebilmiş, 5'i ise edilememiştir. *Penicillium* sp1 için, blast analizi sonucunda en fazla benzerlik (=MI), % 92 oranında *P. cordubense* olarak tespit edilmiştir (Tablo 5). *Alternaria* sp1, *Cladosporium* sp1, *Cladosporium* sp2 ve *Cladosporium* sp3'te olduğu gibi, sekans analizi sonucunda elde edilen baz sayısının yetersiz ya da baz dizileme işleminin verimsiz olmasından dolayı, teşhisi

yapılmak istenen örneklerle Gen Bankasındaki örneklerin benzerlik oranları düşüktür. *Penicillium* sp1 dışındaki teşhis edilemeyen diğer *Penicillium* spp. izolatlarına baktığımızda ise, "BLAST Analizi" sonucunda MI %'si tür düzeyinde teşhise uygun olmasına rağmen, sözkonusu bu izolatların MI %'sinin, birden fazla farklı türle aynı olduğu tespit edilmiştir (Tablo 5). Morfolojik incelemeler sonucunda da bu duruma bir çözüm getirilememesinden dolayı bu izolatların teşhisi yapılamamıştır.

Tablo 5. Tür düzeyinde tanısı yapılamayan türlerin "BLAST Analizi" sonuçları

| Kodu | Morfolojik Tanı | Moleküler Tanı | Max Score | Total Score | Query Cover | E Value | Max Ident | Accession No |
|---------|---------------------------|-------------------------------------|-----------|-------------|-------------|---------|-----------|--------------|
| 77.1B1 | <i>Acremonium</i> sp.** | <i>Acremonium</i> sp. | 1105 | 1105 | %98 | 0.0 | %100 | HQ608111.1 |
| 49.1N11 | <i>Alternaria</i> sp1* | <i>Alternaria tenuissima</i> | 821 | 821 | %94 | 0.0 | %94 | FJ827038.1 |
| 92.1E6 | <i>Alternaria</i> sp2 | <i>Alternaria</i> sp. | 933 | 933 | %89 | 0.0 | %99 | KC139480.1 |
| | | <i>Alternaria alternata</i> | 928 | 928 | %88 | 0.0 | %99 | JF973293.1 |
| | | <i>Alternaria tenuissima</i> | 928 | 928 | %88 | 0.0 | %99 | EU326185.1 |
| | | <i>Alternaria arborescens</i> | 922 | 922 | %88 | 0.0 | %99 | KC464334.1 |
| 102.1H7 | <i>Alternaria</i> sp3 | <i>Alternaria tenuissima</i> | 1062 | 1062 | %98 | 0.0 | %100 | JN542519.1 |
| | | <i>Alternaria alternata</i> | 1062 | 1062 | %98 | 0.0 | %100 | GQ121322.2 |
| | | <i>Alternaria longipes</i> | 1062 | 1062 | %98 | 0.0 | %100 | AY154684.1 |
| | | <i>Alternaria mali</i> | 1062 | 1062 | %98 | 0.0 | %100 | AY154683.1 |
| 35.2N32 | <i>Cladosporium</i> sp1* | <i>Cladosporium cucumerinum</i> | 800 | 800 | %89 | 0.0 | %95 | JQ946393.1 |
| 51.1E41 | <i>Cladosporium</i> sp2* | <i>Cladosporium</i> sp. | 649 | 649 | %82 | 0.0 | %92 | FR799496.1 |
| 96.2H17 | <i>Cladosporium</i> sp3* | <i>Cladosporium</i> sp. | 865 | 865 | %94 | 0.0 | %96 | HQ696055.1 |
| 46.2B11 | <i>Cladosporium</i> sp4 | <i>Cladosporium</i> sp. | 1035 | 1035 | %98 | 0.0 | %100 | JX164083.1 |
| | | <i>Cladosporium cladosporioides</i> | 968 | 968 | %92 | 0.0 | %100 | AF538619.2 |
| | | <i>Cladosporium aphidis</i> | 955 | 955 | %98 | 0.0 | %98 | JN906978.1 |
| 55.6B2 | <i>Cladosporium</i> sp5** | <i>Cladosporium</i> sp. | 1024 | 1024 | %97 | 0.0 | %100 | HQ608074.1 |
| 73.4B2 | <i>Cladosporium</i> sp6 | <i>Cladosporium cucumerinum</i> | 929 | 929 | %92 | 0.0 | %98 | DQ681347.1 |
| | | <i>Cladosporium ramotenellum</i> | 926 | 926 | %90 | 0.0 | %99 | JF499839.1 |
| | | <i>Cladosporium cladosporioides</i> | 926 | 926 | %90 | 0.0 | %99 | AY361994.1 |



Tablo 5. devamı

| Kodu | Morfolojik Tanı | Moleküler Tanı | Max Score | Total Score | Query Cover | E Value | Max Ident | Accession No |
|---------|-------------------------|-------------------------------------|-----------|-------------|-------------|---------|-----------|--------------|
| 100.4E8 | Cladosporium sp7 | <i>Cladosporium coralloides</i> | 1027 | 1027 | %98 | 0.0 | %100 | AF393695.2 |
| | | <i>Cladosporium tenuissimum</i> | 1027 | 1027 | %98 | 0.0 | %100 | AJ300331.1 |
| | | <i>Cladosporium gossypicola</i> | 1024 | 1024 | %98 | 0.0 | %100 | AF393702.2 |
| 101.4H5 | Cladosporium sp8 | <i>Cladosporium cladosporioides</i> | 1027 | 1027 | %98 | 0.0 | %100 | JQ936096.1 |
| | | <i>Cladosporium phaenocoma</i> | 1027 | 1027 | %98 | 0.0 | %100 | JF499838.1 |
| | | <i>Davidiella tassiana</i> | 1027 | 1027 | %98 | 0.0 | %100 | FN868485.1 |
| | | <i>Cladosporium tenuissimum</i> | 1027 | 1027 | %98 | 0.0 | %100 | AF393724.2 |
| 43.2E17 | Cladosporium sp9 | <i>Cladosporium langeronii</i> | 952 | 952 | %90 | 0.0 | %99 | HQ115727.1 |
| | | <i>Cladosporium cladosporioides</i> | 952 | 952 | %90 | 0.0 | %99 | AF455525.1 |
| | | <i>Cladosporium colocasiae</i> | 935 | 935 | %90 | 0.0 | %99 | FJ216453.1 |
| 9.3E1 | <i>Penicillium</i> sp1* | <i>Penicillium cordubense</i> | 732 | 732 | %81 | 0.0 | %92 | AF527055.1 |
| 20.4N2 | <i>Penicillium</i> sp2 | <i>Penicillium chrysogenum</i> | 1007 | 1007 | %90 | 0.0 | %99 | JQ781768.1 |
| | | <i>Penicillium griseofulvum</i> | 1007 | 1007 | %90 | 0.0 | %99 | JQ781745.1 |
| | | <i>Penicillium dipodomyicola</i> | 1007 | 1007 | %90 | 0.0 | %99 | GQ161752.1 |
| | | <i>Penicillium commune</i> | 1007 | 1007 | %90 | 0.0 | %99 | EU833215.1 |
| | | <i>Penicillium citrinum</i> | 1007 | 1007 | %90 | 0.0 | %99 | EU833214.1 |
| | | <i>Penicillium vinaceum</i> | 1007 | 1007 | %90 | 0.0 | %99 | DQ681340.1 |
| 38.3N2 | <i>Penicillium</i> sp3 | <i>Penicillium argentinense</i> | 996 | 996 | %92 | 0.0 | %98 | JN831361.1 |
| | | <i>Penicillium euglaucum</i> | 990 | 990 | %92 | 0.0 | %98 | JN617699.1 |
| | | <i>Penicillium anatolicum</i> | 942 | 942 | %85 | 0.0 | %99 | GU944598.1 |
| 60.4E1 | <i>Penicillium</i> sp4 | <i>Penicillium glabrum</i> | 1007 | 1007 | %91 | 0.0 | %99 | JX421718.1 |
| | | <i>Penicillium spinulosum</i> | 1002 | 1002 | %92 | 0.0 | %99 | HQ608085.1 |
| | | <i>Penicillium thomii</i> | 1000 | 1000 | %91 | 0.0 | %99 | KC167849.1 |
| 7.1B14 | Tanısı yapılamadı | <i>Acremonium implicatum</i> * | 551 | 551 | %79 | 3E-153 | %86 | HQ914930.1 |
| 63.2B19 | Tanısı yapılamadı | <i>Eurotium amstelodami</i> * | 640 | 640 | %97 | 4E-180 | %91 | JN862800.1 |

* Baz sayısı yetersiz olan izolat

** Max ident %100 olmasına rağmen tür düzeyinde (DNA veri bankasında eşleşen tür olamaması nedeniyle) tanısı yapılamayan izolat



Çözüm amacıyla, *Aspergillus* spp. ve *Penicillium* spp. türleri için moleküler teşhisinde kullanılan ve türler arası ayırmada ITS'ye oranla daha spesifik olan β -tubulin, Calmodulin, TEF 1 α gibi gen bölgelerinin alternatif destekleyici gen dizisi olarak araştırılması yararlı olabilir [Samson ve Ark., 2010]. Çalışmamızda *Aspergillus* spp. ve *Penicillium* spp. türlerinin moleküler teşhisinin Dematiaceous grubuna ait türlerden daha başarılı olduğu görülmüştür. *Aspergillus* spp. ve *Penicillium* spp. türlerinin besiyerlerinde gelişirken sporulasyon miktarının genellikle çok olması nedeniyle DNA izolasyonunun ilk basamağında (hiflerin tampon içeren ekstraksiyon tüpüne aktarılması) karşılaşılan problemi minimuma indirerek, DNA izolasyonunun ve dolayısıyla PCR işlemindeki başarılı sonuçların elde edilmesiyle bağdaştırılabilir.

Moleküler açıdan bakıldığında, ITS gen bölgesi sekans analizi esnasında yeterli ve doğru sayıda baz okuduğunda DNA veri bankasındaki sekanlarla % 100 ve % 99 gibi yüksek yüzdelerle eşleşebilmesine rağmen, bazen sekanslama yönteminden ve/veya dizileme esnasında cihaz okuma verimsizliğinden kaynaklanan problemlerden dolayı, bölgenin (ITS-1, 5,8S, ITS-2) içerdiği bazdan daha az sayıda (ve bazen sanal olarak fazla sayıda) ve kalitede baz okunması gerçekleşebilmektedir. Bu durumda

eğer maksimum teşhis % 97'den az ise ITS gen bölgesinin okunması tekrarlanmalıdır. Eğer % 97-100 arasında ise moleküler teşhisi desteklemek amacıyla mutlaka 2. bir gen bölgesi okunması yararlı olur. *Penicillium thomii* ve *Eupenicillium lapidosum* morfolojik olarak farklı fakat DNA sekansı farkı içermezken, *Penicillium spinulosum*, *P. glabrum*, *P. montanense* ve *P. Purpurescens* ise DNA sekansı açısından farklılık gösterir fakat çok az morfolojik farklılık gösterirler (Samson ve Pitt, 2000). Bu örnekten ve bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlardan da anlaşılacağı üzere, küf izolatlarının sınıflandırılmasındaki tüm bu tereddütler morfolojik ve moleküler yöntemlerin birlikte ele alındığında ortadan kaldırılabilir. Dolayısıyla bu çalışma bir adım daha ileriye götürülerek incelenen gen bölgesi dışında cinse spesifik alternatif ve destekleyici başka gen bölgelerinin de araştırılmasıyla daha güvenilir bir şekilde aydınlatılabilir.

Teşekkür

Bu çalışma, Trakya Üniversitesi Rektörlüğü TÜBAP-2012/184 numaralı proje ile maddi olarak desteklenmiştir. Bunun için Trakya Üniversitesi Rektörlüğü İdari Mali İşler Daire Başkanlığı TÜBAP Komisyon Başkanlığı'na teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Altunatmaz SS, Issa G, Aydın A. *Detection of airborne psychrotrophic bacteria and fungi in food storage refrigerators*. Brazilian Journal of Microbiology. 1436-1443, 2012.
- Asan A, Ozkale E, Kalyoncu F. *Checklist of Cladosporium species reported from Turkey*. Celal Bayar University Journal of Science. 12 (2): 221-229, 2016.
- Asan A. *Aspergillus, Penicillium and related species reported from Turkey*. Mycotaxon. 89 (1): 155-157, 2004 (Son güncelleme tarihi: 10 Şubat 2015).
- Tam Metin: <http://www.mycotaxon.com/resources/checklists/asan-v89-checklist.pdf>
- Atanda SA, Pessu PO, Agoda S, Isong IU, Adekalu OA, Echendu MA, Falade TC. *Fungi and mycotoxins in stored foods*, African Journal of Microbiology Research Vol. 5(25), pp. 4373-4382, (2011).
- Barnett HL, Hunter BB. *Illustrated genera of imperfect fungi*, 4th edition. APS Press, The American Phytopathological Society, (St. Paul, Minnesota, USA, 1999).
- Baumgardner DJ. *Disease-Causing fungi in homes and yards in the Midwestern United States*. Journal of Patient-Centered Research and Reviews. 3 (2): 99-110, 2016.
- Bensch K., Braun U., Groenewald J.Z. and Crous P.W. 2012 The genus Cladosporium Studies in Mycology 72: 1–401.



- Brett J, Green J, Tovey ER, Sercombe JK, Blachere FM, Beezhold DH. Schmechel, D. *Airborne fungal fragments and allergenicity*, Medical Mycology: 44: 245-255, 2006.
- Brunetti L, Santoro E, Cavallo P, Boccia G, Motta O, Capunzo M. *Two-years surveillance of fungal contamination in three hospital departments in Campania Region*. J Preventive Med and Hygiene. 47: 22-25, 2006.
- Choi YW, Hyde KD, Ho WH. *Single spore isolation of fungi*, Fungal Diversity 3: 29-38, (1999).
- Crous PW, Braun U, Schubert K, Groenewald JZ. *The genus Cladosporium and Similar Dematiaceous Hyphomycetes*, Studies in Mycology. 58: pp: 253, 2007.
- Çolakoglu G. *Indoor and outdoor mycoflora in the different districts of the city of Istanbul (Turkey)*. Indoor and Built Environment. 13: 91-100, 2004.
- Dogen A, Kaplan E, Oksuz Z, Serin MS, Ilkit M, De Hoog GS. *Dishwashers are a major source of human opportunistic yeast-like fungi in indoor environments in Mersin, Turkey*. Medical Mycology. 51: 493–498, 2013.
- El-Alwany, A.M. 2015. Plant Pathogenic Alternaria Species in Libya. Open Access Library Journal, 2: e1662. <http://dx.doi.org/10.4236/oalib.1101662>
- Ellis, M. B. *Dematiaceous Hyphomycetes*, London and Reading commonwealth Mycological Institute. The Eastern Press Ltd, (Kew, Surrey, UK, 1971).
- Hasenekoğlu İ. *Toprak Mikrofungusları*. Atatürk Üniversitesi Yayınları, (Erzurum, 1991).
- Irkin, R. 2010. Determination of microbial contamination sources for use in quality management of cheese industry: "Dil" cheese as an example. J. Verb. Lebensm., 5, 91-96.
- Kadaifciler DG, Okten S, Sen B. 2013. *Mycological contamination in dental unit waterlines in Istanbul, Turkey*. Brazilian Journal of Microbiology. 44 (3): 977-981.
- Kavanagh, K. *Fungi Biology and Applications*, 2nd edition. Wiley-Blackwell, (Maynooth, Ireland, 2011).
- Klich MA. *Identification of common Aspergillus Species*, 1st edition, Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht-The Netherlands, 2002.
- Kowalski WJ. *Airborne respiratory diseases and mechanical systems for control of microbes*. HPAC Heating/Piping/AirConditioning. Sayfa 34-48, 1998.
- Ökten S.S., Asan, A., Sabuncuoğlu, Y., Yavuz, E. *Airborne fungal concentrations of morning and evening in east patch of Edirne City using two sampling methods*, Trakya Univ J Sci, 8 (1): 15–20, (2007).
- Pitt JI. *The genus Penicillium and its teleomorphic states Eupenicillium and Talaromyces*, London: Academic, Pp: 634, 1979.
- Pitt, JI., *A laboratory guide to common Penicillium species*. 197 pp. 3rd Ed. Australia: Food Science, 2000.
- Raper KB, Fennell DI. *The Genus Aspergillus*, Williams & Wilkins, Baltimore-USA, 1965.
- Samson RA, Houbraken J, Thrane U, Frisvad JC, Andersen B. *Food and Indoor Fungi*, CBS KNAW Fungal Diversity Centre, (Utrecht, The Netherlands, 2010).
- Samson RA, Pitt JI. *Integration of modern taxonomic methods for Penicillium and Aspergillus classification*, Harwood Academic Publishers, (Singapore, 2000).
- Schoch, Conrad L., Seifert, K. A., Huhndorf, S., Robert, V., Spouge, J. L., Levesque, C. A. & Miller, A. N. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. Proceedings of the National Academy of Sciences, 109(16), 6241-6246., 2012.
- Sime AD, Abbott LL, Abbott SP. *A mounting medium for use in Indoor Air Quality spore-trap analyses*. Mycologia. 94 (6): 1087, 1088, (2002).
- Simon-Nobbe B, Denk U, Pöll V, Rid R, Breitenbach M. *The Spectrum of Fungal Allergy*. Int. Arch. Allergy Immunol., vol. 145, pp. 58–86, (2008).
- Simmons EG. *Alternaria An Identification Manual*, CBS Biodiversity Series No:6, CBS Fungal Biodiversity Centre, (Utrecht, The Netherlands, 2007).



Sen B, Asan A. *Fungal flora in indoor and outdoor air of different residential houses in Tekirdag City (Turkey): Seasonal distribution and relationship with climatic factors*. Environmental Monitoring and Assessment. 151: 209–219, 2009.

Thrasher JD. *Fungi, Bacteria, Nano-particulates, Mycotoxins and Human Health in Water-Damaged Indoor Environments*. J Comm Pub Health Nurs 2 (2): 115, 2016. doi:10.4172/2471-9846.1000115.

<http://www.mikrobiyoloji.org/TR/Genel/BelgeGoster.aspx?F6E10F8892433CF A79D6F5E6C1B43FF2C8B4054E89DE972> (10 Mayıs 2013).



An Interesting Half-Free Morel Record for Turkish Mycobiota (*Morchella populiphila* M. Kuo, M.C. Carter & J.D. Moore)

İsmail ACAR¹, Yusuf UZUN²

¹Department of Organic Agriculture, Başkale Vocational High School, Yüzüncü Yıl University, 65080, Van, Turkey

²Department of Pharmaceutical Sciences, Faculty of Pharmacy, Yüzüncü Yıl University, 65080, Van, Turkey

Abstract: *Morchella* species that are known as "Kuzu göbeği" in many regions of Turkey are among the mushrooms consumed all around the world. Moreover, Morels are a group of mushrooms attracting people's interest because of its high economic value. Our study material, *Morchella populiphila* M. Kuo, M.C. Carter & J.D. Moore was firstly reported in Van province in 2017. Short depiction and the photographs of the species are provided and discussed briefly.

Key words: Mycobiota, *Morchella populiphila*, New record, Van

Türkiye Mikobiyotası İçin İlginç Bir Yarı-Serbest Morel Kaydı (*Morchella populiphila* M. Kuo, M.C. Carter & J.D. Moore)

Öz: Türkiye'de birçok bölgede "Kuzu göbeği" mantarı olarak bilinen *Morchella* türleri tüm dünyada tüketilen mantarlar arasında yer alır. Moreller ekonomik değeri yüksek olmasından dolayı da insanların ilgisini çeken bir mantar grubudur. Çalışma materyalini oluşturan *Morchella populiphila* M. Kuo, M.C. Carter & J.D. Moore 2017 yılında yapılan arazi çalışmasında ilk kez Van ilinde rapor edilmiştir. Türün kısa betimi ve fotoğrafları verilmiş, kısaca tartışılmıştır.

Anahtar kelimeler: Mikobiyota, *Morchella populiphila*, Yeni kayıt, Van

Introduction

Morels are divided into two groups such as true and false. The true morels includes the *Morchella* genus and the false ones covers the *Mitrophora*, *Verpa* and *Gyromitra* genera. *Morchella* and *Gyromitra* members have ascocarp which usually attaches to the stipe, while the *Verpa* species have free of ascocarp. Morels are divided black and yellow species of *Morchella* (Kuo, 2005; Negi, 2006). *Morchella* species are saprophytic fungi living in both conifer and broad leaf temperate forest (Negi, 2006). In the research area, we observed that samples of *Morchella populiphila* species are morphologically similar to *Verpa* species In

previous studies, this species was reported in Canada and the United States by Kuo et al. (2012) in China by Li et al. (2013) and in Spain anonymously (2013). According to the checklists of Turkish macrofungi (Solak et al., 2015; Sesli and Denchev, 2014) and contributed data recently (Uzun et al., 2014; Acar et al., 2015; Akata and Doğan, 2015; Akata et al., 2015; Akata 2017; Akata and Uzun 2017; Acar and Uzun, 2016; Akçay and Uzun, 2016; Demirel et al., 2016; Doğan et al., 2016; Sesli et al, 2016; Taşkın et al., 2016 and Allı et al., 2017), *Morchella populiphila* has not been previously reported in Turkey.



The purpose of this study is to make contribution to the Turkish Mycobiota by adding new reported species, *Morchella populiphila*.

Materials and Methods

Macrofungi species were collected from Çatak (Van) in 2017. Relevant ecological and morphological properties of the specimen were noted and their photographs were taken in natural habitats. The samples were carried to the fungarium of Yüzüncü Yıl University in Van (VANF). for detailed studies. Distilled water, IKI, and 5% KOH were used to investigate microscopic structures. Microphotographs of apothecia were taken under a light microscope (Leica DM 1000). The species were identified by using publications of Kuo (2012), Kuo et al. (2012) and Kuo and Methven (2014). The identified sample was deposited at the Fungarium of Yüzüncü Yıl University in Van (VANF).

Results

Short depictions, photographs of apothecia, and microphotographs of asci, paraphyses, excipulum and spores are provided as follows.

Pezizales

Morchellaceae Rchb.

Morchella populiphila M. Kuo, M.C. Carter & J.D. Moore

Macroscopic and microscopic features

Ascocarp: 30-60 × 20-45 mm diam.; conoid or broadly conoid; dimpled and protruding, with the pits primarily collocated in the perpendicular; when young with glabrous, flattened, honey brown to pale brownish ledges, and whitish to brownish holes; when mature developing flattened to sharpened, dark brown to black ledges and yellowish to brownish holes; connected in a skirt-like manner to the stipe, about halfway from the top. **Stipe:** 25-100 × 10-55 mm diam.; often concealed under the ascocarp when young, but extending dramatically with maturity; particularly toward the base swollen when wet; white to aqueous brownish; usually floury with whitish granules that sometimes darken to brown (Figure 1). **Ascospores:** 20-27 × 11-16.5 µm; smooth; elliptic; without oil droplets; with homogeneous table of contents. **Asci:** 15-25 × 220-330 µm, 8-spored. **Paraphyses:** cylindrical with rounded, subacute, or subclavate apices, septate, hyaline in KOH. **Elements on sterile ridges:** 100-170 × 9-20 µm, septate; firmly packed in an even layer; brownish to brown in KOH. **Terminal cell:** widely clavate to subrectangular with a flattened to widely rounded apex (Figure 2).

Van, Çatak, Kanisipi, under *Populus* sp., 38°31'041"N, 43°30'135"E, 1684 m, 10.05.2017, Acar. 958.



Figure 1. Ascocarps of *Morchella populiphila*

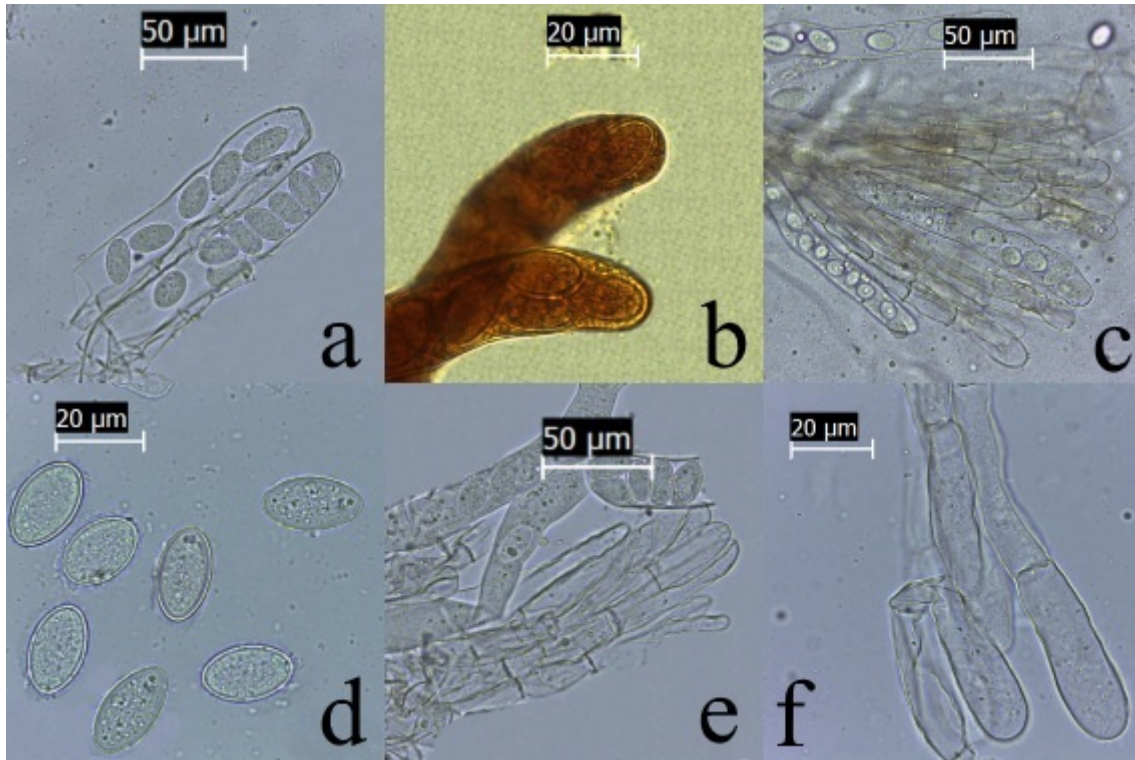


Figure 2. *Morchella populiphila* **a.** Asci in distilled water, **b.** Asci apices in IKI, **c.** Asci and paraphyses in KOH, **d.** Ascospores in distilled water, **e.** Paraphyses in KOH, **f.** Elements on sterile ridges

Discussion

Half-free morels are morphologically very similar to each other. However, their microscopic features and habitats are different. *Morchella populiphila* and *M. punctipes* are half-free morels. *Morchella populiphila* shows association with *Populus* sp. while *M. punctipes* grows under hardwoods. At the same time, elements on sterile ridges of *M. populiphila* 100-170 × 9-20 µm while elements on sterile ridges of *M. punctipes* 50-100 × 10-25 µm. *Verpa bohemica* looks similar to these species, but its cap hangs

completely free, like a thimble sitting top of a pencil (Kuo and Methven, 2014). Furthermore, *Mitrophora semilibera* similar to these species, but its spores 22-30 × 12-18 µm, asci up to 450 µm and paraphyses are branched (Jordan, 2004). *Morchella populiphila* is recorded in Turkey after the North America, China and Spain. According to Sesli and Denchev, 2014; Doğan et al., 2016 and Taşkın et al., 2016 the number of *Morchella* species which is 26 has increased to 27 with this study.

References

- Acar, İ., Uzun, Y., Demirel, K. ve Keleş, A. *Macrofungal diversity of Hani (Diyarbakır/Turkey) district*. Biodicon, 8/1: 28-34(2015).
- Acar, İ., Uzun, Y. *Peziza granularis Donadini Türkiye Mikobiyotası için Yeni Bir Kayıt*. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 21 (1):39-42(2016).
- Akata, I., Doğan, H.H., *Orbiliaceae for Turkish Ascomycota: Three new records*, Bangladesh Journal of Botany, 44 (1): 91-95(2015).



- Akata, I., Kabaktepe, Ş., Akgül, H., *Cortinarius caperatus* (Pers.) Fr., A New Record For Turkish Mycobiota, Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi, 15(1): 86-89(2015).
- Akata I. *Macrofungal Diversity of Belgrad Forest (İstanbul)*, Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi, 17(1)150-164(2017).
- Akata I., Uzun Y. *Macrofungi determined in Uzungöl Nature Park (Trabzon)*, Trakya University Journal of Natural Sciences, 18(1)(DOI: 10.23902/trkjnat.295542)(2017).
- Akçay, M.E., Uzun, Y. *Belonidium mollissimum* (Lachnaceae): Türkiye Mikotası için Yeni Bir Tür. Mantar Dergisi, 7(2): 118-121(2016).
- Allı, H., Çöl, B. and Şen, İ. *Macrofungi biodiversity of Kütahya (Turkey) province*, Biodicon, 10/1: 133-143(2017).
- Anonymous http://www.gradanatural.com/ficha_hongos.php?cod=795. (Date of access: 13.05.2017) (2013).
- Demirel, K., Acar, İ. ve Ömeroğlu Boztepe, G. Lice (Diyarbakır) Yöresi Makrofungusları. Mantar Dergisi, 7(1): 29-39(2016).
- Doğan, H.H., Bozok, F., Taşkın, H. and Büyükalaca, S. *Türkiye İçin Beş Yeni Morchella Kaydı*, Alatarım, 15 (1): 1-11(2016).
- Jordan, M. *The Encyclopedia of Fungi of Britain and Europe*, Revised Frances Lincoln edition. London, UK (2004).
- Kuo, M. *Morels*. University of Michigan Press, Ann Arbor, USA(2005).
- Kuo, M. *Morchella populiphila*. Retrieved from the MushroomExpert.Com Web site: http://www.mushroomexpert.com/morchella_populiphila.html. (Date of access: 13.05.2017) (2012).
- Kuo, M., Dewsbury, D.R., O'Donnell, K., Carter, M.C., Moore, J.D., Renner, S.A., Moncalvo, J.M., Canfield, S.A., Stephenson, S.L., Methven, A.S. and Volk, T.J. *Taxonomic revision of true morels (Morchella) in Canada and the United States*. Faculty Research & Creative Activity. Paper 193(2012).
- Kuo, M. and Methven, S.A. *Mushrooms of the Midwest*. University of Illinois Press. Urbana, Chicago and Springfield. USA(2014).
- Li, X., Chen, Z., Peng, C., Han, Y., Xu, J., Long Z. *Effect of different ferric fertilizers on planting Morchella conica fruiting yields and analyses of the microflora and bioactivities of its grown soil*. African Journal of Microbiology Research. Vol. 7(39): pp. 4707-4716(2013).
- Negi, C.S. *Morels (Morchella spp.) in Kumaun Himalaya*. Natural Product Radiance. Vol. 5(4): pp. 306-310(2006).
- Sesli, E., Denchev, C.M. Checklists of the Myxomycetes, Larger Ascomycetes, and Larger Basidiomycetes in Turkey. 6th edn. Mycotaxon Checklists Online (<http://www.mycotaxon.com/resources/checklists/sesli-v106-checklist.pdf>): 1–136(2014).
- Sesli E., Türkekul İ., Akata I., Niskanen T. *New records of Basidiomycota from Trabzon, Tokat, and İstanbul provinces in Turkey*, Turkish Journal of Botany, 40:531-545(2016) (2016).
- Solak, M.H., Işıloğlu, M., Erbil, K., Allı, H. *Macrofungi of Turkey, Checklist Volume II*, Üniversiteler Ofset, İzmir(2015).
- Taşkın, H., Doğan, H.H., Büyükalaca, S. and O'Donnell, K. *Four new morel (Morchella) species in the elata subclade (M. sect. Distantes) from Turkey*. Mycotaxon, 131(2): 467-482(2016).
- Uzun, Y., Acar, İ., Akçay, M.E. and Akata, I. *Additions to the Turkish Discomycetes*. Turk J Bot., 38: 617-622(2014).



Selçuk Üniversitesi Alaeddin Keykubat Kampüsü (Konya) Makromantarlarına İlaveler

Gıyasettin KAŞIK¹, Sinan AKTAŞ¹,
Sinan ALKAN^{*2}, Celalettin ÖZTÜRK¹

¹Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Konya

²Selçuk Üniversitesi, Mantarcılık Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğü, Konya

Öz: Bu çalışma, 2011-2014 yılları arasında Selçuk Üniversitesi Alaeddin Keykubat Kampüsü sınırları içerisinde yapılmıştır. Makromantar gelişimine uygun dönemlerde toplanan örneklerin ilgili literatür yardımı ile teşhisleri yapılmış ve kurutulmuş örnekler fungaryum materyali haline getirilmiştir. Sonuç olarak 2 bölüm, 21 familya, 34 cinse ait 59 tür tespit edilmiştir. Türlerin yenir, yenmez ve zehirli olup olmadıkları tespit edilmiştir. Bu alanda daha önce yapılan çalışma ile sonuçlar karşılaştırılmıştır.

Anahtar kelimeler: Makromantarlar, Sistematik, Selçuk Üniversitesi, Alaeddin Keykubat Kampüsü, Konya, Türkiye

Additions to the Macrofungi of Selçuk University Alaeddin Keykubat Campus(Konya)

Abstract: This study was conducted within the boundaries of Selçuk University Alaeddin Keykubat Campus between the years 2011 and 2014. The specimens collected during the periods appropriate for the macrofungi development were diagnosed with the help of the related literature and the dried specimens were converted into fungarium material. Consequently, 59 species belonging to the two division, 21 families, and 34 genera were identified. It is determined whether the taxa are edible, inedible and toxic or not. With previous study was compared with the results in this area.

Key words: Macrofungi, Systematic, Selçuk University, Alaeddin Keykubat Campus, Konya, Turkey

Giriş

Bu güne kadar yapılan bütün çalışmalarda, farklı mantarların uygun ortam şartlarında rahatlıkla furiktifikasyon organı meydana getirdikleri tespit edilmiştir. Çalışma alanımızı oluşturan Selçuk Üniversitesi kampüs alanı 1983 yılında kurulmaya başlandığında bölgede ağaç değil çalı formunda bitki bulmak bile mümkün değildi. Bu tarihten itibaren kampüs alanında fakültelerin kurulması ile çevre düzenlemeleri yapılmış ve çeşitli ağaç türleri dikilmiştir. Yapılan bakım ve sulama çalışmaları ile bu gün kampüs sınırları içerisinde bölgesel ağaç toplulukları, mesire alanları ve küçük hatıra

ormanları yer almaktadır. Yıllar içerisinde gelişen bu ekolojik şartlar pek çok canlıya gelişme ve yetişme fırsatı sunmuştur. Özellikle gelişen ve büyüyen ağaç türleri sayesinde kampüs alanında farklı mantar türlerinin yetiştiği görülmektedir. Bu nedenle çalışmanın amaçlarından biri bölgede gelişen ve değişen bitki örtüsü makromantar çeşitliliğine etkisini tespit etmektir. Çalışma alanımızda bitki örtüsünün ve orman katının daha az veya neredeyse yok denecek kadar az olduğu 1999 yılında Kaşık ve ark. tarafından yapılan çalışmada 11 takson tespit edilmiştir.



150 yıldan daha fazla bir süre içerisinde Türkiye makromantarları üzerine ülkemizdeki farklı üniversitelerdeki araştırmacılar tarafından geniş çaplı taksonomik araştırmalar yapılmıştır. Bu araştırmalar özellikle son 15 yılda kayda değer bir şekilde artmış ve elde edilen sonuçlar çeşitli araştırmacılar tarafından kontrol listeleri olarak verilmiştir (Doğan ve ark., 2005; Sesli ve Denchev, 2008). Bu listelerin her geçen yıl güncellenmesinin yanı sıra yapılan yeni çalışmalarla araştırmacılar tarafından ülkemizin makromantar listesine yeni lokalite ve mantar türleri ilave edilmektedir (Acar ve Uzun, 2016; Akata, 2017; Akata ve Uzun, 2017; Akata ve ark., 2016a, 2016b; Akçay ve Uzun, 2016; Alkan ve ark., 2016; Allı ve ark., 2016; Demirel ve Koçak, 2016; Demirel ve ark., 2016; Doğan ve Kurt, 2016; Kaya ve ark., 2016; Allı ve ark., 2017; Öztürk C. ve ark., 2017; Öztürk Ö. ve ark., 2016; Sesli ve Topçu Sesli, 2016, 2017; Sesli ve Vizzini, 2017; Sesli ve ark., 2016; Vizzini ve ark., 2016; Uzun ve ark., 2017).

Materyal ve Metot

Selçuk Üniversitesi kampüs alanında Kaşık ve ark. (1999) tarafından yapılan çalışmada 11 takson tespit edilmiştir. Bunun sebebi o dönemlerde yeteri kadar ağaç yoğunluğunun bulunmaması ve uygun iklim şartlarının uygun olmamasıdır. Yaklaşık olarak 10 yıllık bir ekolojik gelişim sonucunda çalışma alanında mantar çeşitliliği de artmıştır.

Bölgedeki mantarların gelişimine olanak sağlayan başlıca ağaç grupları çam (*Pinus nigra* J.F.Arnold), sedir (*Cedrus libani* Loud.) ve çınar (*Platanus orientalis* L.) türlerinin yanı sıra söğüt (*Salix* sp.), akasya (*Acacia* sp.), kavak (*Populus* sp.) ve meyve ağaçlarıdır. Çalışma alanına İç Anadolu iklimi hakimdir.

Bu çalışmanın materyali 2011-2014 yılları arasındaki periyodik saha çalışmalarında Selçuk Üniversitesi Alaeddin Keykubat kampüsü sınırları içerisinde farklı lokalitelerden toplanmıştır. Arazi çalışmaları sırasında makroskopik ve ekolojik özellikler kaydedilen makromantarların doğal ortamlarında fotoğrafları çekilmiştir..

Örnekler laboratuvara getirildikten sonra, sıcaklık ve zaman ayarlı kurutma dolaplarında kurutulmuş ve fungaryum materyali haline getirilerek dolaplara yerleştirilmiştir.

Örnekler teşhis edilirken mikroskopik karakterler fungaryumda ışık mikroskobu altında incelenmiştir. Elde edilen makroskopik ve mikroskopik veriler doğrultusunda örnekler ilgili literatür yardımı ile teşhis edilmiştir (Breitenbach ve Kränzlin, 1984-2000; Jordan, 1995; Hansen ve Knudsen 1992-2000; Ryvarde ve Gilbertson (1993), Kränzlin 2005 ve Medardi 2006; Cannon ve Kirk, 2007).

Bu çalışma ile tespit edilen örnekler Selçuk Üniversitesi Mantarcılık Uygulama ve Araştırma Merkezi Fungaryumu'nda saklanmaktadır.

Bulgular

Bu çalışma Selçuk Üniversitesi (Konya) kampüs alanındaki makromantarların tespit edilmesi amacıyla yapılmıştır. Arazi çalışmasında mantarlar doğal ortamlarında fotoğrafları çekildikten sonra uygun şekilde toplanmıştır. Teşhis edilen türler Cannon ve Kirk (2007), Kirk ve ark. (2008), <http://www.mycobank.org> ve <http://www.indexfungorum.org> veri tabanlarına göre sistematik olarak dizilmiştir (Index Fungorum Url. 1, Mycobank Url. 2).

Ascomycota

Helvellaceae

1. *Helvella leucomelaena* (Pers.) Nannf.
Öğrenci yurtları yanında, çam ormanı ibreler arasında, 10.03.2014 FN: 4198.

Basidiomycota

Agaricaceae

2. *Agaricus bisporus* (J.E. Lange) Imbach
Edebiyat Fakültesi önü, çimenler arasında, 07.12.2012 FN: 3786.

Ziraat Fakültesi önü, çimenler arasında, 06.10.2012 FN: 3785.

3. *Agaricus bitorquis* (Quél.) Sacc.
Kütüphane binası önü, çam ağaçları altında, 24.10.2011 FN: 3787.

Enstitüsü binası önü, çimenler arasında, 25.10.2013 FN: 3736.



Veteriner Fakültesi önü, çimenler arasında, 08.10.2013 FN: 3735.

4. *Agaricus campestris* L.

Sosyal tesisler önü, çimenler arasında, 02.12.2012 FN: 3847

5. *Coprinus comatus* (O.F. Müll.) Pers.

Enstitüsü binası önü, çimenler arasında, 17.10.2011 FN: 3856.

Fen Fakültesi önü, çimenler arasında, 20.10.2012 FN: 3800.

Edebiyat Fakültesi önü, çimenler arasında, 13.11.2012 FN: 3855.

Kampüs girişi, çimenler arasında, 12.11.2012 FN: 3844.

Hukuk Fakültesi önü, çimenler arasında, 05.11.2012 FN: 3802.

Türk Büyükleri Heykellerinin arkası, çimenler arasında, 02.12.2012 FN: 3748.

Edebiyat Fakültesi önü, çimenler arasında, 08.10.2013 FN: 3743.

Veteriner Fakültesi önü, çimenler arasında, 08.10.2013 FN: 3745.

Ziraat Fakültesi arkası, çimenler arasında, 08.10.2013 FN: 3746.

Enstitü binası önü, çimenler arasında, 25.10.2013 FN: 3750.

Sanat Tasarım Fakültesi önü, çimenler arasında, 25.10.2013 FN: 3744.

6. *Lepiota cristata* (Bolton) P. Kumm.

Kütüphane çevresi, çimenler arasında, 20.10.2011 FN: 3863.

7. *Lepiota wasserii* Bon

Bilgisayar bilimleri merkezi çevresi, çimenler arasında, 21.10.2011 FN 3808.

8. *Leucoagaricus leucothites* (Vittad.) Wasser

Enstitüsü binası önü, çimenler arasında, 25.10.2013 FN: 3770.

Bolbitiaceae

9. *Conocybe moseri* Watling

Tıp Fakültesi acil girişi önünde, çimenler arasında, 12.05.2012 FN: 3754.

10. *Conocybe rickeniana* P.D. Orton

Kütüphane önü, çam ağaçları altında, 21.10.2011 FN: 3999.

11. *Conocybe subovalis* Kühner & Watling

Kampüs eski girişi, çimenler arasında,

12.11.2012 FN: 3859.

Cortinariaceae

12. *Hebeloma sinapizans* (Paulet) Gillet

Edebiyat Fakültesi önü, çimenler arasında, 10.03.2014 FN: 3867.

Geastraceae

13. *Geastrum fimbriatum* Fr.

Ziraat Fakültesi önü, çimenler arasında, 03.03.2014 FN: 3806.

14. *Geastrum pectinatum* Pers.

Ziraat Fakültesi önü, çimenler arasında, 03.03.2014 FN: 3866.

Gomphidiaceae

15. *Chroogomphus rutilus* (Schaeff.) O.K. Mill.

Fen Fakültesi önü, çimenler arasında, 13.11.2012 FN: 3797.

Hymenochaetaceae

16. *Inocutis rheades* (Pers.) Fiasson & Niemelä

Olimpik havuz arkası, kütük üzerinde, 18.10.2012 FN: 3769.

17. *Phellinus hartigii* (Allesch. & Schnabl) Pat.

Selçuk Tıp Fakültesi Hastanesi arkası, çimenler arasında, 18.12.2012 FN: 3776.

18. *Phellinus igniarius* (L.) Quél.

Selçuk Tıp Fakültesi Hastanesi arkası, çimenler arasında, 18.12.2012 FN: 3656.

19. *Phellinus pomaceus* (Pers.) Maire

Olimpik havuz arkası, kesilmiş ağaç kütüğü üzerinde, 18.10.2012 FN: 3657.

Hymenogastraceae

20. *Psilocybe coronilla* (Bull.) Noordel.

Fen Fakültesi önü, ağaç kütüğü üzerinde, 13.11.2012 FN: 3824.

Hygrophoraceae

21. *Hygrocybe conica* (Schaeff.) P. Kumm.

Mühendislik Fakültesi önü, çimenler arasında, 21.10.2011 FN: 3760.

Ziraat Fakültesi arkası, çimenler arasında, 08.10.2013 FN: 3759.

Veteriner Fakültesi yanı, çimenler arasında, 08.10.2013 FN: 3766.

Sanat Tasarım Fakültesi önü, çimenler arasında, 25.10.2013 FN: 3764.

Veteriner Fakültesi arkası, çimenler arasında, 08.10.2013 FN: 3757.



Ziraat Fakültesi arkası, çimenler arasında,
14.11.2013 FN: 3762.

Ziraat Fakültesi arkası, çimenler arasında,
14.10.2013 FN: 3758.

Inocybaceae

22. *Inocybe mixtilis* (Britzelm.) Sacc.

Atatürk yurdu civarı, çimenler arasında,
21.10.2011 FN: 3862.

23. *Inocybe splendens* R. Heim

Veteriner Fakültesi yanı, çimenler arasında,
24.10.2012 FN 3807.

Lyophyllaceae

24. *Lyophyllum decastes* (Fr.) Singer

Hukuk Fakültesi önü, çimenler arasında,
12.11.2012 FN: 3809.

Meruliaceae

25. *Bjerkandera adusta* (Willd.) P. Karst.

Enstitü binası önü, ağaç kök kalıntıları üzerinde,
05.11.2012 FN: 3796.

Physalacriaceae

26. *Armillaria mellea* (Vahl) P. Kumm.

Selçuk Tıp Fakültesi Hastanesi arkası, çimenler
arasında, 18.12.2012 FN: 3742.

27. *Flammulina velutipes* (Curtis) Singer

Edebiyat Fakültesi önü, ağaç kütüğü üzerinde,
13.11.2012 FN: 3834.

Pleurotaceae

28. *Pleurotus dryinus* (Pers.) P. Kumm.

Enstitü binası yanı, kavak (*Populus* spp.) ağacı
üzerinde, 17.05.2012 FN: 3814.

29. *Pleurotus eryngii* (DC.) Quél.

Olimpik havuz arkası, çok yıllık bitki kökünde,
17.05.2012 FN: 3815.

30. *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm.

Enstitü binası yanı, Kavak ağacı üzerinde,
17.05.2012 FN: 3816.

Enstitü binası önü, Söğüt ağacı üzerinde,
18.12.2012 FN: 3817.

Pluteaceae

31. *Volvopluteus gloiocephalus* (DC.) Vizzini,
Contu & Justo

Mühendislik Fakültesi önü, çimenler arasında,
05.11.2012 FN: 3837.

Polyporaceae

32. *Fomes fomentarius* (L.) Fr.

Türk Büyükleri Heykellerinin civarı, kavak
(*Populus* spp.) ağacı üzerinde, 03.05.2012 FN:

3860.

Hukuk Fakültesi önü, kütük üzerinde,
05.11.2012 FN: 3805.

Psathyrellaceae

33. *Coprinellus disseminatus* (Pers.) J.E.
Lange

Enstitüsü binası önü, çimenler arasında,
12.01.2012 FN: 3755.

34. *Coprinellus micaceus* (Bull.) Vilgalys,
Hopple & Jacq. Johnson

Fen Fakültesi önü, çimenler arasında,
08.05.2012 FN: 3888.

35. *Coprinopsis atramentaria* (Bull.) Redhead,
Vilgalys & Moncalvo

Edebiyat Fakültesi önü, ağaç altında,
09.05.2012 FN: 3858.

36. *Coprinopsis marcescibilis* (Britzelm.)
Örstadius & E. Larss.

Fen Fakültesi önü, çimenler arasında,
19.10.2011 FN: 3828.

Edebiyat Fakültesi önü, çimenler arasında,
13.11.2012 FN: 4010.

37. *Panaeolus olivaceus* F.H. Møller

Edebiyat Fakültesi önü, çimenler arasında,
14.10.2011 FN: 4460.

38. *Psathyrella candolleana* (Fr.) Maire

Sağlık Bilimleri Fakültesi arkası, çimenler
arasında, 17.05.2012 FN: 3818.

39. *Psathyrella tephrophylla* (Romagn.) Bon

Edebiyat Fakültesi önü, çimenler arasında,
14.10.2011 FN: 3864.

Schizophyllaceae

40. *Schizophyllum commune* Fr.

Kampüs eski girişi, çam ağaçları üzerinde,
12.05.2012 FN: 3823.

Strophariaceae

41. *Agrocybe dura* (Bolton) Singer

Bilgisayar bilimleri merkezi çevresi, çimenler
arasında, 21.10.2011 FN: 3848.

42. *Agrocybe paludosa* (J.E. Lange) Kühner &
Romagn. ex Bon

Bankamatikler karşısı, çimenler arasında,
08.05.2012 FN: 3791.

Bankamatikler karşısı, çimenler arasında,
05.11.2012 FN: 3793.

Veteriner Fakültesi yanı, çimenler arasında,
08.10.2013 FN: 3740.



43. *Agrocybe praecox* (Pers.) Fayod
Kampüs eski girişi, çimenler arasında,
14.05.2012 FN: 3853.

44. *Agrocybe vervacti* (Fr.) Singer
Gökkuşluğu AVM çevresinde, çimenler arasında,
05.11.2012 FN: 3794.

45. *Pholiota limonella* (Peck) Sacc.
Edebiyat Fakültesi önü, ağaç kütüğü üzerinde,
19.10.2011 FN: 3852.

46. *Pholiota squarrosa* (Vahl) P. Kumm.
Edebiyat Fakültesi önü, ağaç kütüğü üzerinde,
16.08.2011 FN: 3851.
Enstitü binası önü, söğüt ağacı üzerinde,
17.10.2011 FN: 3850.

47. *Protostropharia semiglobata* (Batsch)
Redhead, Moncalvo & Vilgalys
Hukuk Fakültesi önü, çimenler arasında,
13.11.2012 FN: 3778.

Suillaceae

48. *Suillus bovinus* (L.) Roussel
Sosyal Bilimler Fakültesi önü, çam ağaçları
altında çimenler arasında, 18.12.2012 FN: 3826.
Tıp Fakültesi Hastanesi arkası, çam ağaçları
altında çimenler arasında, 18.12.2012 FN: 3781.

49. *Suillus collinitus* (Fr.) Kuntze
Veteriner Fakültesi yanı, çam ağaçları altında
çimenler arasında, 06.10.2012 FN: 3780.
Olimpik havuz yanı, çam ağaçları altında
çimenler arasında, 07.12.2012 FN: 3827.
Enstitüsü binası önü, çam ağaçları altında
çimenler arasında, 25.10.2013 FN: 3779.

50. *Suillus flavidus* (Fr.) J. Presl
Hukuk Fakültesi önü, çam ağaçları altında
çimenler arasında, 16.10.2013 FN: 3782.

51. *Suillus luteus* (L.) Roussel
Kütüphane yanı, çam ağaçları altında çimenler
arasında, 20.10.2011 FN: 3831.

Edebiyat Fakültesi önü, çam ağaçları altında
çimenler arasında, 14.10.2011 FN: 3833.
Olimpik havuz yanı, çam ağaçları altında
çimenler arasında, 07.11.2012 FN: 3830.

Tricholomataceae

52. *Clitocybe costata* Kühner & Romagn.
Kütüphane yanı, çimenler arasında, 20.10.2011
FN: 3337.

53. *Lepista nuda* (Bull.) Cooke
Edebiyat Fakültesi önü, çam ağaçları altında
çimenler arasında, 03.03.2014 FN: 4312.

54. *Melanoleuca excissa* (Fr.) Singer
Kütüphane önü, çimenler arasında, 20.10.2011
FN: 3810.

Sanat Tasarım Fakültesi önü, çimenler arasında,
20.10.2012 FN: 3811.

55. *Melanoleuca graminicola* (Velen.) Kühner
& Maire
Mühendislik Fakültesi önü, çimenler arasında,
24.10.2011 FN: 3812.

56. *Melanoleuca humilis* (Pers.) Pat.
Yadam önü, çimenler arasında, 24.10.2011 FN:
3865.

57. *Tricholoma basirubens* (Bon) A. Riva &
Bon
Atatürk yurdu yukarısı, çam ağaçları altında,
11.10.2012 FN: 3835.

58. *Tricholoma terreum* (Schaeff.) P. Kumm.
Enstitüsü binası önü, çam ağaçları altında
çimenler arasında, 25.10.2013 FN: 3883.

Tubariaceae

59. *Tubaria furfuracea* (Pers.) Gillet
Kütüphane çevresi, çam ağaçları altında
çimenler arasında, 14.04.2014 FN: 3897.

Tartışma

Konya ilinin coğrafi konumu, ekolojik şartları, iklim özellikleri ve ayrıca çalışılan bölgenin dar olması gibi şartlar göz önüne alındığında tespit edilen tür sayısı hiç de azımsanmayacak ölçüdedir. Kaldı ki insan eliyle hazırlanan bu ekolojik şartlar kısa zamanda doğal gelişimlerle birlikte canlılar için uygun bir biyolojik yaşam alanı oluşmasını sağlamıştır. Canlılar içinde önemli bir yere sahip olan mantarlar da bu ekosistemde kendilerine bir yer bulmuşlardır.

Araştırma alanında, daha önce yapılan çalışmada tespit edilmiş 8 tür "*Agaricus bisporus* A. *bitorquis*, A. *campestris*, *Leucoagaricus leucothites* (Syn: *Leucoagaricus pudicus*), *Agrocybe dura*, *Agrocybe paludosa*, *Coprinus comatus*, *Psilocybe coronilla* (Syn: *Stropharia coronilla*)" bu çalışmada da tespit edilmiştir.

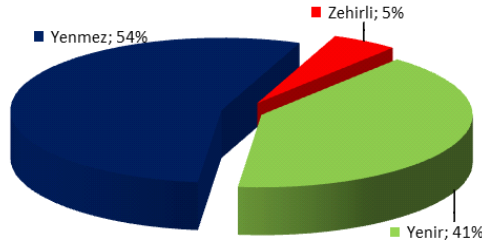


3 tür "*Terfezia arenaria* (Syn:*Terfezia leonis*), *Hypholoma fasciculare*, *Hemileccinum impolitum* (Syn:*Boletus impolitus*)" ise tespit edilememiştir. Buradan da anlaşıldığı üzere geçen zaman içerisinde araştırma alanındaki makromantar çeşitliliğinde farklılıklar oluşmuştur.

Çalışma alanında belirlenen 59 makromantarın yenir, yenmez ve zehirli tür sayısına göre yüzdelik grafiği aşağıda verilmiştir

(Şekil 1). Literatüre göre 24 tür (% 41) yenir, 32 tür (% 54) yenmez ve 3 tür (% 5) ise zehirli olarak tespit edilmiştir.

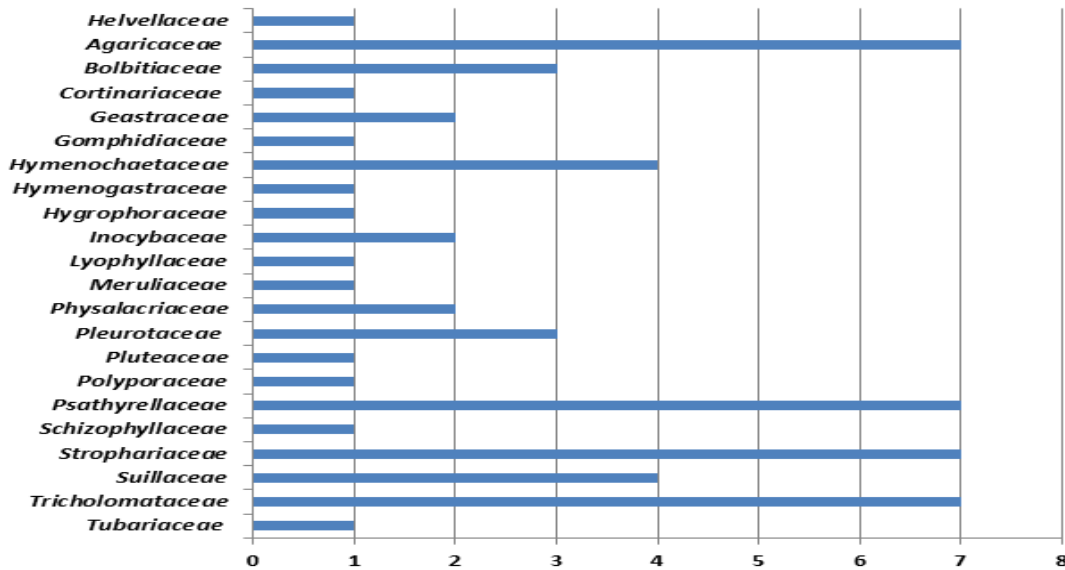
Zehirli olan "*Inocybe mixtilis*, *I. splendens* ve *Panaeolus olivaceus*" türleri literatüre göre ölümcül derecede tehlike arz etmemektedirler. Ancak yenildiğinde bazı rahatsız edici hastalıklara sebep oldukları belirtilmektedir (Breitenbach ve Kränzlin, 1995-2000).



Şekil 1. Belirlenen türlerin besinsel durumu (%)

Bu çalışma ile birlikte Selçuk Üniversitesi Kampüs makromantarlarına ilave edilen *Agaricomycetes* sınıfına ait mantarların familyalara göre dağılımı ve içermiş oldukları tür sayıları Şekil 2'de görüldüğü gibidir. Şekilden de

anlaşıldığı gibi çalışma alanında en fazla 7 adet tür sayısına sahip familyalar *Strophariaceae*, *Agaricaceae*, *Psathyrellaceae* ve *Tricholomataceae* familyaları olmuştur.



Şekil 2. Tür sayılarına göre familyaların dağılımı



Araştırma alanında en yaygın türler “*Coprinus comatus* ve *Hygrocybe conica*”dır. Ayrıca araştırma alanında arazi çalış-

maları esnasında bizimle birlikte mantar toplayan insanlardan topladıkları mantarların yerel isimleri hakkında bilgi alınmıştır (Tablo 1).

Tablo 1 Araştırma alanında belirlenen bazı yenen mantarların yöresel isimleri

| | |
|------------------------------|------------------|
| <i>Helvella leucomelaena</i> | Kuzu kulağı |
| <i>Agaricus bisporus</i> | Çayır mantarı |
| <i>Agaricus bitorquis</i> | Çayır mantarı |
| <i>Agaricus campestris</i> | Çayır mantarı |
| <i>Coprinus comatus</i> | Mürekkep mantarı |
| <i>Pleurotus eryngii</i> | Diken mantarı |
| <i>Pleurotus ostreatus</i> | Kavak mantarı, |

Kaynaklar

- Acar, İ., Uzun, Y., *Peziza granularis* Donadini Türkiye Mikobiyotası için Yeni Bir Kayıt. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 21 (1):39-42 (2016).
- Akata I. *Macrofungal Diversity of Belgrad Forest (İstanbul)*, Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi, 17(1)150-164(2017).
- Akata I., Uzun Y., *Macrofungi determined in Uzungöl Nature Park (Trabzon)*, Trakya University Journal of Natural Sciences, 18(1)(DOI: 10.23902/trkjnat.295542)(2017).
- Akata I., Kabaktepe Ş., Akgül H., *Cordyceps militaris*, *The First Record From Family Cordycipitaceae in Turkey*, Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi, 16(1)280-284(2016a).
- Akata I., Kaya A., Uzun Y., *Macrofungal diversity of Zigana Mountain (Gümüşhane/Turkey)*. Biological Diversity and Conservation, 9 (2) 57-69(2016b).
- Akçay M.E., Uzun Y., *Belonidium mollissimum (Lachnaceae): Türkiye Mikotası İçin Yeni Bir Tür*, Mantar Dergisi, 7(2)118-121(2016).
- Alkan S., Kaşık G., Öztürk C., Aktaş S., *Çorum İli'nin Yenir Özellikteki Makromantarları*, Türk Tarım Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 4 (3): 131-138(2016).
- Allı H., Şen İ., Altuntaş D., *Macrofungi of İznik Province*, Commun. Fac. Sci.Univ.Ank.Series C, 25(1-2)7-24(2016).
- Allı, H., Çöl, B. ve Şen, İ., *Macrofungi biodiversity of Kütahya (Turkey) province*, Biodicon, 10/1: 133-143 (2017).
- Breitenbach J., Kränzlin F., *Fungi of Switzerland, Vol: 1, Ascomycetes*. Verlag Mykologia CH-6000 Luzern 9, Switzerland(1984).
- Breitenbach J., Kränzlin F., *Fungi of Switzerland, Volume 2, Nongilled Fungi*, Verlag Mykologia CH-6000 Luzern 9, Switzerland(1986).
- Breitenbach J., Kränzlin F., *Fungi of Switzerland, Volume 3, Boletes and Agarics 1. Part*, Verlag Mykologia CH-6000 Luzern 9, Switzerland(1991).
- Breitenbach J., Kränzlin F., *Fungi of Switzerland, Volume 4, Agarics 2. Part*, Verlag Mykologia CH-6000 Luzern 9, Switzerland(1995).
- Breitenbach J., Kränzlin F., *Fungi of Switzerland, Volume 5, Agarics 3. Part*, Verlag Mykologia CH-6000 Luzern 9, Switzerland(2000).
- Cannon P.F., Kirk, P.M., *Fungal families of the world*, Wallingford: CAB International(2007).



- Demirel, K., Acar, İ. Ve Ömeroğlu Boztepe, G.. *Lice (Diyarbakır) Yöresi Makrofungusları*. Mantar Dergisi, 7(1): 29-39 (2016).
- Demirel K., Koçak M.Z., *Zilan Vadisi'nin (Erciş-VAN) Makrofungus Çeşitliliği*, Mantar Dergisi, 7(2):122-134(2016).
- Doğan, H.H., Kurt, F., *New macrofungi records from Turkey and macrofungus diversity of Pozantı-Adana*, Turkish Journal of Botany, 40(2)209-217(2016).
- Doğan H.H., Öztürk C., Kaşık G., Aktaş S. A., *Checklist of Aphyllophorales of Turkey*, Pakistan journal of Botany, 37(2)459-485(2005).
- Hansen L., Knudsen H., *Nordic Macromycetes, Volume 2, Polyporales, Boletales, Agaricales, Russulales*. Nordsvamp, Copenhagen, Denmark(1992).
- Hansen L., Knudsen H., *Nordic Macromycetes, Volume 3. Heterobasidoid, Aphyllophoroid, and Gastromycetoid Basidiomycetes*, Nordsvamp, Copenhagen, Denmark(1997).
- Hansen L., Knudsen H., *Nordic Macromycetes, Volume 1, Ascomycetes*, Nordsvamp, Copenhagen, Denmark(2000).
- Kaya A., Uzun Y., Karacan İ.H., Yakar,S. *Contributions to Turkish Pyronemataceae from Gaziantep province*. Turkish of Botany, 40: 298-307(2016).
- Kirk P.M., Cannon P.F., Minter D.W., Stalpers J.A., *Dictionary of the fungi, 10th ed*. CAB International, Wallingford, UK(2008).
- Kränzlin F., *Fungi of Switzerland, Volume 6, Russulaceae 2*. Verlag Mykologia, Switzerland(2005).
- Medardi G., *Ascomyceti d'Italia*, Trento: Centro Studi Micologici(2006).
- Öztürk C., Pamukçu D., Aktaş S., *Macrofungi of Nallıhan (Ankara) District*, Mantar Dergisi, 8(1)60-67(2017).
- Öztürk Ö., Doğan H.H., Şanda M., *Some new additions to Turkish mycobiota from Sakarya region*, Biological Diversity and Conservation, 9(1)97-100(2016).
- Ryvarden L., Gilbertson R.L., *European Polypores, Volume 1-2, Synopsis Fungorum 6, Fungiflora*, Oslo, Norway(1993).
- Sesli E., Denchev C.M., *Checklists of the myxomycetes, larger ascomycetes, and larger basidiomycetes in Turkey*, Mycotaxon, 106: 65–67(2008).
- Sesli E., Topçu Sesli A., *Türkiye için üç yeni kayıt: Chalciporus piperatoides, Gymnopus menehune ve Lyophyllum shimeji*, Mantar Dergisi, 7(1)61-66(2016).
- Sesli E., Topçu Sesli A., *Infundibulicybe alkaliviolascens (Tricholomataceae): A New Record for the Turkish Mycota*, Mantar Dergisi, 8(1)6-12(2017).



Molecular Identification and Phylogeny of Some *Hypocreales* Members Isolated from Agricultural Soils

Rasime DEMİREL

Department of Biology, Faculty of Science,
Anadolu University, TR26470 Eskişehir, Turkey

Abstract: *Hypocreanlean* fungi are include important plant pathogens around the world. Head blight and crown rot disease of cereals caused by these species are responsible for large economic losses due to reduction in seed quality and contamination of grain with their mycotoxins. Although morphological and biochemical tests are still fundamental there is an increasing more towards molecular diagnostics of these fungi. This paper reviews to PCR identification of *Hypocreanlean* fungi isolated from agricultural soil from Eskişehir City. Five *Hypocreanlean* fungi belong to 4 different genera as *Bionectria*, *Fusarium*, *Gibberella* and *Nectria* were isolated from 56 soil samples. DNA of these strains were isolated by glass beads and vortexing extraction method and used for PCR amplification with universal fungal specific primers. The internal transcribed spacer (ITS) regions of fungal ribosomal DNA (rDNA) were sequenced by CEQ 8000 Genetic Analysis System. The ITS-5.8S sequences obtained in this study were compared with those deposited in the GenBank Database. Phylogenetic position of investigated closely related *Hypocreanlean* fungi was determined.

Key words: *Hypocreanlean*; PCR; ITS; Phylogeny; Eskişehir

Tarımsal Topraklardan İzole Edilen Bazı *Hypocreales* Üyelerinin Moleküler Teşhisi ve Filogenisi

Öz: *Hypocreanlean* mantarları Dünya'daki önemli bitki patojenleridir. Bu türlerin sebep olduğu baş tahribat ve tahıl hasar hastalığı, tohum kalitesinde azalma ve tahılın mikotoksinler ile bulaşması nedeniyle büyük ekonomik kayıplardan sorumludur. Morfolojik ve biyokimyasal testler hala temel olsa da, bu mantarların moleküler teşhisine yönelim giderek artmaktadır. Bu makale, Eskişehir'deki tarım topraklarından izole edilmiş olan *Hypocreanlean* mantarlarının PCR ile identifikasyonunu incelemektedir. *Bionectria*, *Fusarium*, *Gibberella* ve *Nectria* olmak üzere 4 farklı cinsine ait 5 *Hypocreanlean* mantarı 56 farklı toprak numunesinden izole edilmiştir. Bu suşların DNA'sı, cam boncuklar ve vorteks ekstraksiyon yöntemi ile izole edilmiş ve üniversal fungal spesifik primerler ile PCR amplifikasyonu için kullanılmıştır. Fungal ribozomal DNA'nın (rDNA) iç transkripsiyonlu ayırıcı (ITS) bölgeleri, CEQ 8000 Genetik Analiz Sistemi ile dizilenmiştir. Bu çalışmada elde edilen ITS-5.8S dizileri, GenBank veri tabanında depolanan dizilerle karşılaştırılmıştır. İncelenen birbirine yakın akraba *Hypocreanlean* mantarlarının filogenetik konumu belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: *Hypocreanlean*; PCR; ITS; Filogeni; Eskişehir

Introduction

The best-known *Hypocreanlean* fungi are a broad order that are include members of *Fusarium* and *Acremonium* genera. They are anamorphs of teleomorph genera, such as

Gibberella, *Nectria* and *Bionectria* that are mainly seen in agricultural, ecological, or biodiversity studies (Howard, 2002; Stone et al., 2004).



These genera are widely distributed in soil and on organic substrates and have been isolated from permafrost in the arctic and from the sand of Sahara. They are amongst the fungi most frequently isolated by the plant pathologist. The predominant interest the genus has been and still is in their role as plant pathogens (Booth, 1971; Ismail et al., 2015) as well as there are species which are highly mycotoxigenic, producing a range of toxins affecting wildlife, livestock and humans (Antonissen et al., 2014). The current fungal taxonomic systems have been still identified by macroconidia and microconidia in the asexual stage, morphological character of chlamyospore, host range, and secondary metabolites. However, the plasticity and intergradations of the phenotypic traits offered difficulty in identifying the filamentous fungi (Ismail et al., 2015; Young et al., 2000). In addition, because of their capacity for rapid change, species identification presents certain problems (Booth, 1971; Hsuan et al., 2011). For these reasons, the molecular biological method has been recently introduced in *Hypocreanlean* fungi systematic and the molecular variation at the DNA level has been studied in many works (Young et al., 2000). In addition to DNA sequencing, phylogenetic analyses have been supported strong information about genetic relationship of closely related *Hypocreanlean* fungi (Hsuan et al., 2011). This paper evaluates the use of ITS sequences for identification and phylogenetic analysis of closely related *Hypocreanlean* fungi isolated from agricultural soils in Eskisehir province.

Material and Method

Fungal Strains

All of the strains used in this study were obtained from agricultural soils in Eskisehir province and identified using traditional methods according to the Booth (1971), Gerlach & Nirenberg (1982) and Nelson et al. (1983). Additional information on these and related strains can also be found elsewhere (Demirel et

al., 2005). All strains were stored in suitable conditions at the Culture Collections of KUKENS (WDCM101), the Centre for Research and Application of Culture Collections of Microorganisms. Cultures were maintained at 4°C on potato dextrose agar (PDA) for use in the present study.

DNA Extraction, PCR Amplification and Sequencing

Genomic DNA extraction were conducted with strains grown on PDA for 7 days at 25°C using a modified method of Van Burik et al. (1998). DNA concentration were estimated visually in 1% agarose gels containing 5 µg/mL ethidium bromide by comparing band intensity with known quantities of DNA high range markers and the extracted DNA was stored at -20°C. To examine the phylogenetic relationship among the test strains of *Fusarium*, the nuclear ribosomal ITS1-5.8S-ITS2 region was amplified with primers ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') and ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (White et al., 1990). PCRs were performed using Techne Thermal Cycler (Techgene, Techne, UK) in 25-µL solution containing 1 µL of genomic DNA, 2.5 µL of 2.5-µM forward and reverse primers, 2.5 µL of Taq buffer + KCl-MgCl₂ (Fermentas), 2.5 µL of 25-mM MgCl₂ (Fermentas), 2 µL of 2.5-mM dNTPmix, 0.25 µL of 5-U/µL Taq DNA polymerase (Fermentas) and 11.75 µL of sterile deionised water. The amplification conditions consisted of initial denaturation at 95 °C for 2 min, followed by 35 cycles of denaturation at 95 °C for 1 min, annealing at 55 °C for 45 s, extension at 72 °C for 1.30 s and final extension at 72 °C for 5 min. To confirm the amplification, 5 µL of the PCR product together with marker (GeneRuler DNA Lader 50 bp Fermentas) was resolved by gel electrophoresis on 1% agarose gel containing 5 µg/mL ethidium bromide in 1X TAE buffer. Gel were photographed by Gel Documentation system (Uvitec M02 4611) (Demirel, 2016).



After agarose gel blocks containing DNA fragment were cut out and purified with Promega Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System, Cycle sequencing products were purified with Dynabeads® Sequencing Clean-Up to remove unincorporated dye-labeled nucleotides. Then, all the sequencing reactions were performed using CEQ™ DTCS Quick Start Kit (Beckman Coulter) by CEQ 8000 Genetic Analysis System.

Data Analysis

The ITS sequences were blasted with GenBank sequences (Altschul et al., 1990) to verify their identity; the closest Blast results are reported for each taxon (Table 1). The alignments were performed using the Muscle in MEGA 6.0 software package, together with the other sequences of morphologically and phylogenetically related species that were obtained from NCBI GenBank (Tamura et al., 2013). The aligned data sets were investigated using ML analysis based on the Tamura–Nei model (Tamura and Nei, 1993) as implemented in the MEGA 6.0 with 1000 bootstrap replications. All the positions containing gaps and missing data were eliminated. *Fusarium oxysporum* (KT794176) was used as the out group. The obtained sequence data have been deposited in GenBank with accession numbers.

Results and Discussion

The PCR products (570 bp) were obtained from all of the species by using the universal fungal primers (ITS1/ITS4), Figure 1 shows that the sizes obtained for the full ITS region amplified of all of the strains. The rDNA base sequences belong to investigated strains are presented in Table 1 together with closest Blast results. When each of this sequences were investigated by Blast, identity and coverage values were found between 98-100% and 97-100%, respectively (Table 1). The phylogenetic trees were obtained by comparison to all sequences with Genbank nucleotide sequence database that have ITS1-5.8S rRNA-ITS2 sequences (Figure 2). Figure 2 shows that the members of genera *Bionectria*, *Fusarium*, *Gibberella* and *Nectria* have almost identical topology with respect to the ITS locus. A

phylogenetic tree based on ITS region was structured at higher divergence levels. For investigated mainly closely related members, identical positions and four sections for specific clades such as *Bionectria*, *Fusarium*, *Gibberella* and *Nectria* genera were found.

The genus *Fusarium* is the anamorph stage of *Gibberella* genus (Samuels et al., 2001). The members of these genera are known as main and wide plant pathogens (Howard, 2002; Stone et al., 2004; Dragich and Nelson, 2014; Chehri, 2016). These two genera have been distinguished with especially teleomorph structures of *Gibberella* genus. The complexity about the their morphologic and microscopic identification has been related with varies problems such as depending on the host, loosing of stock cultures, limitations associated with morphological characters (Summerell et al., 2003; Hsuan et al., 2011; Antonissen et al., 2014). The findings of this study demonstrated the efficiency of ITS region and phylogenetic analysis of belong to these two genera. Figure 2 shows that *Fusarium* and *Gibberella* genera have considerably identical topology with the ITS locus. The genus *Gibberella* occurred in two main clades and two clear divergences, namely *Gibberella avenacea* and *Gibberella tricineta*, were noted. Furthermore, investigated members of *Fusarium* and *Gibberella* genera are polyphyletic.

The genus *Nectria* is a big genus with about 650 members and many species of *Nectria* genus are known as plant pathogens, and some of them are toxigenic to animals and humans (Schroers and Samuels, 1997). The genus *Bionectria* is one of the other plant pathogenic *Hypocreanlean* fungi and very similar to *Nectria* member (Schroers, 2001; Samaga et al., 2014; Melo et al., 2014). These two genera have some differences about their morphologic and chemical structure. However, *Bionectria* and *Nectria* genera have very similar morphologic and microscopic properties and distinguish of them has been very problematic for mycologist (Schroers and Samuels, 1997; Schroers, 2001).

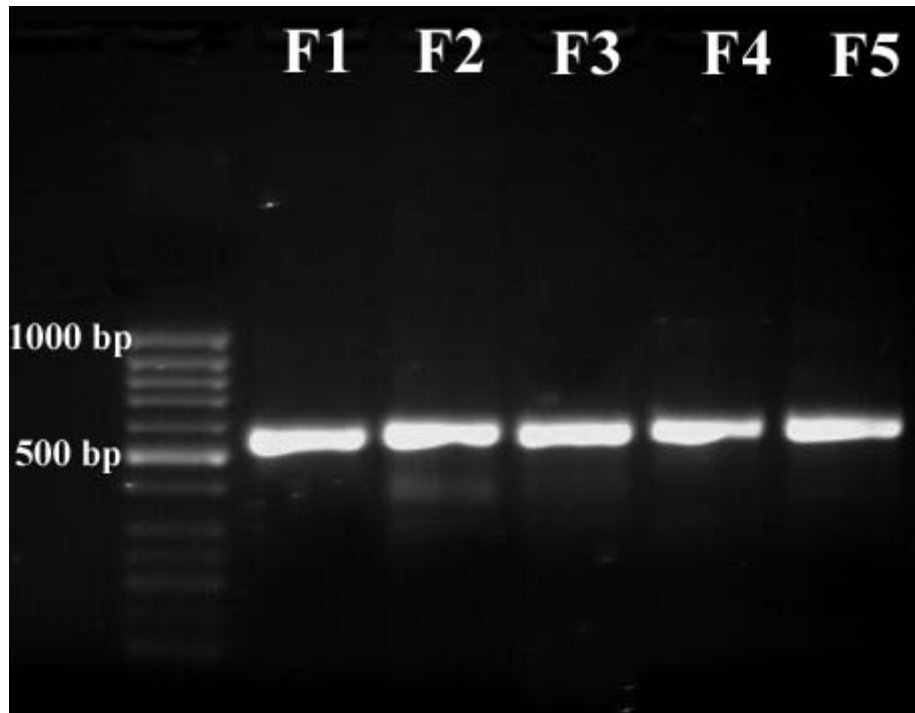


Figure 1. Full ITS PCR products amplified from all of the strains with ITS1/ITS4 primers. M, molecular-weight markers (50 bp GeneRuler DNA Lader, Fermentas)

Phylogeny based on the ITS region in this study showed a successfully topology for these genera and indicated main phylogenetic position of them as closely related but distinctly different members (Figure 2).

Table 1. Newly generated ITS sequences with their closest GenBank sequences (according to Blast searches)

| Species | Collection | GenBank accession number | Closest Blast hit (% identity/%coverage) |
|--|------------|--------------------------|--|
| <i>Fusarium solani</i> (Mart.) Sacc. | F1 | KX958415 | <i>Fusarium solani</i> KP992939 (99/100) |
| <i>Gibberella tricineta</i> El-Gholl, McRitchie, Schoult. & Ridings 1978 | F2 | KX958416 | <i>Fusarium tricinatum</i> KU556038 (98/97) |
| <i>Gibberella avenacea</i> R.J. Cook 1967 | F3 | KX958417 | <i>Fusarium avenaceum</i> KX839156 (99/99) |
| <i>Bionectria ochroleuca</i> (Schwein.) Schroers & Samuels | F4 | KX958418 | <i>Bionectria ochroleuca</i> AF358237 (99/100) |
| <i>Nectria inventa</i> Pethybr. | F5 | KX958419 | <i>Nectria inventa</i> KR709185 (100/100) |

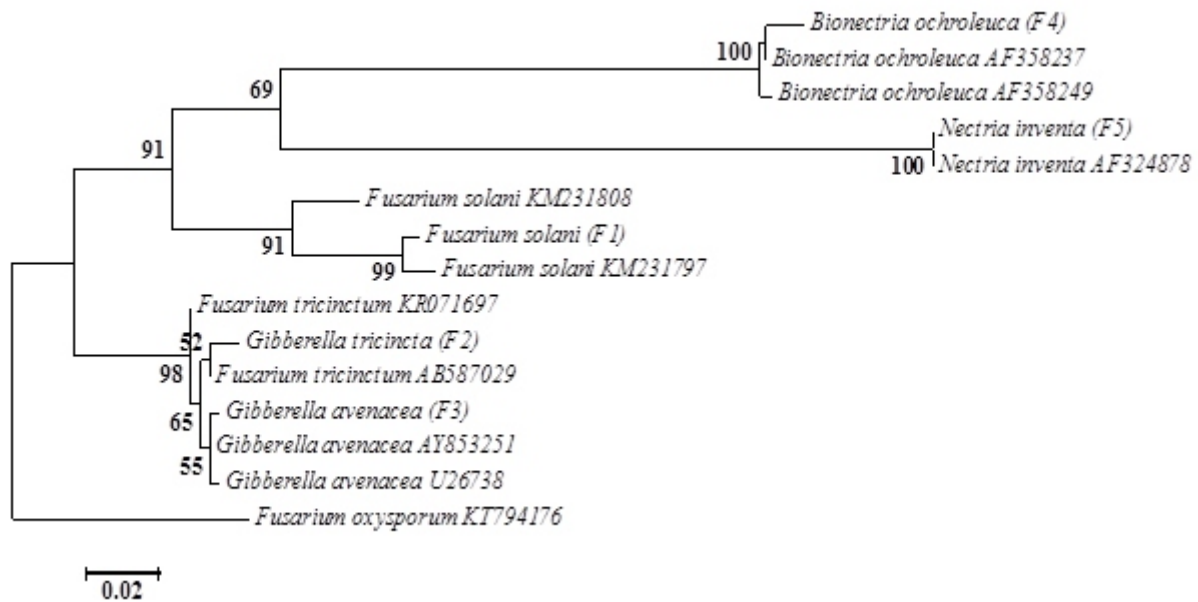


Figure 2. Best-scoring maximum likelihood tree based on the Tamura–Nei model calculated using MEGA 6.0 based on ITS sequences showing the relationships of the newly generated sequences in this study with previously known taxa in the NCBI GenBank. The scale bar denotes 0.02 substitutions per position. The tree with the highest log likelihood (-1499.8212) is shown. Initial tree for the heuristic search were obtained by applying the neighborjoining method to a matrix of pairwise distances estimated using the maximum composite likelihood approach. The tree is drawn to scale, with branch lengths measured in the number of substitutions per site. The analysis involved 15 nucleotide sequences. All positions with less than 50% site coverage, containing gaps, or missing data were eliminated. There were a total of 374 positions in the final dataset. The tree is rooted with *Fusarium oxysporum* (KT794176) (bootstrap 1000).

Conclusions

The results of this study demonstrated the efficiency of rDNA region and phylogenetic analysis in taxonomic studies of closely related members of *Hypocreanlean* fungi. In particular, ITS region was found to be success because of its high performance with regard to easy

application, topology, identification and clearly discrimination. In addition, high quality sequences of the ITS locus obtained in the present study have been deposited in the NCBI database for bridge over to other taxonomic studies of *Hypocreanlean* fungi.

References

- Altschul S.F., Gish W., Miller W., Myers E.W., Lipman D.J., *Basic Local Alignment Search Tool*, J Mol Bio, 215: 403-410 (1990).
- Antonissen G., Martel A., Pasmans F., Ducatelle R., Verbrugghe E., Vandenbroucke V., Li S., Haesebrouck F., Immerseel F.V., Croubels S., *The Impact of Fusarium Mycotoxins on Human and Animal Host Susceptibility to Infectious Diseases*, Toxins (Basel), 6(2): 430–452 (2014).
- Booth C., *The genus Fusarium*, CAB, Kew, UK; 237 p. (1971).
- Chehri K., *Molecular Identification of Pathogenic Fusarium Species, The Causal Agents of Tomato Wilt in Western Iran*, J Plant Prot Res, 56(2): 143-148 (2016)
- Demirel R., *Comparison of rDNA Regions (ITS, LSU, and SSU) of Some Aspergillus, Penicillium, and Talaromyces spp.*, Turk J Bot. 40:576-583 (2016).



- Demirel R., İlhan S., Asan A., Kınacı E., Oner S., *Microfungi in Cultivated Fields in Eskişehir Province (Turkey)*, J Basic Microbiol, 45: 279-293 (2005).
- Demirel R., Sariozlu N.Y., İlhan S., *Polymerase Chain Reaction (PCR) Identification of Terverticillate Penicillium Species Isolated from Agricultural Soils in Eskişehir Province.*, Braz Arch Biol Technol, 56 (6): 980-984 (2013).
- Dragich M., Nelson S., *Gibberella and Fusarium Ear Rots of Maize in Hawai'i*, Plant Dis, 102: 1-8 (2014).
- Gerlach W., Nirenberg H., *The Genus Fusarium a Pictorial Atlas*, Biologische Bundesanstalt für Land-und Forstwirtschaft Institut für Microbiologie, 406 p. (1982).
- Howard D.H., *Pathogenic fungi in Humans and Animals*, In: Mycology Series, Volume 16, and Second Edition, CRC Press, 800 p., New York (2002).
- Hsuan H.M., Salleh B., Zakaria L., *Molecular Identification of Fusarium Species in Gibberella Fujikuroi Species Complex from Rice, Sugarcane and Maize from Peninsular Malaysia*, Int J Mol Sci, 12: 6722-6732 (2011).
- Ismail M.A., Abdel-Hafez S.I.I., Hussein N.A., Abdel-Hameed N.A., *Contributions to the Genus Fusarium in Egypt with Dichotomous Keys for Identification of Species*, Tomasz M. Karpiński Publisher, 175 pp., Poland (2015).
- Melo I.S., Valente A.M.M.P., Kavamura V.N., Vilela E.S.D., Faull J.L., *Mycoparasitic Nature of Bionectria sp. Strain 6.21*, J Plant Prot Res, 54(4): 327-333 (2014).
- Nelson P.E., Toussoun T.A., Marasas W.F.O., *Fusarium Species: An Illustrated Manual for Identification*, The Pennsylvania State University Press, 193 p. (1983).
- Samaga P.V., Rai V.R., Rai K.M.L., *Bionectria ochroleuca NOTL33—An Endophytic Fungus from Nothapodytes Foetida Producing Antimicrobial and Free Radical Scavenging Metabolites*, Ann Microbiol, 64: 275–285 (2014).
- Samuels G.J., Nirenberg H.I., Seifert K.A., *Perithecial Species of Fusarium*, In: Summerell B.A., Leslie J.F., Backhouse D., Bryden WL., *Fusarium: Paul E. Nelson Memorial Symposium*, APS Press, St. Paul, MN, USA, 1-14 (2001).
- Schroers H.J., Samuels G.J., *Bionectria: A Genus for Species of the Nectria Ochroleuca Group*, Zeitschrift Für Mycologia, 63(2): 149-154 (1997).
- Schroers H.J., *A monograph of Bionectria (Ascomycota, Hypocreales, Bionectriaceae) and Its Clonostachys anamorphs*, Stud Mycol, 46: 1-96 (2001).
- Stone J.K., Polishook J.D., White J.F., *Endophytic Fungi in Biodiversity of Fungi: Inventory and Monitoring Methods*, Academic Press, p. 241-270, Burlington (2004).
- Summerell B.A., Salleh B., Leslie J.F., *A Utilitarian Approach to Fusarium Identification*, Plant Dis, 87(2): 117-128 (2003).
- Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A., Kumar S., *MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. Molecular Biology and Evolution*, 30: 2725-2729 (2013).
- Tamura K., Nei M., *Estimation of the Number of Nucleotide Substitutions in the Control Region of Mitochondrial DNA in Humans and Chimpanzees*, Mol Biol Evol, 10: 512-526 (1993).
- Van Burik J.A., Schreckhise R.W., White T.C., Bowden R.A., Myerson D., *Comparison of Six Extraction Techniques for Isolation of DNA from Filamentous Fungi*, Med Mycol, 36(5): 299–303 (1998).
- White T.J., Bruns T., Lee S., Taylor J., *Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics*. In: Innis M.A., Gelfand D.H., Sninsky J.J., White T.J., editors. *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. Academic Press, New York, 315–322 (1990).
- Young-Mi L., Choi Y., Min B., *PCR-RFLP and Sequence Analysis of the rDNA ITS Region in the Fusarium spp.*, J Microbiol., 38(2): 66–73 (2000).



Bitki Patojeni Funguslarda Virülans Faktörleri

Özlem Abacı GÜNYAR

Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü,
Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Bornova, İZMİR

Öz:Bu derlemede, bitki- fungus etkileşimini takiben hastalık gelişimi ve hastalık gelişiminde rol oynayan fungal virulans faktörleri özetlenmiştir. Tanımlanan fungus türlerinin yaklaşık %10' u 10,000' den fazla bitkide hastalıklara neden olmaktadır. Bu şekilde funguslar bitkilerde ciddi anlamda ekonomik kayıplara neden olurlar. Bitki patojeni funguslar enfeksiyon şekilleri, enfeksiyon yapısının farklılaşması ve işlevleri ve beslenme stratejileri açısından büyük farklılıklar göstermektedirler. Bitki, patojen fungus saldırılarına karşı yaşamını devam ettirebilmek adına bir tanıma mekanizması ve zamanında ve etkili bir şekilde bir savunma cevabı oluşturmaktadır. Bitki patojenik fungusların virülansı, birlikte çalışan ve enfeksiyonu ortak tarzda oluşturan çok sayıda parametrenin sonucudur.

Anahtar Kelimeler: Bitki patojeni funguslar, virulans.

Virulence Factors in Plant Pathogen Fungi

Abstract:In this review, disease development following plant-fungus interaction and fungal virulence factors that play a role in disease development and are summarized. Approximately 10% of the identified fungus species cause diseases over 10,000 plants. In this way fungi cause serious economic losses in plants. Plant pathogenic fungi show great differences in terms of infection patterns, differentiation and function of infection structure and nutrition strategies. The plant forms a recognition mechanism and a defense response in a timely and effective manner in order to survive against pathogenic fungus attacks. The virulence of plant pathogenic fungi is the result of numerous parameters that work together and make the infection common.

Key words: Plant pathogenic fungi, virulence

Giriş

1.Bitki patojeni fungusların enfeksiyon stratejileri

Bitki paraziti funguslar adezyon, konak tanıma, penetrasyon, çoğalma ve beslenme dahil olmak üzere patogenezin en önemli aşamalarını başararak enfeksiyon yapıları oluştururlar. Bitki patojeni fungus oluşturduğu enfeksiyon yapıları ile bitki dokusuna mekanik güç uygular. Enfeksiyon yapılarının oluşumu, kompleks düzenleyici yol izleri tarafından kontrol edilen ve düzenlenen gen ifadesi

eşliğinde gerçekleşir (Vadlapudi ve Naidu, 2011; Selin ve Kievit, 2016).

Bitki patojeni funguslar farklı yaşam şekilleri ve konukçu bitkileriyle etkileşim yolları geliştirmiştir. Bazı patojenler bitkiye girişin ardından konukçu hücreyi enzimler, reaktif oksijen türleri (ROS) ve/veya toksinlerinin kombinasyonu ile öldürmektedir ve onların organik bileşikleri üzerinde yaşarlar(Horbach ve ark. 2011; Pawlowski ve Hartman, 2016; Gebrie, 2016).



Bunlar nekrotrofik patojenler olarak bilinirler. Nekrotrofik patojenler geniş konukçu spektrumuna sahiptir ve hızlı bir şekilde doku hasarına neden olmaktadır. Biotrofik patojen ise tersine, obligat parazittir ve toksin üretmezler. Biotroflar yalnızca yaşayan konukçu hücrede hayat döngülerini tamamlarlar.(Horbach ve ark. 2011; Pawlowski ve Hartman, 2016; Gebrie, 2016).

Biotrofik patojenlerde bitki hücre duvarını aşarak konukçu hücreleri içerisine girmek için, özel enfeksiyon yapıları oluşturulmaktadır. Ektoparazitik funguslarda, bitki kütikülü üzerinde primer ve apressorial çimlenme tüpleri oluşturulur, appressorial germ tüpü apressoryum adı verilen enfeksiyon hücrelerine dönüşür (Gebrie, 2106). *Blumeria (=Erysiphe) graminis* f. sp. *hordei* DC. Merat Em. Marchal (*Bgh*) arpalarda külleme hastalığına neden olan zorunlu biotrofik fungal patojende apressoryum oluşumunun ardından apressoryum altından bir penetrasyon kancası çıkar, konukçu kutikülüne ve epidermal hücre duvarına penetre olmaya çalışır. Eğer penetrasyon başarılı olursa, kanca uçları hostoryuma farklılaşır. Hostoryum canlı bitki hücresi içerisinde besin eldesi için oluşturulan özelleşmiş yapılardır (Pawlowski ve Hartman, 2106).

Nekrotrofik funguslar ise fitotoksinler, hücre duvarı degrade edici enzimler üreterek konukçu bitki dokusunu öncelikle öldürürler. Nekrotrofide enfeksiyonkonidyum çimlendiğinde başlar; direkt olarak penetre olmak için enfeksiyon hifi oluşturur veya epidermise penetre olmak için penetrasyon ayaklarını oluşturan apressoryum gelişir (Zeilinger ve ark., 2016; Horbach ve ark., 2011; Pawlowski ve ark., 2016; Gebrie 2016). Apressoryum oksidaz, kütinaz, lipaz gibi konukçu kütikülünü ve yapışkan tabakayı degrade etmek için degrade edici enzimler salgılar. Penetrasyon ayakları dallanarak ve hücre duvarı degrade edici enzimler üreterek hücreleri öldürür ve nekrotik lezyonların oluşumuna neden olarak ilerler. Nekrotroflar genellikle kolonizasyonu kolaylaştırmak için fitotoksinler üretirler.

Macrophomina phaseolina (Tassi) Goid. tarafından üretilen botryodiplodin ve phaseolinone gibi geniş konukçu spektrumuna neden olan metabolitler veya *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. tarafından üretilen domates spesifik olan AAL toksin gibi konukçu spesifik toksinler nekrotrofide rol oynar (Zeilinger ve ark., 2016; Pawlowski ve ark., 2016; Gebrie 2016). Bununla birlikte, bu yaşam tarzları ve beslenme stratejilerinin kombinasyonları da bulunmaktadır ve patojenler ilk olarak geçici biyotrofik ardından nekrotrofik yaşam şekli gösterirler, bu patojenler hemibiyotroflar olarak adlandırılırlar (Horbach ve ark., 2011). Hemibiotrof tipte gelişim gösteren, soyada antraknoz etkeni olan *Colletotrichum truncatum*(Schwein.) Andrus & W.D. Moore bitki atıklarında aseksüel üreme yapıları olan misel ya da acervul olarak kalabilir. Acervulus konidyofor ve bol miktarda konidyum üretir. Konidyumlar, sıklıkla yağmurlarla bitki dokuları üzerine düşer. Enfeksiyon, konidyumun bitki dokusunda çimlenmesi ile başlar. Ardından melanize bir apressoryum oluşur. Subkütiküler tabakanın içinde, apressoryum, konukçu tarafından tanınmayan, hücre duvarları boyunca büyüyen ve hücre-içi boşluğun kolonizasyonu için bol miktarda dallanan primer enfeksiyon hiflerini oluşturur. Nekrotrofik evre patojenin primer hiften sekonder hifi oluşturmasının ardından başlar. Sekonder hif kolaylıkla epidermal ve mezofil hücrelere penetre olur. Hücreler yıkılır ve nekrotik lezyonlar oluşur. Enfeksiyondan 36 saat sonra acervulus gelişir. Bu yapı kış boyunca bitki atıkları üzerinde kalır ve baharda döngü tekrarlanır (Pawlowski ve Hartman, 2016).

2.Konukçu-fungus etkileşimi

2.1.Gene karşı gen hipotezi (gene for gene resistance)

Bitki patojenleri sağlıklı konukçu bitki savunma mekanizmalarını aşmak için çok fazla mekanizma geliştirmişlerdir. Patojen organizmanın sahip olduğu ve patojenitesinde rol oynayan proteinleri kodlayan genler avirulence geni (Avr geni) olarak tanımlanır.



Avirulans genlerinin ürünü proteinler patojenite ile ilgili efektör moleküllerdir. Bu moleküller bitkide immunitiyi tetikleyen moleküllerdir (Van der Does ve ark., 2007; Rouxel ve Balesdent 2010; Zeilinger ve ark., 2010). Efektörler konukçu hücre yapısını ve fonksiyonunu değiştiren, enfeksiyonu kolaylaştıran (virulans faktörleri veya toksinler) ve/veya savunma cevabını tetikleyen (avirulans faktörleri: Avr) moleküller olarak tanımlanmaktadır. (Zeilinger ve ark., 2016; Selin ve Kievit, 2016).

Konak bitki ve patojen arasındaki sinyalleşmede ve tanışmada görevli moleküllerin tanımlanması ve karakterizasyonu, son on yıl boyunca araştırmaların odağı olmuştur. Bitkinin hastalığa karşı savunma mekanizmalarından en önemlisi R (resistant=dayanıklılık) genleridir. R genlerinin ürünü olan PR proteinleri (Pathogen Related Proteins) patojene karşı dayanıklılığı sağlayan yapısal proteinlerdir. PR proteinleri patojen organizmanın bitkiye girmesi sırasında salgıladığı avirulan genlerinin ürünü olan sinyal moleküllerini tanır ve bu şekilde uyarılır. Bu mekanizmaya gene karşı gen hipotezi (gene for gene resistance) denir. Avr geni tarafından sentezlenen efektör moleküller, R geninin ürününe bağlanarak aktive eder. Aktif duruma geçen R geninin ürünü de savunma yanıtını başlatacak olan sinyallerin iletimini sağlar. Bu etkileşim sonucu enfekte olan hücrenin etrafındaki komşu hücrelerde hızlı bir şekilde apoptoz (programlanmış hücre ölümü) gözlenir. Bu şekilde patojenin konukçu bitkide yayılması engellenir. Buna Hipersensitif Tepki (HR) adı verilir (Van der Does ve ark., 2007; Zeilinger ve ark., 2010; Sexton ve Howlett, 2006; Gonzalez-Fernandez, 2010). Patojen ile etkileşime giren konukçu hücre ne kadar hızlı ölürse, bitki enfeksiyona o kadar dayanıklı olur (Van der Does ve ark., 2007; Zeilinger ve ark., 2010; Sexton ve Howlett, 2006).

Bitki direnç genleri ve patojenin avirulan genleri arasındaki etkileşim bitkide ırk spesifik direnci etkileyen sinyal transdüksiyon kaskadını

başlatmaktadır. Domates-*Cladosporium fulvum* Cooke patosistemi içindeki *Cf9* ve *avr9* genleri en iyi bilinen örnektir. Bu patosistemde fungal ırk spesifik *avr9 geni* ürünü direnç geni olan *Cf9* genini taşıyan domateste HR' yi indüklemektedir. Tersine bu genotipteki domateste bulunan fungal ırk *avr9* genini taşıyor ise efektörler üretilmemektedir. R protein veya Avr proteinlerinin üretilmediği koşullarda etkileşim olmadığı için patojen bitki tarafından tanınmaz ve patojen bitkide yayılmaya başlar (Zeilinger ve ark., 2010).

2.2. Bitkilere Karşı Fungal Patojenin Evrimi

Avirulans genleri ve R genlerindeki mutasyon oranı infeksiyonda rol almayan genlere göre yüksektir (Van der Does ve ark., 2007). Bu yüksek mutasyon oranının nedeni patojenin virulans faktörleri ve konukçunun üzerindeki patojen için hedef olan bölgeler arasındaki silahlanma yarışından kaynaklanmaktadır. Patojenin virulans faktörlerinin etkisini nötralize etmek adına fungal saldırı için hedef olan konukçu proteinlerinde değişiklikler oluşmaktadır. Patojen ise bu değişen hedef proteinlere saldırı yeteneğini devam edebilmek için virulans faktörlerinde değişikliğe gitmek zorundadır. Sonuç olarak patojenin virulans genleri ve bitkideki patojen için hedef bölgelerde hızlı bir şekilde evrimleşmektedir (Van der Does ve ark., 2007).

Konukçu bitki hastalık etmeninden başarılı bir şekilde korunduktan sonra (yani potansiyel tanıma hedeflerinin kaybı ile), hastalık etmeni doğal seleksiyona tabi olur ve hastalık yapabilmek için yeni mekanizmalar geliştirmeye çalışır. Bu sırada hedefleri ile bağlantıyı kesmemek adına virulans ile ilgili olan salgısal proteinlerde yüksek mutasyon gözlenir. Aynı zamanda meydana gelen horizontal gen transferi ile türler arasında veya farklı vejetatif olarak incompatible aseksüel türlerin klonları arasında horizontal gen transferi ile bir veya birkaç gen aktarımı gerçekleşir. Bu şekilde fungus yeni virulans geni kazanabilir (Van der Does ve ark., 2007).



Evrimsel süreçte horizontal olarak alınmış genler saptanabilir. Bu genlerin farklı GC oranları ve kodon eğilimleri olur. Horizontal olarak kazanılan genler replikasyon, transkripsiyon ve translasyon gibi temel moleküler işlem genlerini değil, metabolik ve virülens genleri kapsar (Mehrabi ve ark., 2011). Bunun bitki patojenik funguslar içerisinde en iyi örneği *Nectria haematococca* Berk. & Broome'nın (anamorfu *Fusarium solani*) bezelyede hastalık yapması için gerekli olan PEP ve PDA genleri (patojenite genleri) 1,6 Mb'lık CD (conditionally dispensable chromosome) kromozomu üzerinde bulunmaktadır. Bakterilerdeki patojenite adaları gibi CD kromozomu virulans ile ilgili genleri ve yüksek oranda yer değiştirebilen genetik elementler (*Transposable genetik elementler*) içermektedir ve genomun diğer kısımları ile karşılaştırıldığında farklı GC içeriğine sahip olduğu görülmektedir. Farklı *Nectria* türlerinden horizontal gen transferi ile gelmiştir. CD kromozomu içermeyen bir süşü virulans genlerini içeren kısım aktarıldığında bezelyede organizmanın virulansının arttığı gözlenmiştir (Van der Does ve ark., 2007; Mehrabi ve ark., 2011).

Yine diğer bir önemli bitki patojeni tür *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* (Sacc.) W.C. Snyder and H.N. Hans domates yanıklığı hastalığı etkenidir. Six1 proteini sistein bakımından zengin bir proteindir ve virulansa katkı sağlamaktadır. SIX1 geni avirulans genidir ve domatesteki I-3 direnç geni ile eşleşmektedir ve 2 Mb'lık en küçük kromozom üzerinde yer almaktadır. SIX2 geni ürünü infeksiyon sırasında salgılanmaktadır. Six1 ve Six2'ye ilave olarak enfekte bitkinin ksilem özsuğunda 8' den fazla fungal protein saptanmıştır. Ve bu proteinleri kodlayan genler aynı kromozom üzerinde bulunmaktadır. *Fusarium oxysporum* E.F. Sm. & Swingle geniş konukçu aralığına sahip olmasına rağmen, bu türün tek bir izolatu bir ve birkaç bitki türünü infekte edebilmektedir. Bu nedenle türler konukçu spesifikliğine dayanarak formae speciales olarak sınıflandırılmıştır. SIX1, SIX2 ve salisilat hidrosilaz kodlayan gen tüm

F.oxysporium f. sp. *lycopersici* izolatlarında bulunur, fakat diğer formae speciales veya diğer patojenik olmayan türlerde bulunmaz (Van der Does ve ark., 2007; Mehrabi ve ark., 2011).

2.3. Konukçu- Patojen Etkileşiminde Eftörlerin Rolü

Bitki patojenik funguslarda başarılı bir kolonizasyon ve infeksiyon, kendileri için gerekli besini temin etmek adına canlı bitki konukçusunu modifiye etme yeteneğine bağlıdır. Salgılanan virulans determinantlarına eftörler denilmektedir. Bitkilerde hastalık gelişiminde patojenler tarafından salgılanan enzimler, toksinler, büyüme regülatörleri gibi eftör moleküller direk veya indirek rol almaktadır. Bu moleküllerin patojenitedeki önemi ise hastalıklara göre değişmektedir.

2.3.1. Bazı fungal eftör moleküller

2.3.1.1. Sekonder metabolitler:

Sekonder metabolitler farklı mikroorganizmalar (funguslar ve aktinobakteriler ve diğerleri) tarafından üretilen küçük organik moleküllerdir. Nonribosomal peptid sentetaz ve poliketid sentaz (PKS) veya dimetilallyl transferaz ve preniltransferazlar gibi enzimlerin fonksiyonu ile üretilirler. Bu özel metabolitler genelde büyüme için gerekli değildir. Fakat belli koşullar altında ve belli habitatlarda üretici organizma için avantaj sağlamaktadır. Funguslarda, sekonder metabolit üretiminden sorumlu genler genellikle kromozomların ucunda subtelomerik bölgede kümeler oluşturur (McDonagh ve ark. 2008; Scharf ev ark., 2014). Subtelomerik DNA sekanslarının korunmuş bir özelliği, aktif transpozable elementlerden veya transpozon kalıntılarından oluşan tekrarlayan elementlerin (RE) varlığıdır. Örneğin penisilin sentezinden sorumlu gen kümesi sadece üç gen içerir ve kromozom VI'nın telomerinden yaklaşık Kb uzaklıkta bulunur (Palmer ve Keller 2010).

Örneğin *Aspergillus fumigatus* Fresen.' ta sekonder metabolitlerin üretiminden sorumlu genlerin kromozomların subtelomerik bölgelerinde dağıldığı gösterilmiştir.



Melanin sekonder metabolitlere iyi bir örnektir. Fenolik öncüllerden oksidatif polimerizasyon ile türevlenen yüksek moleküler ağırlıklı koyu renkli pigmentlerdir. Funguslarda, iki tip melanin bulunmaktadır. Dihidroksinaftalen (DHN) melanin ve dihidroksi fenilalanin (DOPA) melanin ve türevleri virulansa fayda sağlamaktadır. Melanin fonksiyonu çok geniştir. Organizmayı çevresel streslere karşı korumada rol oynamaktadır. Yine birçok bitki ve insan patojenik fungusta patojeniteye yardım etmektedir (Scharf ve ark., 2014; Ludwig-Müller, 2015; Ryder ve Talbot, 2015).

Bitki patojeni fungus *Magnaporthe oryzae* önemli pirinç patojenidir ve pirinç bitkisinin yapraklarının enfeksiyonu için bitki hücre duvarına fungusun penetrasyonu gerekmektedir. Bu proses için gerekli olan yüksek turgor basıncı DHN içeren özelleşmiş fungal yapı olan appressorium tarafından üretilmektedir. Appressorium gliserol ve diğer biyoyumlu moleküller biriktirerek çiğ damlasından su almayı başarır. Appressoriumun hücre duvarında bulunan melanin tabakası gliserol ve diğer biyoyumlu moleküller gibi ozmotik aktiviteye sahip maddelerin geçişine izin vermez. Bu nedenle appressorium içindeki turgor basıncı artar ve oluşan bu basınç ile penetrasyon çivisi bitkinin fiziksel penetrasyonunu gerçekleştirir (Scharf ve ark., 2014; Ludwig-Müller 2015; Ryder ve Talbot, 2015; Goriely ve Tabor, 2006). Melanin kusurlu *Magnaporthe oryzae* B.C. Couch mutantları pigmentless appressorium üretir ve yaprak kütikülünün epidermal hücrelerine penetre olamaz (Scharf ve ark., 2014).

Sekonder metabolitlerden birisi de sideroforlardır. Demir ökaryotik organizmalar için kaçınılmaz bir besindir. Demir sınırlaması ile baş edebilmek patojenite için ön koşuldur. Demir çevrede okside formda bol miktarda bulunmasına rağmen bitki ve hayvan konukçusunda nisbeten daha az miktarda bulunmaktadır. Fungal patojenler demir bağlamak için sideroforlar üretmek şeklinde farklı stratejiler geliştirmişlerdir. Sideroforlar

küçük salgısal moleküllerdir. Fungal patojenin demir bağlamasını sağlar. Sideroforlar sekonder metabolittir çünkü sentezleri nonribozomal peptid sentaz yol izi ile ilgilidir ve insanlarda bu enzim olmadığı için fungusun kontrolü için kullanılan ilaçlar için ideal hedeflerdir. Bu nedenle siderofor üretimi virulans için gereklidir. *M. oryzae*'nin ürettiği tek hücre içi siderofor ferricrocin melaninde olduğu gibi bitki enfeksiyonu için gerekli olan appressoriumda turgor basıncı oluşumu ile ilgili olarak patojeniteye yarar sağlar (Scharf ev ark., 2014).

Bitki patojeni fungusların hastalandırdıkları bitkilerde fitotoksin olarak adlandırılan toksik maddeler ürettikleri bilinmektedir. Bu toksik moleküllerin de çoğu sekonder metabolit olup düşük molekül ağırlıkta küçük moleküllerdir ve bundan dolayı enfeksiyon bölgesinden çok daha uzak bölgelere yayılabilir ve taşınabilirler. Fitotoksinler konukçuya spesifik toksinler (patojene hassas yalnızca bir bitkiyi etkiler) ve konukçuya spesifik olmayan toksinler (daha geniş bir konukçu dizinini etkiler) olarak sınıflandırılabilirler. *Cochliobolus*, *Alternaria*, ve bazı *Pyrenophora* türleri tarafından üretilen konukçu spesifik toksinler, *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg' in fuminosin mikotoksini, *M. oryzae*'nin pyrichalasin H ve Ace1'i iyi bilinen toksik sekonder metabolitlerdir. ACE1 geni hem poliketid sentaz hem de non-ribozomal peptid sentaz domaini (PKS-NRPS) ile sitoplazmik hibrit protein kodlar ve penetrasyon sırasında spesifik olarak eksprese edilir. Ace1 pirinç direnç geni Pi33 tarafından tanınan hala bilinmeyen bir sekonder metabolit kodlar. Patojene ait bazı kodlama yapmayan küçük (small) RNA moleküllerinin bitki bağışıklık sistemini baskıladığı gözlenmiştir. *Botrytis cinerea* Pers. ' da bazı küçük RNA' ların *Arabidopsis* ve domates genleri üzerinde konukçu RNA interferans makinesini bertaraf ederek konukçu bağışıklığını baskıladığı gözlenmiştir (Zeilinger ev ark., 2016).



2.3.1.2.Enzimler: Bitki hücre duvarı polisakkaritler, proteinler, aromatik polimerlerden oluşan heterojenik bir yapıdır. Hücre duvarının yapısı ve kompozisyonu bitki türleri arasında değişiklik gösterse de hepsi pektin, hemiselüloz, lignin ve yapısal proteinlerden oluşan bir matriks içinde gömülü selüloz mikrofibriller içermektedir. Bunların miktarı farklı bitki gruplarında farklılıklar göstermektedir. Bu nedenle fitopatojenik funguslar bitki hücre duvarı bariyerini aşmak için hücre duvarı degrade edici enzimler salgırlar. Bu enzimler özellikle özelleşmiş penetrasyon yapısı oluşturmeyen fitopatojenik funguslar için önemlidir (Zeilinger ev ark., 2016; Zhao ve ark., 2013).

Karbonhidrat aktif enzimler (CAZymes) oligo ve polisakkaritler (sellüloz ve hemisellülozda dahil olmak üzere) olan glikokonjugatların glikosidik bağlarını hidrolitik olarak parçalama yeteneğindedir (Kubicek ve ark., 2014). Patojen funguslar tarafından üretilen bu enzimler bitki hücre duvarının yıkımında önemli rol oynamaktadırlar. Karbonhidrat aktif enzimler temelde glikozit hidrolazlar (GHs), glikosiltransferazlar (GTs), polisakkarit liyazlar (PLs), karbonhidrat esterazlar (CEs) olarak 4 fonksiyonel gruba ayrılırlar. Bunların arasında karbonhidrat esterazlar, glikozit hidrolazlar, polisakkarit liyazlar hücre duvarı degrade edici enzimler (cell wall degrading enymes (CWDEs) olarak bilinirler (Zhao ev ark., 2013).

Bitki hücre duvarı selüloz, hemisellüloz, pektin ve lignin içermektedir. Dolayısı ile fungusların lignosellüloz-degrade edici enzim sistemleri temel olarak; lignin degradasyonu için peroksidaz ve lakkazlar, selüloz degradasyonu için selülaz, hemisellüloz degradasyonu için hemisellülaz ve pektin degradasyonu için pektinaz gibi glikozit hidrolazlar içermektedir. 103 fungus ile yapılan genomik analizler bu fungusların karbonhidrat esteraz ve PL1 pektat liyaz gibi çok sayıda karbonhidrat aktif enzime (CAZymes) sahip olduklarını göstermiştir ve bu enzimler hücre duvarı degrade edici enzimler (cell wall degrading enymes (CWDEs) olarak

bilinirler (Zeilinger ve ark., 2016; Zhao ve ark., 2013). *Saccharomyces* ve *Schizosaccharomyces* hariç çoğu fungus çok sayıda hücre duvarı degrade edici enzimleri kodlayan genlere sahiptir. Ve çoğu bitki patojenik funguslardır (Zhao ve ark., 2013). Bu fungusların saprofitik funguslar ile kıyaslandığı zaman ölü lignosellülozik materyali daha etkili bir şekilde parçaladığı görülmektedir. Hemibiotrofik *Fusarium graminearum* Schwabe ve *M. oryzae* hücre duvarı degrade edici enzimleri kodlayan genlerin konukçunun enfeksiyonu sırasında upregüle edildiği gözlenmektedir. Nekrotrofik patojen *B. cinerea*' da virulans ve pektinaz ve ksilanaz gibi enzimlerin üretimi arasında korelasyon görülmektedir. Fungal nekrotrof ve hemibiotrofların tersine beslenmesi için canlı bitki dokularına ihtiyaç hisseden çoğu biotrofların genomlarında hücre duvarı degrade edici enzim kodlayan gen bölgesi daha azdır. Ve hatta glikozit hidrolaz ailesi 6 (GH6) endoglukanaz ve sellobiohidrolaz aktivitesi yoktur (Zhao ve ark., 2013).

Obligat bitki patojeni funguslar tarafından hastalık gelişimi konukçuya başarılı bir şekilde penetrasyon gerektirmektedir. Bu şekilde patojen gelişir. Bitki kütikülü bu patojenlerin penetrasyonunda rol oynar. Kütikülün asıl kompananetleri kütin ve yapışkan tabakadır. Kütin ve yapışkan tabakayı hidroliz eden fungal esteraz ve kütinazlar hastalık gelişiminde önemli role sahiptir (Feng ve ark., 2009).

Zhao ve ark.'nın 2013'de yaptıkları çalışmada 103 fungustan 83'ünde kütinaz aktivitesi saptanmıştır. İki nekrotrofik fungus *Gaeumannomyces graminis* (Sacc.) Arx & D.L. Olivier ve *Verticillium albo-atrum* Reinke&Berhhold' da kütinaz aktivitesi saptanmıştır. Tüm biotrofik funguslarda kütinaz saptanırken, simbiyotik funguslar olan *Paxillus involutus* (Batsch) Fr. ve *Paxillus rubicundulus* P.D. Orton' ta kütinaz saptanmamıştır (Zhao ve ark., 2013). Fungus doku ile temas ettikten ve dokuya girdikten sonra öncekinden 1000 kat daha fazla kütinaz üretmektedir.



Fungusun çimlenme tüpünün bitki dokusuna giriş noktasında ve penetrasyon çivisinde enzim konsantrasyonunun en yüksek seviyeye ulaşması bu enzimin penetrasyonda rol oynadığının önemli bir göstergesidir. Yapılan çalışmalar *Pyrenopeziza brassicae* B. Sutton & Rawl.'deki kütinaz geni *PBC1* ve *M. grisea*'daki *CUT2*'deki gen bozma çalışmaları kütinazın konak penetrasyonunda rol oynayan çok önemli bir virulans determinantı olduğunu göstermektedir (Feng ve ark., 2009). *B. graminis* f.sp. *hordei* ile epidermal hücre penetrasyonu hem enzimatik yumuşama hem de mekanik güç uygulaması içermektedir. Çimlenmiş ve çimlenmemiş her iki sporda hidrolitik esteraz, kütinaz ve lipaz enzimlerini salgılamaktadır. Esterazlar spor adezyonu, primer germ tüpü oluşumu ve penetrasyonda rol oynamaktadır (Feng ve ark., 2009).

Hücre duvarının orta lamelinde yer alan pektin; pektin liyaz, pektin esteraz ve poligalakturonaz enzimleri tarafından parçalanır. Fungal patojenlerde pektin degradasyonunda poligalakturonazların kritik rol oynadığı belirtilmektedir. Nekrotrofik *Sclerotinia sclerotiorum*, *Botryotinia fuckeliana* (de Bary) Whetzel poligalakturonazları ürettiği bilinmektedir ve pektin degradasyonunda yüksek kapasiteye sahiptirler (Zhao ve ark., 2013).

Pektin parçalayıcı enzimler dokularda yumuşak çürüklük olarak karakterize edilen hastalıklarda rol oynamaktadırlar. Pektinin parçalanması sonucunda dokuda erime, yumuşama ile bitki dokularındaki hücrelerin tek tek ayrılması ve ölüm görülür. Primer hücre duvarının pektolitik enzimler tarafından zayıflatılması sonucu hücrelerin öldüğü düşünülmektedir. Bu enzimler enfekteli dokulardaki patojenlere besin de tedarik eder. Pektolitik enzimlerin vasküler solgunluk hastalıklarında da rolü vardır (Zhao ve ark., 2013).

Bitki hücrelerinin iskeleti durumunda olan selüloz patojenin ürettiği enzimlerle (beta-glikosidaz, sellobiaz) parçalanarak glikoza dönüştürülür (Kubicek ve ark., 2014).

Lignoselluloz; selüloz, hemisellüloz ve ligninden oluşan sıkı bir komplekstir. Lignoselluloz degradasyonu heterojenik enzim grubunun birlikte iş gördüğü bir prosestir. Örneğin selülozun degradasyonu endoglukanazlar, sellobiohidrolazlar ve β -1, 4- glukosidazların birlikte iş görmesi ile sağlanır. GH1, GH3, GH5, GH45 ve GH74 ailelerindeki sellülazlar, GH3, GH10, GH11 ve GH39 ailelerindeki ksilanazlar gibi GH sınıfı enzimler lignosellülozun degradasyonunda görev almaktadır. GH3 ailesi enzimleri substrat spesifikliğine göre β -D-glukosidaz, α -Larabinofuranosidaz, β -D-ksilopiranosidaz, ve N-asetil- β -D-glukozaminidaz olarak sınıflandırılmaktadır. GH ailelerinin en büyüklerinden birisi olan GH5 farklı substratlar üzerinde en genel form olan ekzo/endo glukonazlar ve endomannazlar ile faaliyet göstermektedir. Ve araştırılan funguslar arasında en önemlisi ve en sık bulunanı GH5 ailesidir ve lignosellülazın degradasyonunda önemli rol oynamaktadır (Zhao ve ark., 2013).

2.3.1.3. Büyüme regülatörleri: Doğal olarak bitki tarafından üretilen bitki gelişimini düzenleyen maddelere büyüme düzenleyicileri denilmektedir. Bunların en önemlileri oksinler (auxin), gibberellinler, sitokininler, etilen ve absisik asittir. Büyüme düzenleyicilerinin normal konsantrasyonlarındaki çok küçük değişiklikler bile bitki gelişiminde farklılık yaratır. Birçok bitki patojeni organizma bu bileşikler sentezleyerek doku anormalliklerine, yaprak dökümüne neden olur. Oksin bitki dokusunda bulunan hormonların dengesinin değişmesine, sonuçta doku anormalliklerine neden olur. *Ustilago maydis* (DC.) Corda oksinleri iyi bilinmektedir. Gibberillin tohumda depolanan nişastanın parçalanması, endospermdeki proteinlerin parçalanması, tohum çimlenmesini teşvik etmesi gibi rollere sahiptir. *Gibberella fujikuroi* (Sawada) Wollenw. tarafından üretilen gibberillin çeltik fidelerinin aşırı uzaması olarak bilinen pirinç bakanae hastalığına neden olur (Ludwig-Müller, 2015; Troncoso ve ark., 2010).



Tartışma

Bu derleme çalışmasında bitki- fungus etkileşimi, sonucunda hastalık gelişimi sırasında rol oynayan fungusa ait virulans faktörleri üzerinde durulmuştur. Patojenik funguslar, yaygın olan kolonizasyon mekanizmalarını kullanarak bitkinin zarar gördüğü ilişkiler kurarlar. Bu sırada fungus, kolonizasyonu kolaylaştıran ve patojenik ilişkilere katkıda bulunan küçük peptid efektörler, enzimler ve sekonder metabolitler gibi biyoaktif molekülleri salgılar. Son yıllarda moleküler biyolojide meydana gelen gelişmeler, patojen fungusların ve konukçu bitkilerin etkileşiminde yer alan genlerin tanımlanmasına ve ayrıntılı fonksiyonel analizine izin vermiştir.

Lu ve ark. tarafından, 85 fungal genusa ait 228 adet suşun içerdiği 2058 adet virulans faktörünü kodladığı bilinen genleri içeren kapsamlı bir çevrimiçi veritabanı oluşturulmuştur. Araştırmacılar bu şekilde herhangi bir fungal patojen için varsayılan virulans faktörlerini tahmin etmek için yeni bir algoritma geliştirmeyi amaçlamışlardır. Bu veri tabanının fungal patojenlerle ilgili çalışmalarını teşvik edecek ve kolaylaştıracak önemli bir platform oluşturduğu vurgulanmaktadır. Enfeksiyon ve kolonizasyon süreçlerinin tüm aşamalarına eşlik eden ve kontrol eden olayların bilinmesi bitki patojeni fungusların kontrol edilmesi çalışmalarında önem arz etmektedir.

Kaynaklar

- Feng J., Wang F., Liu G., Greenshields D., Shen W., Kaminskyj S., Hughes G.R., Peng Y., Selvaraj G., Zou J., Wei Y., *Analysis of a Blumeria graminis-Secreted Lipase Reveals the Importance of Host Epicuticular Wax Components for Fungal Adhesion and Development*, Mol Plant Microbe Interact., 22 (12): 1601–1610 (2009).
- Gebrie S.A., *Biotrophic Fungi Infection and Plant Defense Mechanism*, J Plant Pathol Microbiol, 7(9), 1-6 (2016).
- Gonzalez-Fernandez R., Prats E., Jorriñ-Novo J.V.J., *Proteomics of Plant Pathogenic Fungi*, Journal of Biomedicine and Biotechnology, (Article ID 932527): 1-36 (2010).
- Goriely A., Michael Tabor M., *Estimates of biomechanical forces in Magnaporthe grisea*, Mycological research 110(Pt 7):755-9 (2006).
- Horbach R., Navarro-Quesada A.R., Wolfgang Knogge W., Deising H.B., *When and how to kill a plant cell: Infection strategies of plant pathogenic fungi*, Journal of Plant Physiology, 168: 51–62 (2011).
- Kubicek C.P., Starr T.L., Glass N.L., *Plant Cell Wall-Degrading Enzymes and Their Secretion in Plant-Pathogenic Fungi*, Annu. Rev. Phytopathol., 52: 427–51 (2014).
- Lu T., Yao B., Zhang C., *DFVF: database of fungal virulence factors*, Database, 2012, : 1-4 (2012).
- Ludwig-Müller J., *Bacteria and fungi controlling plant growth by manipulating auxin: Balance between development and defense*, journal of Plant Physiology, 4-12(2015).
- McDonagh A., Fedorova N.D., Crabtree J., Yu Y., Kim S., Chen D., Loss O., Cairns T., Goldman G., Armstrong-James D., Haynes K., Hubertus H., Schrettl M., May G., Nierman W.C., Bignell E., *Sub-Telomere Directed Gene Expression during Initiation of Invasive Aspergilliosis*, PLoS Pathogens, 4 (9) 1-11 (2010).
- Mehrabi R., Bahkali A.H., Abd-Elsalam K.A., Moslem M., M'Barek S.B., Gohari A.M., Jashni M.K., Stergiopoulos I., Kema G.H.J., de Wit J.G.M., *Horizontal gene and chromosome transfer in plantpathogenic fungi affecting host range*, FEMS Microbiol Rev, 35: 542–554 (2011).
- Palmer J.M., Keller N.P., *Secondary metabolism in fungi: does chromosomal location matter?*, Curr Opin Microbiol. 13(4): 431–436 (2010).



- Pawlowski M.L., Hartman G.L., *Infection Mechanisms and Colonization Patterns of Fungi Associated with Soybean*, Fungal Pathogenicity, Sultan, S. (Ed.), InTech, DOI: 10.5772/62305. Available from: [https://www.intechopen.com/books/fungal-pathogenicity/infection-mechanisms-and-colonization-patterns-of-fungi-associated-with-soybean\(2016\)](https://www.intechopen.com/books/fungal-pathogenicity/infection-mechanisms-and-colonization-patterns-of-fungi-associated-with-soybean(2016)).
- Rouxel T., Balesdent M., *Avirulence Genes*, *Encyclopedia of Life Sciences (ELS)*. John Wiley& Sons, Ltd: Chichester., 1-13 (2010).
- Ryder L.S., Talbot N. J., *Regulation of appressorium development in pathogenic Fungi*, *Current Opinion in Plant Biology*, 26:8–13 (2015).
- Scharf D.H., Heinekamp T., Brakhage A.A., *Human and Plant Fungal Pathogens: The Role of Secondary Metabolites*, *PLOS Pathogens*, 10 (1): 1-3 (2014).
- Selin C., Kievit T., *Elucidating the Role of Effectors in Plant-Fungal Interactions: Progress and Challenges*, *Frontiers in Microbiology*, 7(Article 600): 1-21 (2016).
- Sexton A.C., Howlett B.J., *Parallels in Fungal Pathogenesis on Plant and Animal Hosts*, *Eukaryotic Cell*, 5(12): 1941–1949 (2006).
- Troncoso C., González X., Bömke C., Tudzynski B., Gong F., Hedden P., Rojas C., *Gibberellin biosynthesis and gibberellin oxidase activities in Fusarium sacchari, Fusarium konzum and Fusarium subglutinans strains*, *Phytochemistry*, 71: 1322–1331 (2010).
- Vadlapudi V., Naidu K.C., *Fungal pathogenicity of plants: Molecular approach*, *European Journal of Experimental Biology*, 1 (1): 38-42 (2011).
- Van der Does H.C., Martijn Rep M., *Virulence Genes and the Evolution of Host Specificity in Plant-Pathogenic Fungi*, *Mol Plant Microbe Interact*, 20(10):1175-82 (2007).
- Zeilinger S., Gupta V.K., Dahms T.E.S., Silva R.N., Singh H.B., Upadhyay R.S., Gomes E.V., Tsui C.K., Nayak S. C., *Friends or foes? Emerging insights from fungal interactions with plants*, *FEMS Microbiology Reviews*, 40(2):182-207 (2016).
- Zhao Z., Liu H., Wang C., Xu J., *Comparative analysis of fungal genomes reveals different plant cell wall degrading capacity in fungi*, *BMC Genomics*, 14:1-15 (2013).



Increasing of Laccase and Manganese Peroxidase Activity by Co-Culture of Immobilized *Pleurotus ostreatus* and *Lentinus tigrinus* Mycelia

Selen Seyide UZAR¹, Ayşe Betül KARADUMAN², Mustafa YAMAÇ^{3*}

¹ Büyükdere District, Güteryüz Street, No: 21 / 17, Eskişehir, Turkey.

² Eskişehir Osmangazi University, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Eskişehir, Turkey.

³ Eskişehir Osmangazi University, Faculty of Science and Arts, Department of Biology, Eskişehir, Turkey.

Abstract: In this study it has firstly reported the using of immobilized fungal mycelia in fungal co-culture studies to enhance activity of lignin-modifying enzymes. For this purpose, the mycelia of *Pleurotus ostreatus* OBCC 6043 and *Lentinus tigrinus* OBCC 3007 were immobilized on nylon scouring pad as carrier material. The immobilized mycelia of the fungi were compared in terms of their laccase and manganese peroxidase activities in mono- and co-culture conditions. The maximum laccase activities of pure *Pleurotus ostreatus* OBCC 6043 and *Lentinus tigrinus* OBCC 3007 cultures were determined as 53.73 and 27.58 U/L, respectively, while the maximum manganese peroxidase activities were 12.54 and 52.02 U/L. In co-culture conditions, distinct enhancement was observed in laccase and manganese peroxidase activities as 319.28 and 554.33 U/L, respectively. In the case of laccase, enzyme activity was 5.94 and 11.58 times higher than that of *Pleurotus ostreatus* OBCC 6043 and *Lentinus tigrinus* OBCC 3007 mono-cultures, respectively. On the other hand, manganese peroxidase activity could be improved distinctly, 44.21 and 10.66 fold higher values than the corresponding ones. The results of the present co-culture study are significantly higher than most of the reported results in the literature, not only for laccase but also for manganese peroxidase activity.

Key words: Immobilization, Laccase, *Lentinus tigrinus*, Manganese peroxidase, *Pleurotus ostreatus*.

Immobilize *Pleurotus ostreatus* ve *Lentinus tigrinus* Misellerinin Birlikte Kültürü ile Lakkaz ve Mangane Peroksidaz Enzim Aktivitelerinin Arttırılması

Öz: Bu çalışmada lignin modifiye edici enzimlerin fazla miktarda üretilmesi için immobilize fungus misellerinin birlikte kültür edilmesi ilk kez olarak rapor edilmiştir. Bu amaçla *Pleurotus ostreatus* OBCC 6043 ve *Lentinus tigrinus* OBCC 3007 miselleri taşıyıcı olarak kullanılan nylon temizlik süngeri üzerine immobilize edilmiştir. Fungusların immobilize miselleri ayrı ayrı ve birlikte kültür edilmeleri durumundaki lakkaz ve mangane peroksidaz aktiviteleri karşılaştırılmıştır. Saf *Pleurotus ostreatus* OBCC 6043 ve *Lentinus tigrinus* OBCC 3007 kültürlerinin maksimum lakkaz aktiviteleri, sırası ile, 53.73 ve 27.58 U/L iken maksimum mangane peroksidaz aktiviteleri 12.54 ve 52.02 U/L olarak belirlenmiştir.

*Corresponding Author: myamac@gmail.com;myamac@ogu.edu.tr



Kokültür koşullarında lakkaz ve mangan peroksidaz aktiviteleri belirgin bir artış ile 319.28 ve 554.33 U/L seviyesine yükselmiştir. *Pleurotus ostreatus* OBCC 6043 ve *Lentinus tigrinus* OBCC 3007 birlikte üretildiklerinde lakkaz aktivitesi ayrı ayrı kültür edilmelerine göre, sırası ile, 5.94 ve 11.58 kat fazla bulunmuştur. Diğer taraftan mangan peroksidaz aktivitesi aynı sıra ile 44.21 ve 10.66 kat gibi belirgin biçimde arttırılabilmektedir. Sunulan birlikte kültür çalışmasının sonuçları, hem lakkaz hem de mangan peroksidaz için literatürde sunulan değerlerin çoğuna göre önemli derecede yüksektir.

Anahtar kelimeler: İmmobilizasyon, Lakkaz, *Lentinus tigrinus*, Mangan peroksidaz, *Pleurotus ostreatus*.

1.Introduction

Saprophytic and/or parasitic fungi especially white rot fungi (WRF) possess some special extracellular enzymes to colonize on dead plant biomass and or alive plant trunk. They are the most efficient colonizer and degrader of the lignocelluloses which is the most abundant biomass form on earth (Dwivedi et al., 2011). Although lignin is a highly recalcitrant polymer, it can be degraded by WRF by their non-specific lignin-modifying enzymes (LMEs) such as lignin peroxidase (LiP, EC 1.11.1.14) manganese peroxidase (MnP, EC 1.11.1.13), laccase (Lac, EC 1.10.3.2) and versatile peroxidase (VP, EC 1.11.1.16). In addition, H₂O₂ generating enzymes (aryl alcohol oxidase, glyoxal oxidase and pyranose-2 oxidase) are considered to be involved in degradation of lignin by WRF (Qi-he et al., 2011).

Xenobiotics refer to compounds that are released into the environment by the action of man and occur in concentrations higher than the natural ones (Ijoma and Tekere, 2017). As a result of their complex structure, most of the xenobiotics are also recalcitrant such as polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), polychlorinated biphenyls (PCBs), oil derivatives, pesticides, herbicides, explosives and dyes. Many of xenobiotics have similar structure to lignin. Therefore, WRF are the most efficient degraders of recalcitrant xenobiotics (Kuhar et al., 2015), and can offer an environmental friendly alternative to reduce/solve to the serious environmental pollution. In addition, LMEs from WRF has several industrial applications such as food,

brewery and wine processing, wastewater treatment, pulp delignification, biosensor production, the manufacture of anticancer drugs, etc. (Sun and Cheng, 2002; Baldrian, 2006; Rodriguez-Couto and Herrera, 2006; Kunamneni et al., 2008).

Because of their industrial and environmental importance, improving of LMEs production is the focus of many researchers. Optimization of fermentation medium and conditions such as carbon and nitrogen source, pH, oxygen, inducer is the most known and used method to improve LMEs yield (Elisashvili et al., 2008; Flores et al., 2010; Hailei et al., 2013; Jegatheesan et al., 2015; Kuhar et al., 2015). For overproduction of LMEs, several strategies have also been considered including screening of new microorganisms (Okino et al., 2000; Kiiskinen et al., 2004; Machado et al., 2005), using different reactor types (Rivela et al., 2000; Rodriguez-Couto, 2011), oxidative stress by chemicals (Jaszek et al., 2006) or heat-shock (Fink-Boots et al., 1999), and molecular methods such as gene cloning (Kiiskinen and Saloheimo, 2004; Agnieszka et al., 2005; Theerachat et al., 2012; Marková et al., 2016) and UV mutagenesis (D'Souza et al., 2006). Most of these methods are excessively time-, energy- and/or money-consuming. Therefore, more economic, reliable, faster and safer LMEs production method(s) is demanded.

Inoculation or co-culture of another microorganism with a LME producer strain can be a feasible alternative to other methods when their limitations are taken into account.



In the past few decades, some reports have been released regarding co-culture of some LMEs producer fungi such as *Pleurotus* spp. (Vinogradova and Kushnir, 2003; Chi et al., 2007; Dwivedi et al., 2011; Qi-he et al., 2011; Wang et al 2015; Singh et al., 2017), *Trametes* spp. (Hailei et al., 2009; Hiscox et al., 2010; Cupul et al., 2014; Kuhar et al., 2015), *Ganoderma* spp. (Hailei et al., 2013; Kuhar et al., 2015), *Phanerochaete chrysosporium* (Chi et al., 2007; Hu et al., 2011), *Phlebia radiata* (Qi-he et al., 2011; Dong et al., 2012), *Dichomitus squalens* (Qi-he et al., 2011; Dong et al., 2012), *Schizophyllum commune* (Vinogradova and Kushnir, 2003), *Bjerkandera adusta* (Qi-he et al., 2011), *Hypoxyylon fragiforme* (Qi-he et al., 2011), *Ceriporiopsis subvermisporea* (Dong et al., 2012) and so on. However, up to date, there is not a published study for co-culture of immobilized fungal mycelia to improve LMEs activity. This is the first study that reports the use of immobilized fungal mycelia in co-culture for increasing of laccase and manganese peroxidase activity.

2. Materials and Methods

2.1. Chemicals

Enzyme substrates, DMP (2,6-dimethoxyphenol) and ABTS [2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonate)], and all chemicals used in buffers were obtained from Sigma-Aldrich.

2.2. Fungal Strains

The *Pleurotus ostreatus* strain was kindly donated by Miha Humar (Slovenia) and was coded as OBCC 6043. The strain of *Lentinus tigrinus* OBCC 3007 was obtained from Basidiomycetes Culture Collection in Eskişehir Osmangazi University. It was given a GenBank accession number (MF616404) for the nucleotide sequence of the *Lentinus tigrinus* OBCC 3007. The fungal cultures were stored on Potato Dextrose Agar (PDA) medium and stored 4 °C. Before the use, the maintained fungi were activated by incubate on fresh PDA medium 7 days at 28 °C.

2.3. Mycelium Immobilization

Five mycelia discs (6 mm diameter) taken from the actively growing margin side of the fungal colony were inoculated to 100 ml Potato Malt Pepton (PMP) medium. After incubation at 28 °C, 100 rpm, 4 days, mycelium was harvested with filtration. Then, total volume was adjusted to 100 ml with sterile distilled water (SDW) and the mycelium was homogenized (Heidolph, Silent Crusher M). Obtained homogenized mycelium suspension was used as inocula 4% for immobilization trials.

Nylon scouring pad (Scotch-Bride) was used as carrier material in immobilization studies (Ibrahim et al. 2014). To prepare it was cut into 1.0 cm³ cubes, washed twice with methanol, boiled for 10 min, washed twice with SDW, and dried overnight. To perform immobilization, 100 ml fresh PMP medium including appropriate number of scouring pad was inoculated with homogenized mycelium suspension 4%. After incubation of the flasks at 28 °C, 7 days, mycelium immobilized scouring pad discs were collected, washed twice with SDW, and used for inoculation of LMEs production medium for mono- and co-culture studies (Fig 1).

2.4. Culture Conditions

To determine LMEs production capacity of the strains, synthetic fermentation medium (Elisashvili et al., 2008)) was modified in all mono- and co-culture studies with the following composition: Glucose 10 g, wheat bran 1 g, KH₂PO₄ 1 g, MgSO₄·7H₂O 0.5 g, NH₄NO₃ 0.5 g, yeast extract 1 g, 1.0% trace element solution included CaCl₂·2H₂O 6 g/L, CuSO₄·7H₂O 0.5 g/L, FeSO₄·7H₂O 0.5 g/L, MnSO₄·H₂O 0.5 g/L, and ZnSO₄·7H₂O 0.1 g/L.

A 500 ml medium was inoculated with 20 mycelium immobilized disc in monoculture studies, while in the case of co-culture 10 mycelium immobilized disc from each species were transferred into 500 ml medium to maintain a total inoculum amount. All of the experimental group flasks were incubated under 100 rpm shaking speed and at 28 °C for a total period of 20 days.

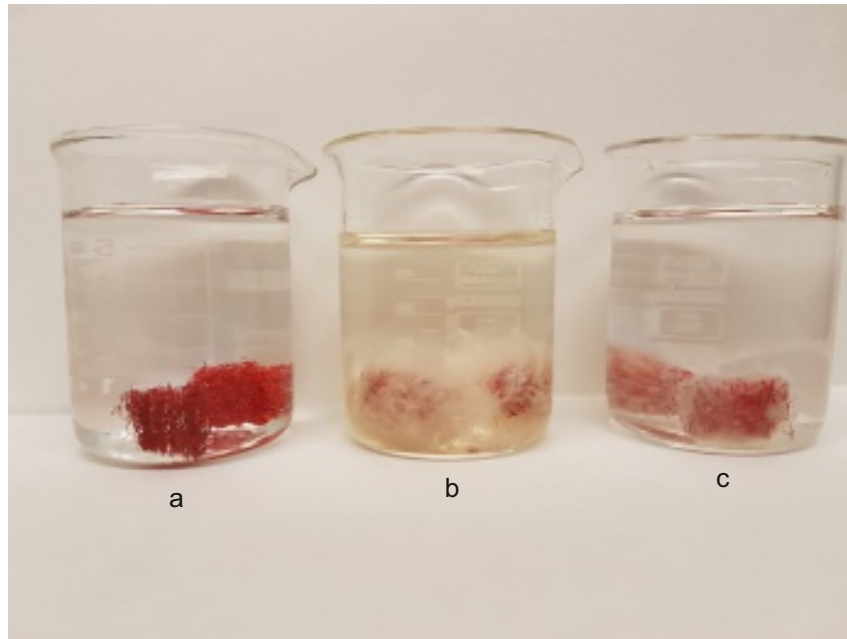


Figure 1. Immobilized fungal mycelia on nylon scouring pad. a. Control, b. *Lentinus tigrinus* OBCC 3007, c. *Pleurotus ostreatus* OBCC 6043

During cultivation, 10 ml samples were taken from the cultures at various times and analysed for their enzymes (laccase and manganese peroxidase) activities, reducing sugar and nitrogen contents of the medium.

2.5. Analytical Methods

Laccase activity was determined as previously reported by Niku-Paavola et al., (1990). Briefly, the increase in A₄₂₀ due to oxidation of ABTS 0.1 mM (molar extinction coefficient 36000 M⁻¹ cm⁻¹) in 100 mM sodium acetate buffer (pH: 4.5) was assayed. MnP activity was also determined in presence of DMP as substrate (molar extinction coefficient 27500 M⁻¹ cm⁻¹) and in the condition of A 469, 250 mM sodium tartrate buffer (pH: 4.5) (Ürek and Pazarlıoğlu, 2003). One unit of Lac or MnP activity (U) was defined as the amount of enzyme catalysing oxidation of 1 µmol of the corresponding substrate per minute.

The reducing sugar amount in the sampled culture fluids was assayed with the 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) method (Miller, 1959). The residual nitrogen amount of the

medium was determined with Berthelot method (Searle, 1984)

3. Results and Discussion

It is known that there is no pure culture in any part of natural ecosystems. It means that there is a crucial interaction between not only fungal species but also all different microorganism groups, which are living in same habitats.

Bioconversion of lignocellulosic biomass into its components has a major importance for recycling of the carbon fixed by photosynthesis. Most of the natural degradation processes occur by the combination of enzyme mixtures and metabolic pathways of several microorganisms (Hu et al., 2011; Dong et al., 2012). Therefore, co-culture of different microorganism culture may result in production of the preferred enzymes more efficiently than their monocultures (Hu et al., 2011). By far, several reports have been released to fungal co-culturing to increase production of the enzymes involving in lignocellulose degradation.



Although there are several reports for cellulase (Vinogradova and Kushnir, 2003; Hu et al., 2011; Singh et al.; 2017), xylanase (Dwivedi et al., 2011; Hu et al., 2011; Singh et al.; 2017) and LiP (Qi-he et al., 2011; Dong et al., 2012), majority of the attempts to increase laccase (Hailei et al., 2009, 2013; Flores et al., 2010; Hiscox et al., 2010; Hu et al., 2011; Qi-he et al., 2011; Dwivedi et al., 2011; Dong et al., 2012; Cupul et al., 2014; Kuhar et al., 2015; Wang et al., 2015; Singh et al., 2017). On the other hand, Cupul et al., (2014) reported that induction of MnP production in co-culture conditions has been paid relatively little attention.

In the presented study, immobilized *P.*

ostreatus and *L. tigrinus* mono- and co-cultures were compared for their time dependent LMEs activities. . In the pure cultures of *P. ostreatus*, the maximum laccase and MnP activities were determined as 53.73 and 12.54 U/L on the days 20 and 17 of incubation, respectively (Fig 2). On the other hand the activities of the same enzymes by *L. tigrinus* were presented as 27.58 and 52.02 U/L on the 9th day (Fig 3). As it can be seen from figures 2 and 3, the time for maximal Lac and MnP activity by *L. tigrinus* was at least 8 days shorter and MnP activity was 4.15 times higher than *P. ostreatus*. But the Lac activity of the *P. ostreatus* was 1.95 fold that of *L. tigrinus* activity.

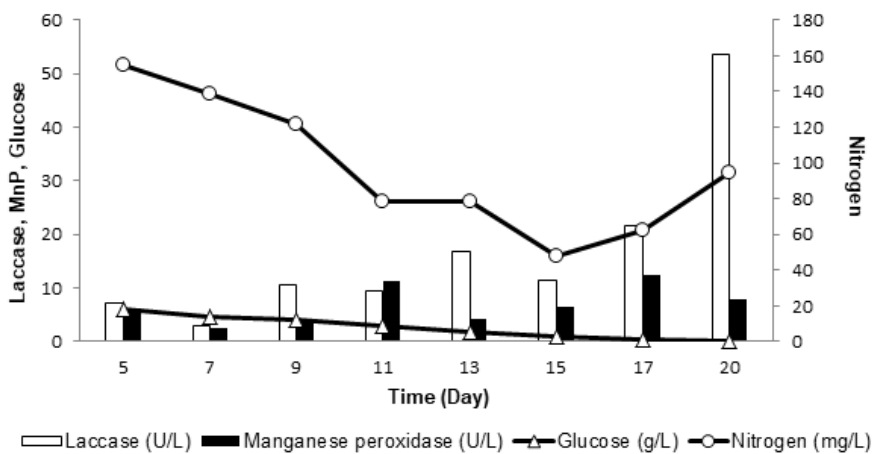


Figure 2. Time course lignin-modifying enzyme activity of *Pleurotus ostreatus* mono-culture

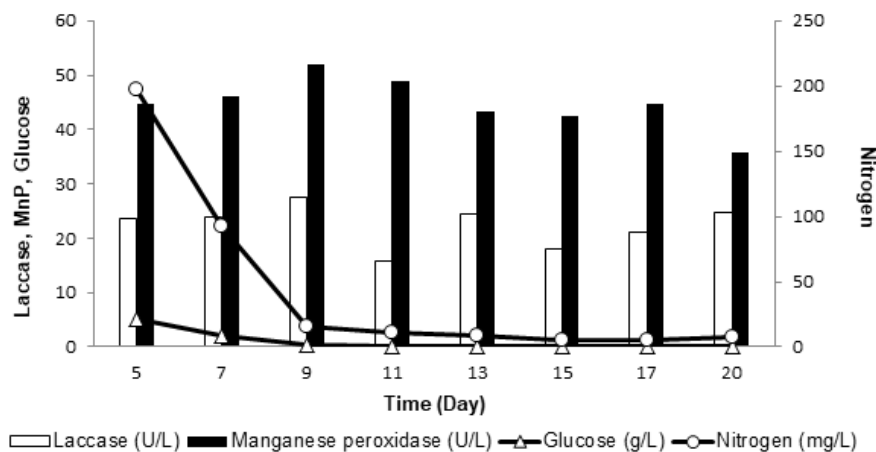


Figure 3. Time course lignin-modifying enzyme activity of *Lentinus tigrinus* mono-culture



Overall, it is clearly seen that the use of co-cultures appears to be more successful for enzyme activity values (Fig. 4). Distinct enhancement was observed in the level of both enzymes under co-cultivation condition. The lac activity of co-culture (319.28 U/L) was 5.94 and

11.58 times higher than that of *P. ostreatus* and *L. tigrinus*, respectively. In the case of MnP, the mixed culture (554.33 U/L) was presented 44.21 and 10.66 times higher values than the corresponding ones.

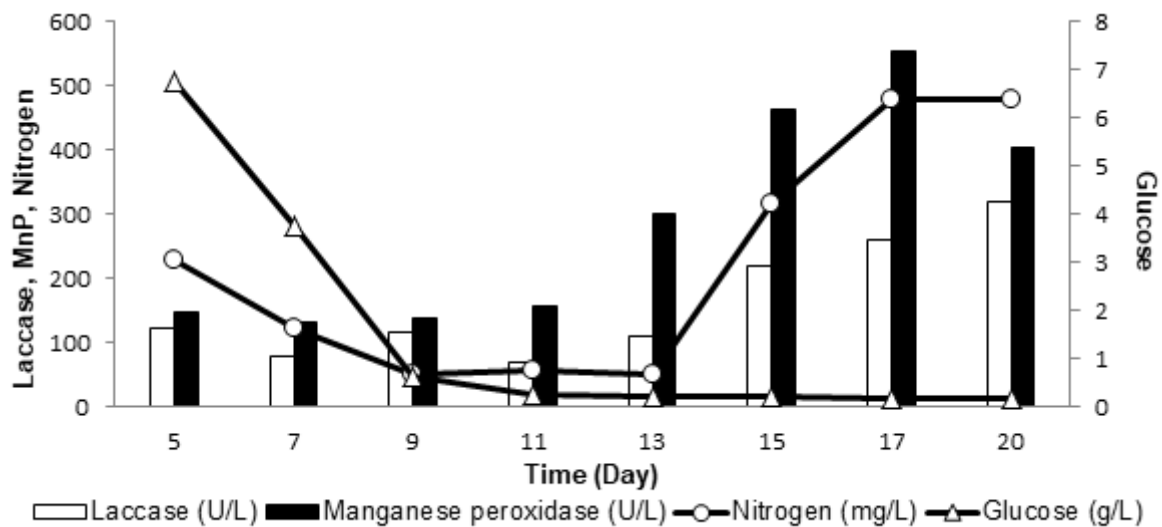


Figure 4. Time course lignin-modifying enzyme activity of *Pleurotus ostreatus* and *Lentinus tigrinus* co-culture

It is important to note that Lac and MnP activities of the co-culture were 3.93 and 8.59 fold higher than total Lac and MnP activities of both of the fungi. A possible explanation for these impressive enzyme activities in co-culture conditions is synergistic interaction for the studied fungi.

Dwivedi et al. (2011) informed that the interactions between fungi might be antagonistic, parasitic or synergistic during co-culture of the fungi. Antagonistic and synergistic interactions could have beneficial effects on the LMEs production as it triggers a switch to secondary metabolism (Baldrian, 2004; Chi et al., 2007; Hiscox et al., 2010). But this effect is species specific (Ijoma and Tekere, 2017) and strain compatibility has been reported as the most determining factor for successful co-

culturing (Singh et al., 2017). In view of these reports, it can be argued that the used *P. ostreatus* and *L. tigrinus* strains were found to be compatible for their co-culture for LMEs activity. Singh et al., (2017) reported that if the studied strains are compatible, there is a probability for synergy between metabolic pathway of involved strain. Although some reports has highlighted to the failed stimulation for LMEs activity (Koroleva et al., 2002; Elisashvili and Kachlishvili, 2009), LMEs activity could be enhanced by most of the fungal co-culture studies (Table 1).

As it can be seen from Table 1, the results of the present co-culture study are distinctly higher than most of the reported ones for not only laccase but also MnP activity. It is worth mentioning that increasing ratio of MnP is unique according to level of the *P. ostreatus*.



Table 1. Co-culture studies for lignin modifying enzyme production

| Organisms | Enzyme | Enzyme activity* | | | Culture ** | Reference |
|--|-----------------------------|--------------------------------|-----------------------|--------------|---------------------|----------------------|
| | | Mono-culture | Co-culture | Fold | | |
| <i>Aspergillus niger</i> - <i>Phanerochaete chrysosporium</i> | Laccase | 1.30 - 0.20 ^b | 3.10 ^b | 2.38 - 15.5 | SmF | Hu et al., 2011 |
| <i>Aspergillus oryzae</i> - <i>Phanerochaete chrysosporium</i> | | 1.80 - 0.20 ^b | 3.60 ^b | 2.00 - 18.00 | SmF | |
| <i>Ceriporiopsis subvernisporea</i> - <i>Pleurotus ostreatus</i> | | 0.70 - 1.50 ^{b***} | 2.20 ^{b***} | 3.14 - 1.47 | SmF | Chi et al., 2007 |
| <i>Phlebia radiata</i> , - <i>Ceriporiopsis subvernisporea</i> | | 20.00 - Ø ^{b***} | 95.00 ^{b***} | 4.75 - Ø | SmF | Dong et al., 2012 |
| <i>Phlebia radiata</i> - <i>Dichomitus squelens</i> | | 80.00 - 30.00 ^{c****} | 120.00 ^c | 1.50 - 4.00 | SmF | Qi-he et al., 2011 |
| <i>Pleurotus ferulae</i> - <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> | | 3.74 - Ø ^b | 10.58 ^b | 2.83 - Ø | SmF | Wang et al., 2015 |
| <i>Pleurotus ostreatus</i> - <i>Lentinus tigrinus</i> | | 53.73 - 27.58 ^d | 319.28 ^d | 5.94 - 11.58 | SmF | This study |
| <i>Pleurotus ostreatus</i> - <i>Penicillium oxalicum</i> | | 13.02 - Ø ^b | 20.83 ^b | 1.60 - Ø | SmF | Dwivedi et al., 2011 |
| | | 13.02 - Ø ^b | 15.00 ^b | 1.15 - Ø | SF | |
| | | 13.02 - Ø ^b | 43.70 ^b | 3.36 - Ø | SSF | |
| <i>Pleurotus ostreatus</i> - <i>Trichoderma viridae</i> | 20.80 - Ø ^d | 55.00 ^d | 2.64 - Ø | SmF | Flores et al., 2010 | |
| | 2.00 - Ø ^a | 10.00 ^a | 5.00 - Ø | SSF | Singh et al., 2017 | |
| <i>Trametes maxima</i> - <i>Paecilomyces carneus</i> | 4881.07 - Ø ^c | 12382.50 ^c | 2.54 - Ø | SmF | Cupul et al., 2014 | |
| <i>Trametes versicolor</i> - <i>Ganoderma lucidum</i> | 0.86 - 2.24 ^a | 7.93 ^a | 9.22 - 3.54 | SSF | Kuhar et al., 2015 | |
| <i>Trametes versicolor</i> - <i>Bjerkandera adusta</i> | 216.00 - Ø [†] | 871.6 [†] | 4.04 - Ø | Agar | Hiscox et al., 2010 | |
| <i>Trametes versicolor</i> - <i>Daldinia concentrica</i> | 216.00 - Ø [†] | 877.80 [†] | 4.06 - Ø | Agar | Hiscox et al., 2010 | |
| <i>Trametes versicolor</i> - <i>Fomes fomentarius</i> | 216.00 - Ø [†] | 141.80 [†] | - 1.52 | Agar | Hiscox et al., 2010 | |
| <i>Trametes versicolor</i> - <i>Hypholoma fasciculare</i> | 216.00 - 31.4 [†] | 417.10 [†] | 1.93 - 13.28 | Agar | Hiscox et al., 2010 | |
| <i>Trametes versicolor</i> - <i>Stereum gausapatum</i> | 216.00 - 27.30 [†] | 3218.90 [†] | 14.90 - 117.90 | Agar | Hiscox et al., 2010 | |
| <i>Trametes versicolor</i> - a yeast strain | 0.89 - Ø ^b | 10.50 ^b | 11.80 - Ø | SmF | Hallei et al., 2009 | |

* a: U/g, b: U/ mL, c: u/mg protein, d: U/L, e: nkavL, f: mU / g wet weight

** SSF: Solid state fermentation, SmF: Submerged fermentation

*** These data were extracted from the graphics in the references.



Table 1. Continued

| Organisms | Enzyme | Enzyme activity* | | | Culture** | Reference |
|--|-----------|-------------------------------------|-------------------------|---------------|-----------|----------------------|
| | | Mono-culture | Co-culture | Fold | | |
| <i>Ceirporiopsis subvermispora - Pleurotus ostreatus</i> | | 100.00 - 20.00 ^e *** | 140.00 ^{e****} | 1.40 - 7.00 | SmF | Chi et al., 2007 |
| <i>Physisporinus rivulosus - Pleurotus ostreatus</i> | | 35.00 - 20.00 ^{e****} | 250.00 ^{e****} | 7.14 - 12.50 | SmF | Chi et al., 2007 |
| <i>Phlebia radiata - Dichomitus squalens</i> | | 25.00 - 18.00 ^{b****} | 55.00 ^{b****} | 2.20 - 3.06 | SmF | Dong et al., 2012 |
| <i>Pleurotus ostreatus - Lentinus tigrinus</i> | | 12.54 - 52.02 ^d | 554.33 ^d | 44.21 - 10.66 | SmF | This study |
| <i>Pleurotus ostreatus - Phlebia radiata</i> | | 350.00 - 100.00 ^e *** | 800.00 ^{e****} | 2.28 - 8.00 | SmF | Qi-he et al., 2011 |
| <i>Trametes maxima - Paecilomyces carneus</i> | | 291.80 - 0 ^e | 564.12 ^e | 1.93 - 0 | SmF | Cupul et al., 2014 |
| <i>Trametes versicolor - Stereum gausapatum</i> | MnP | 0 - 2.70 ^f | 33.60 ^f | 0 - 12.44 | Agar | Hiscox et al., 2010 |
| <i>Trametes versicolor - Daldinia concentrica</i> | | 0 - 0 ^f | 10.40 ^f | 10.40 | Agar | Hiscox et al., 2010 |
| <i>Trametes versicolor - Bjerkandera adusta</i> | | 0 - 3.90 ^f | 11.00 ^f | 0 - 2.82 | Agar | Hiscox et al., 2010 |
| <i>Trametes versicolor - Fomes fomentarius</i> | | 0 - 0 ^f | 5.90 ^f | 5.90 | Agar | Hiscox et al., 2010 |
| <i>Trametes versicolor - Hypholoma fasciculare</i> | | 0 - 8.90 ^f | 8.70 ^f | - 1.02 | Agar | Hiscox et al., 2010 |
| <i>Pleurotus ostreatus - Phlebia radiata</i> | LIP | 160.00 - 0 ^e *** | 60.00 ^{e****} | - 2.66 | SmF | Qi-he et al., 2011 |
| <i>Aspergillus flavus - Trichoderma viridae</i> | Cellulase | 8.20 - 6.70 ^a | 11.00 ^a | 1.34 - 1.64 | SSF | Singh et al., 2017 |
| | | 72.00 - 80.00 ^a | 180.00 ^a | 2.50 - 2.25 | SSF | Singh et al., 2017 |
| <i>Pleurotus ostreatus - Penicillium oxalicum</i> | Xylanase | 16.00 - 714.13 ^b | 1201.84 ^b | 75.12 - 1.68 | SmF | Dwivedi et al., 2011 |
| | | 16.00 - 714.13 ^b | 976.55 ^b | 61.03 - 1.37 | SF | Dwivedi et al., 2011 |
| | | 16.00 - 714.13 ^b | 1301.51 ^b | 81.34 - 1.82 | SSF | Dwivedi et al., 2011 |



Possible reasons of the increase in of the fungal enzyme activities in co-culture conditions were reported as competition for space and nutrients (Asiegbu et al., 1996; Qi-he et al., 2011), synergistic interactions (Bader et al., 2010; Dong et al., 2012), glucose starvation (Hailei et al., 2009), oxidative stress (Jaszek et al., 2006; Chi et al., 2007) and supplementation of other carbon source and inducers (Hailei et al., 2009; Li et al., 2011). Depending of the results of this study, we have suggested a synergistic interaction between the studied *L. tigrinus* and *P. ostreatus* strains. The laccase and MnP enzyme production level of the studied mushroom species are promising for not only enzyme but also basidiomata production of these edible mushroom species.

Immobilization of the fungal mycelium appears to be an attractive approach to protect the mycelium from the environmental stress

factors during fermentation. Besides it is a non-toxic, economic, easy, fast and reusable alternative to obtain the best performance of the fungus. In this study, nylon scouring pad was preferred as carrier since this carrier provides novel living space for the fungal mycelium to grow and produce enzyme (Ibrahim et al. 2014).

As a consequence, it could be concluded that co-culturing of these two compatible mushroom species may have potential for cost effective enzyme production, co-production of their basidiomata production and/or basidiomata production of one of these species on spent compost of the other one. Our further investigations will be focused on the scaling-up of the enzyme production process and determination of the co-culture conditions for basidiomata production of *L. tigrinus* and *P. ostreatus* strains.

References

- Agnieszka K., Christian G., Marcel A., André F., Marius R., Thierry T., *LAC3, a new low redox potential laccase from Trametes sp. strain C30 obtained as a recombinant protein in yeast*, Enzyme Microb. Technol., 36, 34-41, (2005).
- Asiegbu F.O., Paterson A., Smith, J.E., *The effects of co-fungal cultures and supplementation with carbohydrate adjuncts on lignin biodegradation and substrate digestibility*, World J. Microbiol. Biotechnol., 12, 273–279, (1996).
- Bader J., Mast-Gerlach E., Popović M.K., Bajpai R., Stahl U., *Relevance of microbial coculture fermentations in biotechnology*, J. Appl. Microbiol., 109(2), 371-387, (2010).
- Baldrian P., Increase of laccase activity during interspecific interactions of white-rot fungi, FEMS Microbiol. Ecol., 50, 245-253, (2004).
- Baldrian, P., *Fungal laccases – occurrence and properties*, FEMS Microbiol. Rev., 30, 215–242, (2006).
- Chi Y., Hatakka A., Maijala P., *Can co-culturing of two white-rot fungi increase lignin degradation and the production of lignin-degrading enzymes?* Int. Biodeter. Biodeg., 59, 32–39, (2007).
- Cupul W.C., Abarca G.H., Carrera D.M., Vázquez R.R., *Enhancement of ligninolytic enzyme activities in a Trametes maxima–Paecilomyces carneus co-culture: Key factors revealed after screening using a Plackett–Burman experimental design*, Electr. J. Biotechnol., 17, 114–121, (2014).
- Dong Y.C., Wang W., Hu Z.C., Fu M.L., Chen Q.H., *The synergistic effect on production of lignin-modifying enzymes through submerged co-cultivation of Phlebia radiata, Dichomitus squalens and Ceriporiopsis subvermispora using agricultural residues*, Bioprocess Biosyst. Eng., 35, 751–760, (2012).
- D'Souza D.T., Tiwari R., Sah A.K., Raghukumar C., *Enhanced production of laccase by a marine fungus during treatment of colored effluents and synthesis dyes*, Enzyme Microb. Technol., 38, 504–511, (2006).



- Dwivedi P., Vivekanand V., Pareek N., Sharma A., Singh R.P., *Co-cultivation of mutant Penicillium oxalicum SAUE-3.510 and Pleurotus ostreatus for simultaneous biosynthesis of xylanase and laccase under solid-state fermentation*, New Biotechnol., 28 (6), 616-626, (2011).
- Elisashvili V., Kachlishvili E., *Physiological regulation of laccase and manganese peroxidase production by white-rot Basidiomycetes*, J. Biotechnol., 144, 37-42, (2009).
- Elisashvili V., Kachlishvili E., Penninckx M., *Effect of growth substrate, method of fermentation, and nitrogen source on lignocellulose-degrading enzymes production by white-rot basidiomycetes*, J. Ind. Microbiol. Biotechnol., 35, 1531–1538, (2008).
- Fink-Boots M., Malarczyk E., Leonowicz A., *Increased enzymatic activities and levels of superoxide anion and phenolic compounds in cultures of basidiomycetes after temperature stress*, Acta Biotechnol., 19, 319–330, (1999).
- Flores C., Casasanero R., Trejo-Hernandez M.R., Galindo E, Serrano-Carreo L., *Production of laccases by Pleurotus ostreatus in submerged fermentation in co-culture with Trichoderma viride*, J. Appl. Microbiol., 108, 810–817, (2010).
- Hailei W., Guangli Y., Ping L., Yanchang G., Jun L., Guosheng L., Jianming Y., *Overproduction of Trametes versicolor laccase by making glucose starvation using yeast*, Enzyme Microbial Technol., 45, 146–149, (2009).
- Hailei W., Chaozhi T., Guangli Y., Ping L., *A novel membrane-surface liquid co-culture to improve the production of laccase from Ganoderma lucidum*, Biochem. Eng. J., 80, 27–36, (2013).
- Hiscox J., Baldrian P., Rogers H.J., Boddy L., *Changes in oxidative enzyme activity during interspecific mycelial interactions involving the white-rot fungus Trametes versicolor*, Fungal Gen. Biol., 47, 562–571, (2010).
- Hu H.L., van den Brink J., Gruben B.S., Wösten H.A.B., Gu J.D., de Vries R.P., *Improved enzyme production by co-cultivation of Aspergillus niger and Aspergillus oryzae and with other fungi*, Int. Biodeter. Biodeg., 65, 248-252, (2011).
- Ibrahim D., Weloosamy H., Sheh-Hong L., *Potential use of nylon scouring pad cubes attachment method for pectinase production by Aspergillus niger HFD5A-1*, Process Biochemistry, 49, 660-667, (2014).
- Ijoma G.N., Tekere M., *Potential microbial applications of co-cultures involving ligninolytic fungi in the bioremediation of recalcitrant xenobiotic compounds*, Int. J. Environ. Sci. Technol., 14(8), 1787–1806, (2017).
- Jaszek M., Grzywnowicz K., Malarczyk E., Leonowicz A., *Enhanced extracellular laccase activity as a part of the response system of white rot fungi Trametes versicolor and Abortiporus biennis to paraquat-caused oxidative stress conditions*, Pestic. Biochem. Physiol. 85, 147–154, (2006).
- Jegatheesan M., Eyini M., *Response Surface Methodology Mediated Modulation of Laccase Production by Polyporus arcularius*, Arab. J. Sci. Eng., 40, 1809–1818, (2015).
- Kiiskinen L.L., Saloheimo M., *Molecular cloning and expression in Saccharomyces cerevisiae of a laccase gene from the ascomycete Melanocarpus albomyces*, Appl. Environ. Microbiol., 70, 137–144, (2004).
- Kiiskinen L.L., Rättö M., Kruus K., *Screening for novel laccase-producing microbes*, J. Appl. Microbiol., 97, 640–646, (2004).
- Koroleva O.V., Stepanova E.V., Gavrilova V.P., Yakovleva N.S., Landesman E.O., Yavmetdinov I.S., Yaropolov A.I., *Laccase and Mn-peroxidase production by Coriolus hirsutus strain 075 in a jar fermentor*, J. Biosci. Bioeng., 93, 449-455, (2002).
- Kuhar F., Castiglia V., Levin L., *Enhancement of laccase production and malachite green decolorization by co-culturing Ganoderma lucidum and Trametes versicolor in solid-state fermentation*, Int. Biodeter. Biodeg., 104, 238-243, (2015).



- Kunamneni A., Plou F.J., Ballesteros A., Alcalde M., *Laccases and their applications: a patent review*, Recent Pat. Biotechnol., 2, 10–24, (2008).
- Li P., Wang H.L., Liu G.S., Li X., Yao J.M., *The effect of carbon source succession on laccase activity in the co-culture process of Ganoderma lucidum and a yeast*, Enzyme Microb. Technol., 48, 1–6, (2011).
- Machado K.M.G., Matheus D.R., Bononi V.L.R., *Ligninolytic enzymes production and Remazol Brilliant Blue R decolorization by tropical brazilian basidiomycetes fungi*, Brazilian J. Microbiol., 36, 246-252, (2005).
- Marková E., Kotik M., Křenková A., Man P., Haudecoeur R., Boumendjel A., Hardré R., Mekmouche Y., Courvoisier-Dezord E., Réglie M., Martínková L., *Recombinant tyrosinase from Polyporus arcularius: Overproduction in Escherichia coli, Characterization, and Use in a Study of Aurones as Tyrosinase Effectors*, J. Agric. Food Chem., 64(14), 2925-2931, (2016).
- Miller G.L., *Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar*, Anal. Chem., 31, 426-428, (1959).
- Niku-Paavola M., Raaska L., Itävaara M., *Detection of white-rot fungi by a non-toxic stain*, Mycol. Res., 94, 27-31, (1990).
- Qi-he C., Krügener S., Hirth T., Rupp S., Zibek S., *Co-cultured Production of Lignin-Modifying Enzymes with White-Rot Fungi*, Appl. Biochem. Biotechnol., 165,700–718, (2011).
- Okino L.K., Machado K.M.G., Fabris C., Bononi V.L.R., *Ligninolytic activity of tropical rainforest basidiomycetes*, World J. Microbiol. Biotechnol., 16, 889-893, (2000).
- Rivela I., Rodriguez-Couto S., Sanroman A., *Extracellular ligninolytic enzyme production by Phanerochaete chrysosporium in a new solid-state bioreactor*, Biotechnol. Lett., 22, 1443-1447, (2000).
- Rodriguez-Couto S., *Production of laccase and decolouration of the textile dye Remazol Brilliant Blue R in temporary immersion bioreactors*, J. Hazard. Mat., 194, 297–302, (2011).
- Rodriguez-Couto S., Herrera, J.L.T., *Industrial and biotechnological applications of laccases: a review*, Biotechnol. Adv., 24, 500–513, (2006)
- Searle P., *The berthelot or indophenol reaction and its use in the analytical chemistry of nitrogen. A review*, Analyst., 109, 549–568, (1984).
- Singh N., Devi A., Jaryal R., Rani K., *An Ecofriendly and Efficient Strategy for Cost Effective Production of Lignocellulotic Enzymes*, Waste Biomass Valor., DOI 10.1007/s12649-017-9861-9, (2017).
- Sun Y., Cheng J., *Hydrolysis of lignocellulosic material from ethanol production: a review*, Bioresour. Technol., 83, 1–11, (2002).
- Theerachat M., Emond S., Cambon E., Bordes F., Marty A., Nicaud J.M., Chulalaksananukul W., Guieysse D., Remaud-Siméon M., More S., *Engineering and production of laccase from Trametes versicolor in the yeast Yarrowia lipolytica*, Bioresour. Technol., 125, 267–274, (2012).
- Ürek R.Ö., Kasikara Pazarlıoğlu N., *Purification and partial characterization of manganese peroxidase from immobilized Phanerochaete chrysosporium*, Process Biochem., 39, 2061-2068, (2003)
- Vinogradova S.P., Kushnir S.N., *Biosynthesis of Hydrolytic Enzymes during Cocultivation of Macro- and Micromycetes*, Appl. Biochem. Microbiol., 39(6), 573–575, (2003).
- Wang H., Peng L., Ding Z., Wu J., Shi G., *Stimulated laccase production of Pleurotus ferulae JM301 fungus by Rhodotorula mucilaginosa yeast in co-culture*, Process Biochem., 50, 901–905, (2015).



A Hypogeous *Lactarius* sp., New to Turkish Mycobiota

Yasin UZUN, Abdullah KAYA

Karamanoğlu Mehmetbey University, Science Faculty,
Department of Biology, 70100 Karaman, Turkey

Abstract: The hypogeous and angiocarpic *Lactarius* Pers species, *Lactarius stephensii* (Berk.) Verbeken & Walley (Russulaceae) is recorded for the first time from Turkey. The taxon is described briefly and photographs related to macro and micromorphologies are provided.

Key words: New record, *Lactarius*, hypogeous fungi, Turkey

Türkiye Mikobiyotası İçin Yeni Bir Toprakaltı *Lactarius* Türü

Öz: Toprak altında gelişim gösteren ve angiokarpi bir *Lactarius* Pers türü olan *Lactarius stephensii* (Berk.) Verbeken & Walley (Russulaceae) Türkiye'den ilk kez kaydedilmiştir. Takson kısaca betimlenerek makro ve mikro morfolojilerine ilişkin fotoğrafları verilmiştir.

Anahtar kelimeler: Yeni kayıt, *Lactarius*, toprakaltı mantarları, Türkiye

Introduction

Lactarius Pers is a large and widely distributed genus of the family Russulaceae with more than 450 species (Kirk et al., 2008). The members of the genus are well characterized by unique ability to exude a milky fluid, generally named as milk or latex, when injured, especially from the gills. Though almost all known species have a cap on a stem and expose the hymenium on vertically arranged gills underneath the cap (Heilmann-Clausen et al., 1998). Phylogenetic analyses have revealed that *Lactarius* contains some species with closed (angiocarpous) fruitbodies (Eberhardt and Verbeken, 2004). A number of genera were erected and included to sequestrate species before the acception of the inclusion of angiocarpous Russulales in agaricoid genera. The species which exude milk were often included in *Arcangeliella* Cavara or *Zelleromyces* Singer & A.H. Sm. (Verbeken et al., 2014). But molecular phylogenetic studies have indicated that they represent artificial genera for sequestrate *Lactarius* species, and may be better subsumed in the amplified genus *Lactarius* (Beenken et al., 2016) During our routine field trips in Tonya (Trabzon) district,

some hypogeous gasteroid fungi samples were collected and identified as *Lactarius stephensii* (Berk.) Verbeken & Walley. Tracing the current checklists (Sesli and Denchev, 2014; Solak et al., 2015) and the latest basidiomycetous records (Acar et al., 2015; Doğan and Öztürk, 2015; Sesli and Moreau, 2015; Sesli et al., 2015; Uzun et al., 2015; Akata et al., 2016; Dengiz and Demirel, 2016; Güngör et al., 2016; Öztürk et al., 2016; Sesli et al., 2016; Uzun et al., 2017) on the macromycota of Turkey, it is found that it was not recorded previously from Turkey.

The study aims to make a contribution to the macrofungi of Turkey by adding a new record.

Materials and Methods

Lactarius samples were collected from Tonya (Trabzon) district in 2017. Before collection necessary ecological and morphological characteristics of the samples were recorded and they were photographed in their natural habitat. The collected specimens were transferred to the laboratory within paper bags.



Macroscopic features are based on fresh material while microscopic characters were obtained from dried material in Congo Red and Melzer's reagent under Nikon Eclipse Ci trinocular light microscope. Photographs related to micromorphology were taken by DS-Fi2 digital camera. Identification was performed with the help of Pegler et al. (1993), Nuytinck et al. (2003), Vidal (2004), Fraiture and Derboven (2009) and Nedelin et al. (2016). The samples are kept at Karamanoğlu Mehmetbey University, Kamil Özdağ Science Faculty, Department of Biology.

Results and Discussion

Basidiomycota R.T. Moore

Agaricomycetes Doweld

Russulales Kreisel ex P.M. Kirk

Russulaceae Lotsy

Lactarius stephensii (Berk.) Verbeken & Walley

Synonym: *Arcangeliella stephensii* (Berk.) Zeller & C.W. Dodge, *Arcangeliella stephensii* (Berk.) Zeller & C.W. Dodge, var. *stephensii*, *Hydnangium stephensii* Berk., *Hydnangium stephensii* var. *ravenelii* Berk., *Hydnangium stephensii*, Berk., var. *stephensii*, *Hysterangium stephensii* (Berk.) Vittad., *Martellia stephensii* (Berk.) K. Mader & A. Mader, *Octaviania stephensii* (Berk.) Tul. & C. Tul., *Octaviania stephensii* (Berk.) Tul. & C. Tul., var. *stephensii*, *Zelleromyces stephensii* (Berk.) A.H. Sm.

Macroscopic features: Basidiomata 10-40 mm in diameter, hypogeous or semihypogeous, irregularly globose to oblong or slightly reniform, attached to thin roots of the substrate with a small protruding sterile base. Peridium 0.3-0.5 mm thick, smooth, viscid, at first whitish, ochraceous to orange red and finally reddish brown to dark reddish-brown (Figure 1a). Gleba loculated, labyrinthic, with irregularly elongated chambers, white or ochraceous when young, pale orange, pinkish orange to brownish when mature (Figure 1a), taste fruity, odor pleasant and fruity.

Microscopic features: Peridiopellis 170-260 µm thick (Figure 1b). Basidia cylindrical to clavate, straight or sinuose, 35-75 × 6-11 µm, generally monosporic, rarely 2, 3 or 4 spored (Figure 1c), hyaline and with oil drops when young, later become darker due to dark orange substances. Cystidia and macrocystidia absent. Pseudocystidia very scarce, up to 30 µm long and 5-7 µm broad. Basidiospores 11-14.5 × 10.5-13 µm, broadly ellipsoidal, subglobose to globular, ornamented with conical spines rounded apically with length 1.2-2 µm, initially translucent, yellow-ochre to brownish at maturity (Figure 1d).

Habitat: *Lactarius stephensii* grows usually gregariously, under humus, with ectomycorrhizal hosts from genera *Corylus* L., *Carpinus* L., *Fagus* L., *Populus* L., *Quercus* L., *Tilia* L. (Vidal 2004; Nedelin et al., 2016).

Specimen examined:

TURKEY—Trabzon: Tonya, Çay içi village, in soil under beech-spruce mixed forest, 40°49'N-39°17'E, 1300 m, 11.04.2017, Yuzun 5519.

Lactarius stephensii (Berk.) Verbeken & Walley (Russulaceae) is given as new record for Turkish mycobiota. Before this study, 51 hypogeous basidiomycetous taxa, seven of which belong to *Russulales*, had been recorded from Turkey. Likewise 56 *Lactarius* species have so far been reported from Turkey. Compared to more than 450 species of *Lactarius* species existing worldwide (Kirk et al., 2008), it could easily be estimated that a significant number of *Lactarius* species remain to be described in Turkey. Though some hypogeous members of *Russulales*, within the genera *Gymnomyces* Masee & Rodway, *Leucogaster* R. Hesse and *Leucophleps* Harkn. have so far been reported from Turkey (Pilát, 1937; Türkoğlu and Castellano 2013; Doğan and Akata, 2015; Elliot et al., 2016), *Lactarius stephensii* is the first sequestrate truffle-like *Lactarius* species to be recorded from Turkey.

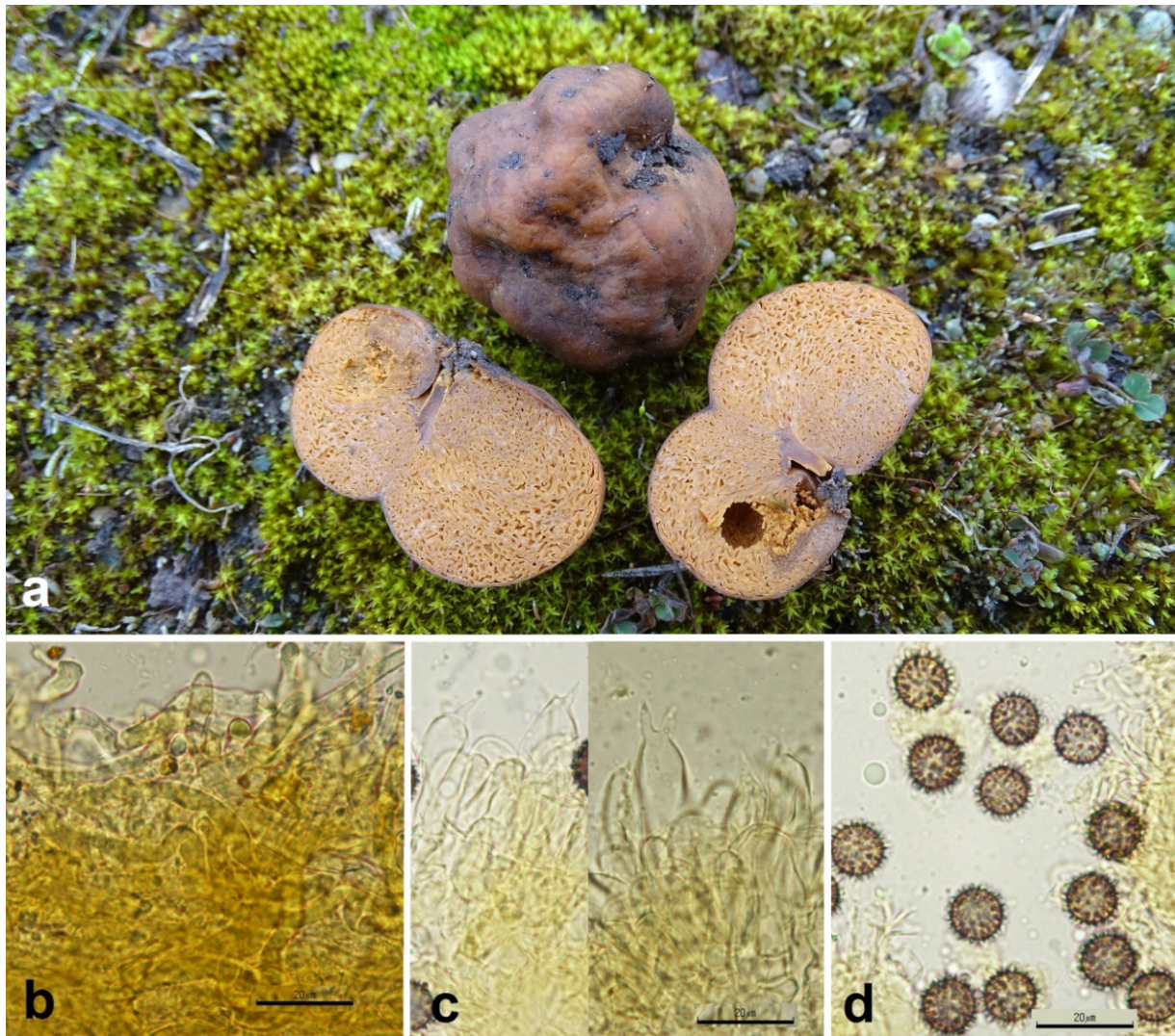


Figure 1. *Lactarius stephensii*: a. basidiocarps, b. peridiopellis, c. basidia, d. basidiospores.

Nuytinck et al. (2003), Vidal (2004), Fraiture and Derboven (2009) and Nedelin et al. (2016) reported the diameter of fruiting bodies as to reach 15, 35, 20 and 25 mm respectively. The size of the basidiomata of our samples seem to be larger with a diameter of reaching up to 40 mm. Most of other macro and micromorphological characters of the studied samples agree with those given in literature.

During identification, *Lactarius stephensii* may be confused with *Lactarius borzianus* (Cavara) Verbeken & Nuytinck. But the presence of a vestigial foot and a columella, and the incomplete peridium cover especially at

the extreme base of the carpophore of the latter species are distinguishing characters between the two taxa (Fraiture and Derboven, 2009). Their ecology seems also different. While *Lactarius borzianus* can form ectomycorrhiza with both spruce and fir trees, *Lactarius stephensii* seems restricted to deciduous forests (Vidal 2004).

Acknowledgements

The authors would like to thank Karamanoğlu Mehmetbey University Research Fund for supporting the Project (02-M-15) financially.



References

- Acar İ., Uzun Y., Demirel K., Keleş A. *Macrofungal diversity of Hani (Diyarbakır/Turkey) district*. Biological Diversity and Conservation, 8(1), 28-34 (2015).
- Akata I., Uzun Y., Kaya A. *Macrofungal diversity of Zigana Mountain (Gümüşhane/Turkey)*. Biological Diversity and Conservation 9(2): 57-69 (2016).
- Beenken L., Sainge M.N., Kocyan A. *Lactarius megalopterus, a new angiocarpous species from a tropical rainforest in Central Africa, shows adaptations to endozoochorous spore dispersal*. Mycol Progress 15: 58 (2016).
- Dengiz Y., Demirel K. *Şirvan (Siirt) Yöresinde Yetişen Makrofunguslar Üzerinde Taksonomik Bir Araştırma*. Yüzüncü Yıl University Journal of the Institute of Natural & Applied Sciences 21(2): 112-123 (2016).
- Doğan H.H., Öztürk Ö. *Six new Russula records from Turkey*. Mycotaxon, 130(4), 1117-1124 (2015).
- Doğan, H.H., Akata, I. 2015. *New Additions to Turkish Gasteroid Fungi*. Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi, 15 (2): 329-333.
- Eberhardt U., Verbeken A. *Sequestrate Lactarius species from tropical Africa: L. angiocarpus sp. nov. and L. dolichocaulis comb. nov.* Mycological Research. 108: 1042–1052 (2004).
- Elliot T.F., Türkoğlu A., Trappe J.M., Güngör Yaratankul M. *Turkish truffles 2: eight new records from Anatolia*. Mycotaxon, 131: 439-453 (2016).
- Fraiture A., Derboven P. *Deux nouvelles récoltes belges d'Arcangeliella stephensii, espèce tubéroïde proche des lactaires*. Revue du Cercle de Mycologie de Bruxelles 9: 27-42 (2009).
- Güngör H., Solak M.H., Allı H., Işiloğlu M. *Contributions to the macrofungal diversity of Hatay province, Turkey*. Biological Diversity and Conservation, 9(1), 101-106 (2016).
- Heilmann-Clausen J.; Verbeken A.; Vesterholt J. *The genus Lactarius. Fungi of Northern Europe 2*. Danish Mycological Society (1998).
- Kirk P.M., Cannon P.F., Minter D.W., Stalpers J.A. *Dictionary of the Fungi, 10th ed.* Wallingford, UK: CAB International. (2008).
- Nedelin T., Gyosheva M., Kostov K., Savev S. *New Records and Data on Hypogeous Ectomycorrhizal Fungi in Bulgaria*. Forestry Ideas 22(2): 113-126 (2016).
- Nuytinck J., Verbeken A., Delarue S., Walleyn R. *Systematics of European Sequestrate Lactarioid Russulaceae with Spiny Spore Ornamentation*. Belg. Journ. Bot. 136(2): 145-153 (2003).
- Öztürk Ö., Doğan H.H., Şanda M.A. *Some new additions to Turkish mycobiota from Sakarya region*. Biological Diversity and Conservation, 9(1), 97-100 (2016).
- Pegler D.N., Spooner B.M., Young T.W.K. *British Truffles: A revision of British hypogeous fungi*. Royal Botanic Gardens, Kew (1993).
- Pilát, A.A. *Additamenta ad floram Asiae Minoris hymenomycetum et gasteromycetum*. Bulletin Trimestriel Society Mycologie France, 53: 253-264 (1937).
- Sesli E., Contu M., Vila J., Moreau P.E., Battistin E. *Taxonomic studies on some agaricoid and boletoid fungi of Turkey*. Turkish Journal of Botany, 39(1), 134-146 (2015).
- Sesli E., Denchev, CM. *Checklists of the myxomycetes, larger ascomycetes, and larger basidiomycetes in Turkey*. 6th edn. Mycotaxon Checklists Online (<http://www.mycotaxon.com/resources/checklists/sesli-v106-checklist.pdf>): 1–136 (2014).
- Sesli E., Moreau P.A. *Taxonomic studies on some new fungal records from Trabzon, Turkey*. Turkish Journal of Botany, 39(5), 857-866 (2015).
- Sesli E., Türkekul İ., Akata I., Niskanen T. *New records of Basidiomycota from Trabzon, Tokat, and İstanbul provinces in Turkey*. Turkish Journal of Botany, 40(5), 531-545 (2016).
- Solak MH, Işiloğlu M, Kalmış E, Allı H. *Macrofungi of Turkey, Checklist, Volume- II*. Üniversiteler Ofset, Bornova, İzmir(2015).



- Türkoğlu A., Castellano M.A. *New records of truffle fungi (Basidiomycetes) from Turkey*. Turkish Journal of Botany, 37: 970-976 (2013).
- Uzun Y., Kaya A., Karacan İ.H., Kaya Ö.F., Yakar S. *Macromycetes determined in Islahiye (Gaziantep/Turkey) district*. Biological Diversity and Conservation 8(3): 209-217 (2015).
- Uzun Y., Kaya A., Karacan İ.H., Yakar S. *New additions to Turkish Agaricales*. Biological Diversity and Conservation, 10(2): (in print) (2017).
- Verbeken A., Hampe F., Wissitrassameewong K., Hyde, K., Eberhardt U., Nuytinck J. *A new angiocarpous Lactarius species from Thailand*. Phytotaxa 181 (3): 163-170 (2014).
- Vidal J.M. *Arcangeliella borziana and A. stephensii, two gasteroid fungi often mistaken. A taxonomic revision of Lactarius-related sequestrate fungi*. Revista Catalana de Micologia 26: 59–82 (2004).



Four New Records of Basidiomycota for the Turkish Mycota From Trabzon and İstanbul Provinces

Ilgaz AKATA*¹, Ertuğrul SESLİ²

¹Ankara University, Faculty of Science, Department of Biology, Ankara, Turkey

²Karadeniz Technical University, Fatih Faculty of Education, Department of Biology Education, Trabzon, Turkey

Abstract: Fungal samples were collected from Trabzon and İstanbul provinces between 2013 and 2015. After field and laboratory studies, *Hebeloma sacchariolens*, *Chroogomphus mediterraneus*, *Podoscypha multizonata* and *Sarcodontia pachyodon* were identified as new records for the Turkish mycota. The newly reported species are given with field photographs descriptions and a short discussion.

Key words: *Chroogomphus*, *Hebeloma*, *Podoscypha*, *Sarcodontia*, new records, Turkey.

Türkiye Mikotası İçin Trabzon ve İstanbul İllerinden Dört Yeni Bazidiyomikota Kaydı

Öz: Mantar örnekleri 2013 ve 2015 yılları arasında Trabzon ve İstanbul illerinden toplanmıştır. Arazi ve laboratuvar çalışmaları sonucunda, *Hebeloma sacchariolens*, *Chroogomphus mediterraneus*, *Podoscypha multizonata* ve *Sarcodontia pachyodon* Türkiye mikotası için yeni kayıt olarak belirlenmiştir. Yeni kayıtlar arazi fotoğrafları, tanımları ve kısa bir tartışma ile birlikte verilmiştir.

Anahtar kelimeler: *Chroogomphus*, *Hebeloma*, *Podoscypha*, *Sarcodontia*, yeni kayıtlar, Türkiye.

Introduction

Hebeloma members are characterized by small to very large, viscid to dry, rarely hygrophanous, more or less smooth, white, grey, brown, clay, cinnamon or tan, hemispherical, convex or plane pileus; cylindrical to clavate stipe; adnate, adnexed or notched, whitish, grayish to brown lamellae; brown spore prints, usually four spored, subcylindric to subclavate basidia; ellipsoid, amygdaloid, citriform or fusiform basidiospores and cylindrical, clavate, lageniform or fusiform cheilocystidia (Hansen and Knudsen, 1992; Vesterholt, 2005). *Chroogomphus* has viscid to dry, smooth to woolly, yellowish, reddish, brownish or vinaceous, convex to conical or

plane pileus; cylindrical and sometimes tapered or thickened stipe; usually decurrent, greyish, dull orange, ochraceous or blackening lamellae; smoky gray, light brown, olive brown to black spore prints; four spored and clavate basidia; ellipsoid to fusiform basidiospores and cylindrical, clavate or fusiform cheilio-pleurocystidia. *Pileipellis* consists of hyaline, yellowish or brownish and amyloid hyphae (Miller, 1964; Arora, 1986; Hansen and Knudsen, 1992). *Sarcodontia* is characterized by resupinate or vertically attached fruitbodies; hydroid or ipricoid hymenium; clavate and four spored basidia; ellipsoid to subglobose basidiospores; clamped hyphae and monomitic hyphal system (Eriksson et al., 1981).



Podoscypha is distinguished from the other genera by stipitate and flabellate basidiome, dimitic hyphal system, presence of gloeocystidia and inamyloid basidiospores (Dahlberg and Croneborg, 2006; Jahn and Müller, 1976). The aim of the present study is to contribute to the Turkish mycota.

Materials and Methods

Basidiomata were collected from Trabzon and İstanbul provinces between 2013 and 2015. Macroscopic and ecological characteristics of the species were noted and the field photos were taken in situ. Laboratory examinations were carried out using the reagents such as melzer's reagent, 5% KOH, H₂O, H₂SO₄, congo red and cotton blue etc. Identification of the samples was carried out according to the current literature (Jahn and Müller, 1976; Eriksson et al, 1981; Breitenbach & Kränzlin, 1986; 2000; Vesterholt, 2005; Dahlberg and Croneborg, 2006; Martin et al., 2016). Fungal materials are kept at Ankara University (ANK) and Karadeniz Technical University herbariums.

Results

Hymenogastraceae Vittad.

Hebeloma sacchariolens Quéél.

(Figure 1-2).

Syn.: *Hylophila sacchariolens* (Quéél.)

Quéél.

Pileus 20-50 mm, hemispherical, convex, plane, sometimes slightly depressed, generally eaten or injured by beetles; surface lubricous or viscid, soft, yellow-ocher to light yellowish brown, sometimes reddish or reddish-brown especially when injured; margin acute. Content whitish, thin. Odor very beautiful like perfume. Taste raphanoid. Lamellae notched, broad, edges crenate, whitish to pinkish brown. Stipe 35-60 × 5-10 mm, cylindrical, surface whitish-fibrillose on a brownish or reddish brown background especially towards the base and whitish-pruinose near the pileus, generally curved and sometimes twisted according to growth conditions. Basidia clavate, 30-40 × 8-11 μm,

with 4 sterigmata and basal clamp. Basidiospores fusiform to amygdaliform, slightly verrucose, dextrinoid, olive yellow or light brownish, 11-13.5 × 6-9 μm. Cheilocystidia slenderly cylindrical or clavate, abundant, 30-100 × 4-10.5 μm.

Material examined: TURKEY—Trabzon, Karadeniz Technical University, gregarious in campus. 40°59'38.13" N, 39°46'17.82" E, 109 m, 05.11.2015, E. Sesli 3655.

Gomphidiaceae Maire ex Jülich

Chroogomphus mediterraneus (Finschow) Vila, Pérez-De-Greg. & G. Mir (Figure 3-4).

Syn.: *Gomphidius mediterraneus* Finschow

Pileus 50-80 mm, hemispherical when young, later convex, slightly irregular depending on growth conditions; margin strongly incurved, fibrillose to squamose, surface sticky and soft, copper brown or reddish brown, more darker from place to place, pinkish purple to blood color when injured. Lamellae decurrent, spaced, thick, broad, entire edge, dull yellowish first pinkish red later. Content compact, thick in the center, thin towards the margin, melon color, yellowish white to dark yellow when cut, and pinkish red with time. Stipe 60-100 × 10-20 mm, cylindrical, tapered towards the base, surface smooth, viscous, slightly fibrillose, dark ocher to cinnamon color in the field, pinkish red after a while when injured. Basidia clavate, 50-60 × 10-15 μm, with 2-4 sterigmata, without basal clamp. Basidiospores fusiform, smooth, with big drops, olive brownish, 17-20 × 6.5-8.5 μm. Cheilo- and pleurocystidia abundant, cylindrical, 100-175 × 17-21 μm.

Material examined: TURKEY—Trabzon, Çukurçayır, solitary in mixed forest, 40°59'01.98" N, 39°44'18.21" E, 210 m, 31.10.2015, E. Sesli 3630.



Figure 1. *Hebeloma sacchariolens*: a,b,c- basidiomata (scale bars: 50 mm). Photos by E. Sesli

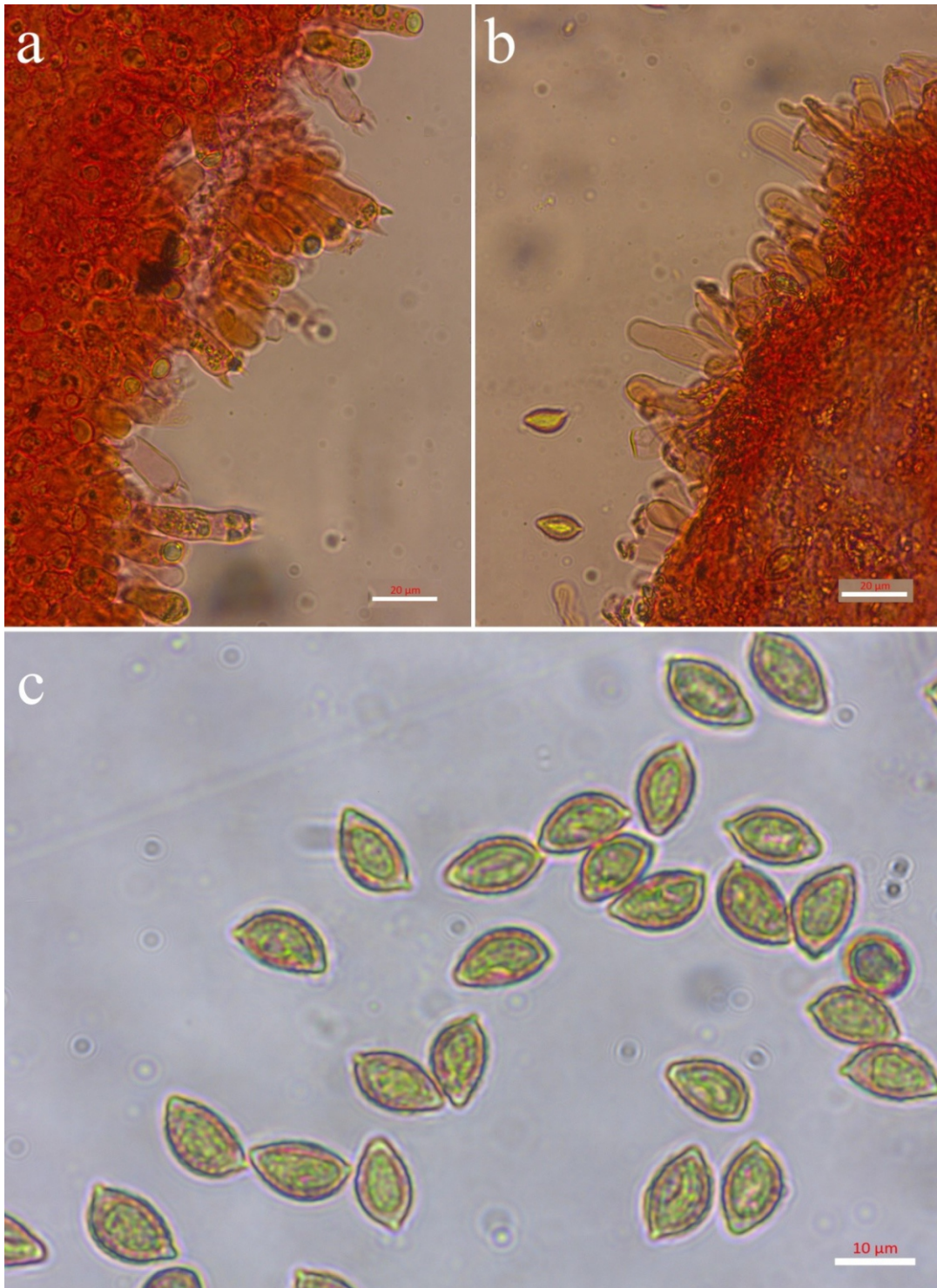


Figure 2. *Hebeloma sacchariolens*: a,b- cross sections through the lamella (scale bars: 20 µm). c- basidiospores (scale bars: 10 µm). Photos by E. Sesli.

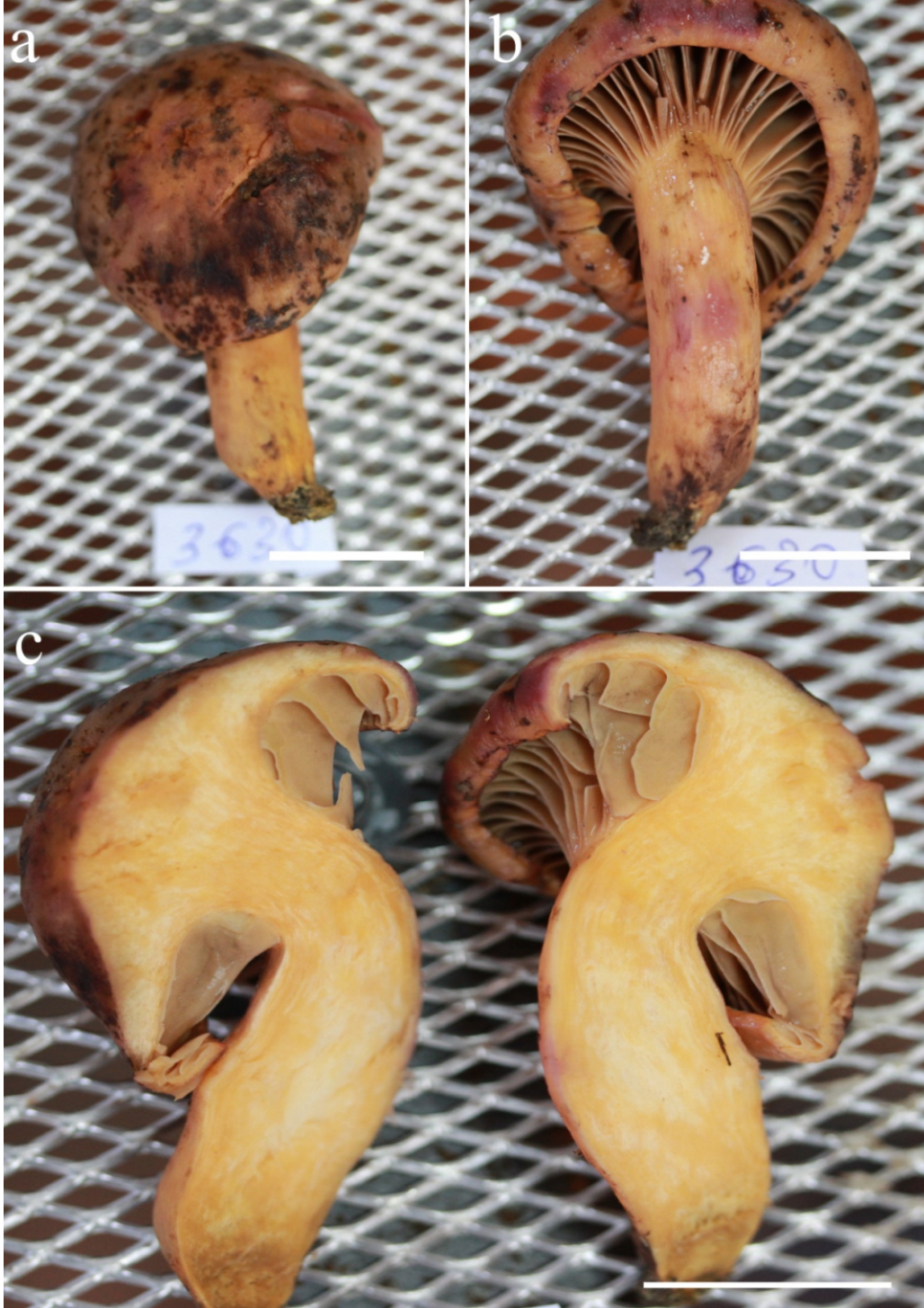


Figure 3. *Chroogomphus mediterraneus*: a-c- basidiomata (scale bars: 30 mm). Photos by E. Sesli.

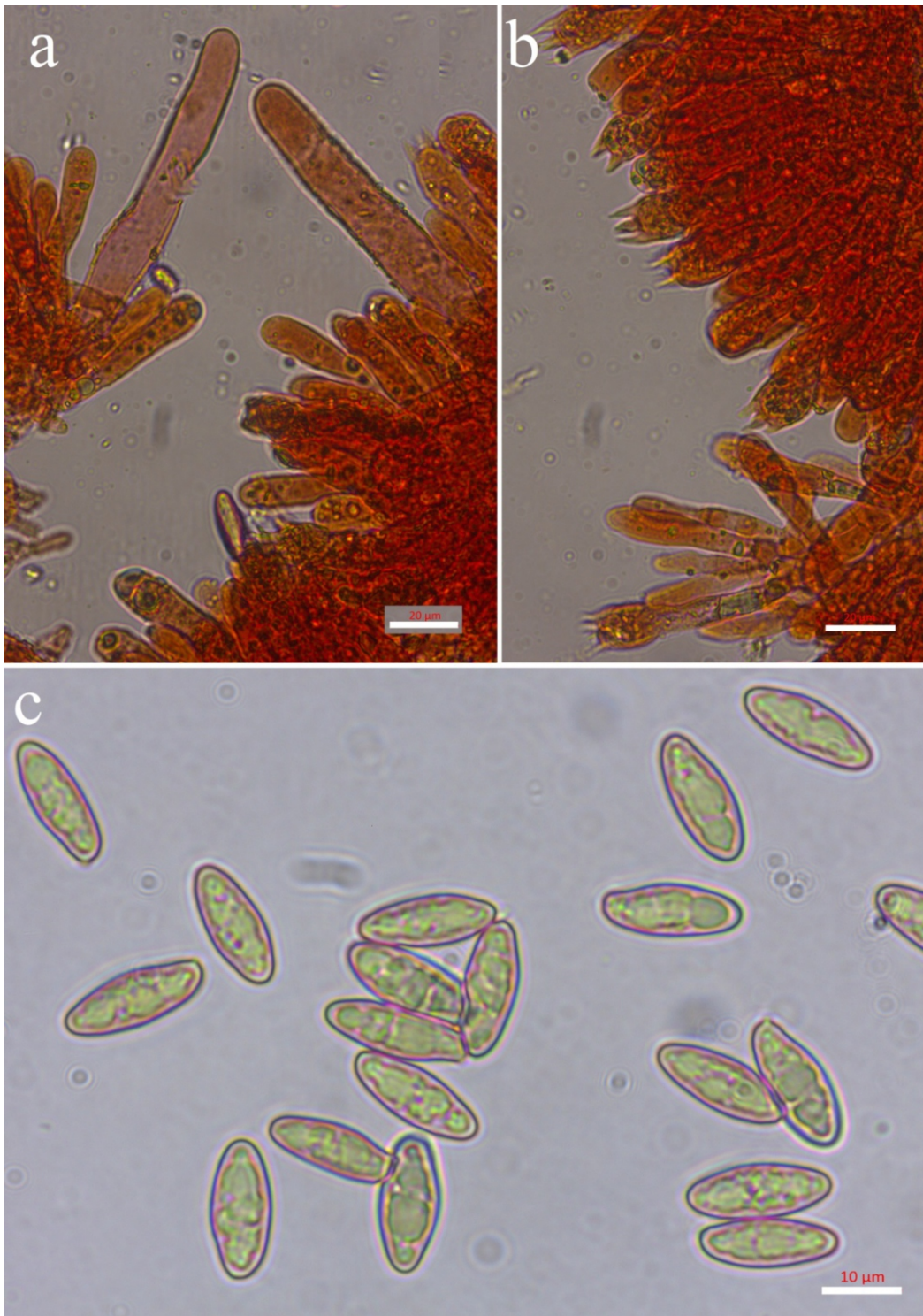


Figure 4. *Chroogomphus mediterraneus*: a,b- cross sections through the lamella (scale bars: 20 μm). c- basidiospores (scale bars: 10 μm). Photos by E. Sesli.



Meruliaceae P. Karst.

Sarcodontia pachyodon (Pers.) Spirin (Figure 5).

Syn.: *Hydnum pachyodon* Pers., *Irpex crassitatus* Lloyd, *I. crassus* Berk. & M.A. Curtis, *I. mollis* Berk. & M.A. Curtis, *I. pachyodon* (Pers.) Quél., *I. pachyodon* var. *trametea* Bourdot & Galzin, *Irpiciporus mollis* (Berk. & M.A. Curtis) Murrill, *I. pachyodon* (Pers.) Kotl. & Pouzar, *Lenzites pachyodon* (Pers.) Pat., *Radulomyces pachyodon* (Pers.) M.P.Christ. *Sistotrema pachyodon* (Pers.) Fr., *Spongipellis pachyodon* (Pers.) Kotl. & Pouzar, *Xylodon crassus* (Berk. & M.A. Curtis) Kuntze, *X. mollis* (Berk. & M.A. Curtis) Kuntze.

Basidiomata resupinate to effuse-reflexed, broadly attached to the substrate. Pileus 30-50 × 10-20 mm, upper surface white to cream, somewhat slightly ochraceous, unzoned, finely tomentose when young, smooth in age, margin sharp and sometimes incurved. Hymenial surface whitish when fresh, ochraceous when dry, hydroid in the most part of the hymenium, usually irpicoid near the margin. Teeth (up to 10 mm) cylindrical, somewhat flattened. Basidia 30-35 × 4-5 µm, cylindrical to narrowly clavate, 4-spored and basal clamped. Basidiospores 5.5-6.5 × 4.5-5.5 µm, broadly ellipsoid to subglobose, smooth, hyaline, with drops and thick walled. Hyphal system monomitic, 2-5 µm across, septa with clamps, hyphae, thin to thick walled, some with oil drops

Material examined: TURKEY—Istanbul: Belgrad Forest, Neşet Suyu, on beech stump, N 41° 11' - E 28° 58', 85 m, 15.11.2014, Akata 6257.

Podoscypha multizonata (Berk. & Broome) Pat. (Figure 6).

Syn.: *Phylacteria intybacea* var. *multizonata* (Berk. & Broome) Bigeard & H. Guill., *Stereum multizonatum* (Berk. & Broome) Masee, *Thelephora multizonata* Berk. & Broome.

Basidiomata 100-150 × 80-100 mm, stipitate, rosette-like, spatulate to fan-shaped, consisting of numerous thin, erected, brownish,

concentrically zoned, dark banded lobes arising from a common base. Hymenophore smooth or rugose, pale brown to grey brown, smooth. Flesh leathery, pinkish-brown to brownish-wine. Basidia 30-35 × 5-6 µm, clavate, 2-4 spored and clamped. Basidiospores 4-6 × 4-5 µm, broadly ellipsoid to subglobose, thin-walled, hyaline and smooth. Gloeocystidia 50-70 × 6-8 µm, thin walled, cylindrical with an obtuse apex. Hyphal system dimitic. Generative hyphae 3-5 µm wide, thin-walled and clamped. Skeletal hyphae 4-8 µm and thick walled.

Material examined: TURKEY—Istanbul: Belgrad Forest, Kömürcü Bent, on beech root, N 41° 12' - E 28° 57', 100 m, 22.10.2013, Akata 5864.

Discussion

Considering the checklists (Doğan et al., 2005; Sesli and Denchev, 2008) and the recent data on Turkish mycobiota (Acar et al., 2015; Akata, 2017; Akata and Uzun, 2017; Alkan et al., 2016; Allı et al., 2017; Altuntaş et al., 2017; Demirel and Koçak, 2016; Demirel et al., 2017; Doğan and Kurt, 2016; Öztürk et al., 2017; Sesli et al., 2016), *Chroogomphus mediterraneus* (Finschow) Vila, Pérez-De-Greg. & G. Mir, *Hebeloma sacchariolens* Quél., *Podoscypha multizonata* (Berk. & Broome) Pat. and *Sarcodontia pachyodon* (Pers.) Spirin are recorded for the first time from Turkey. Among them, *Podoscypha multizonata* is the first member of the genus *Podoscypha* in Turkey.

Hebeloma sacchariolens and *H. pallidoluctuosum* Gröger & Zschiesch. resemble each other in terms of similar morphology and ecology, but the latter has shorter cystidia and smaller basidiospores (Vesterholt, 2005). *Chroogomphus mediterraneus* can be confused with *C. rutilus* (Schaeff.) O.K. Mill. because of similar morphology, but the cystidia of the latter has thicker wall (up to 2.5 µm) than the former (up to 1 µm) (Li et al., 2009; Martin et al., 2016).

Podoscypha multizonata differs from other *Podoscypha* members by its distinctive rosette-like, reddish to pinkish brown

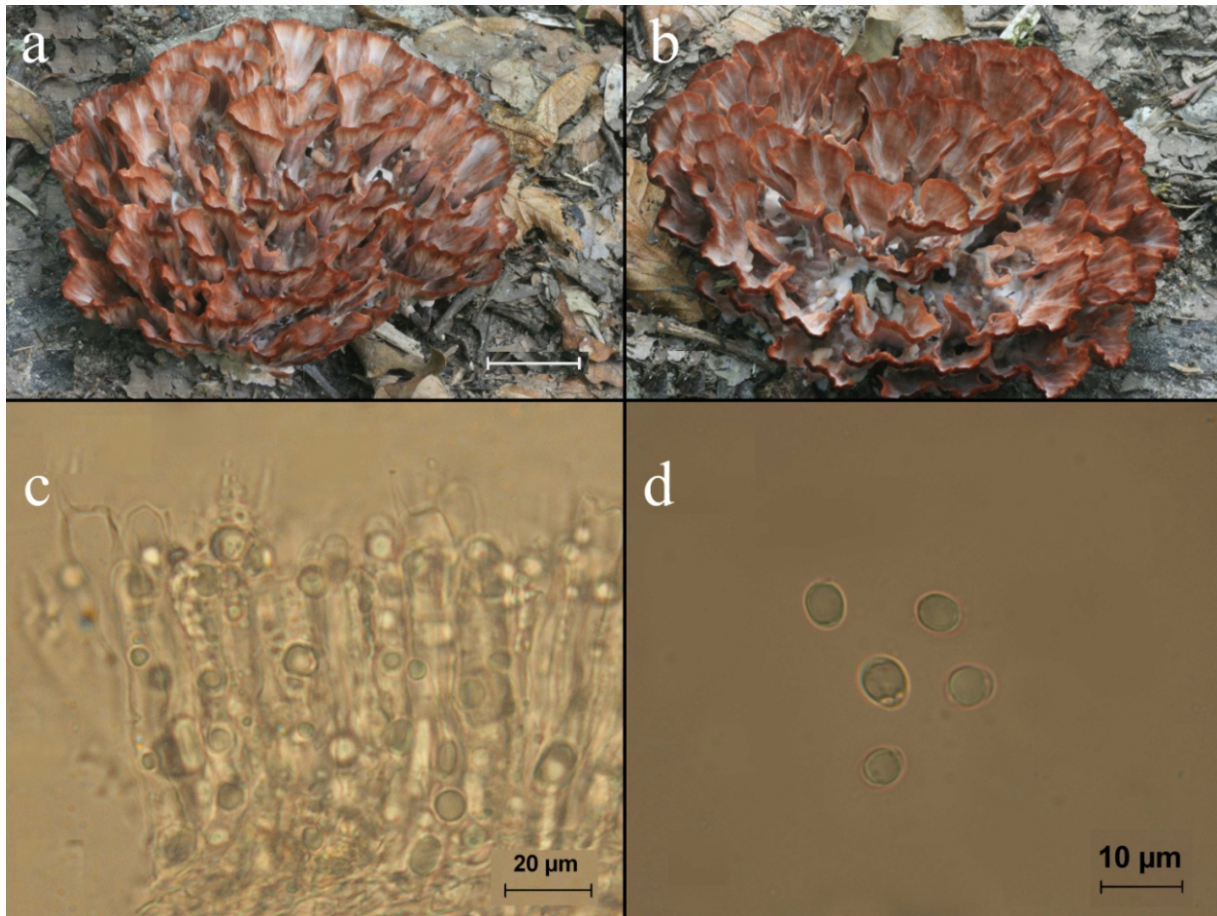


Figure 6. *Podoscypha multizonata*: a,b- basidiomata (scale bar: 50 mm)-c- basidia, d- basidiospores. Photos by I. Akata.

basidiomata consisting of numerous thin, tough and erect individual lobes. It is also macroscopically close to *Cotylidia pannosa* (Sowerby) D.A. Reid, except the diversity of their hyphal systems (Kout and Zibarova, 2013). *Sarcodontia pachyodon* macroscopically resembles some irpicoid species such as *Schizopora paradoxa* (Schrad.) Donk. and *Irpex lacteus* (Fr.) Fr. . However they differ because of the thinner fruit bodies and lacking clamp connections respectively (Breitenbach & Kränzlin, 1986).

Acknowledgements

I. Akata would like to thank Ankara University Research Funding Unit (Project no: 15H0430001) for the financial support. The studies of the second author were enabled by the support of the Karadeniz Technical University Scientific Research Projects Unit (BAP: 11300).

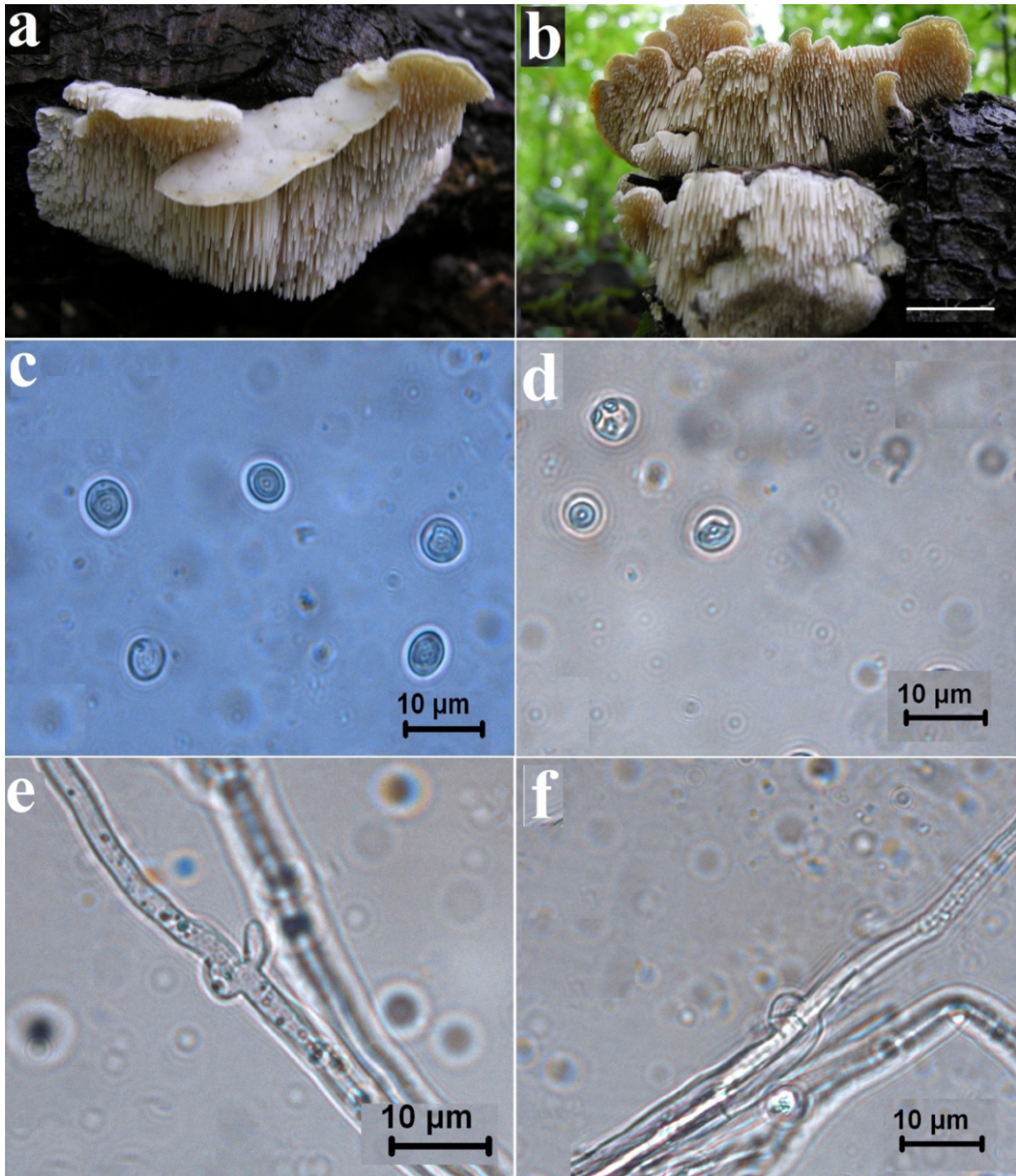


Figure 5. *Sarcodontia pachyodon*: a,b- basidiomata (scale bar: 20 mm) c,d- basidiospores, e,f- hyphae. Photos by I. Akata.



References

- Acar İ., Uzun Y., Demirel K., Keleş A., *Macrofungal diversity of Hani (Diyarbakır/Turkey) district*, Biological Diversity and Conservation, 8(1): 28–34(2015).
- Akata I., *Macrofungal Diversity of Belgrad Forest (İstanbul)*, Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi, 17(1): 150-164(2017).
- Akata I., Uzun Y., *Macrofungi determined in Uzungöl Nature Park (Trabzon)*, Trakya University Journal of Natural Sciences, 18(1):15-24(2017).
- Alkan S., Kaşık G., Öztürk C., Aktaş S., *Çorum İli'nin Yenir Özellikteki Makromantarları*, Türk Tarım Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 4(3):131-138(2016).
- Allı H., Çöl B., Şen İ., *Macrofungi biodiversity of Kütahya (Turkey) province*, Biological Diversity and Conservation, 10(1):133-143(2017).
- Altuntaş D., Allı H., Akata I., *Macrofungi of Kazdağı National Park (Turkey) and its close environs*, Biological Diversity and Conservation 10(2): 17-25(2017).
- Arora D., *Mushrooms Demystified*, Ten Speed Press, Berkeley, CA(1986).
- Breitenbach J., Kränzlin F., *Fungi of Switzerland*, Volume 2, Nongilled Fungi, Verlag Mykologia CH-6000 Luzern 9, Switzerland(1986).
- Breitenbach J., Kränzlin F., *Fungi of Switzerland*. Vol: 5, Agarics 3. Part, Verlag Mykologia CH-6000 Luzern 9, Switzerland(2000).
- Dahlberg A., Croneborg H., *33 threatened fungi in Europe*, Council of Europe Publishing, Belgium(2006).
- Demirel K., Koçak M.Z., *Zilan Vadisi'nin (Erciş-VAN) Makrofungal Çeşitliliği*, Mantar Dergisi, 7(2):122-134(2016).
- Demirel K., Uzun Y., Keleş A., Akçay ME., Acar İ., *Macrofungi of Karagöl–Sahara National Park (Şavşat-Artvin/Turkey)*, Biological Diversity and Conservation 10(2): 32-40(2017).
- Doğan H.H, Kurt F., *New macrofungi records from Turkey and macrofungal diversity of Pozantı-Adana*, Turkish Journal of Botany, 40: 209-217(2016).
- Doğan H.H., Öztürk C., Kaşık G., Aktaş S. A., *Checklist of Aphylllophorales of Turkey*, Pakistan journal of Botany, 37(2)459-485(2005).
- Eriksson J., Hjortstam K., Ryvarden L., *The Corticiaceae of North Europe, Vol. 6, Phlebia–Sarcodontia*. Oslo, Fungiflora(1981).
- Hansen L., Knudsen H. *Nordic Macromycetes. Volume 2. Polyporales, Boletales, Agaricales, Russulales*. Nordsvamp, Copenhagen, Denmark(1992).
- Jahn H., Müller K.H., *Podoscypha multizonata (Berk. & Br.) Pat. bei Dessau (Bezirk Halle, DDR) gefunden*, Westf. Pilzbr, 11:22-26(1976).
- Kout J., Zibarova L., *Revision of the genus Cotylidia (Basidiomycota, Hymenochaetales) in the Czech Republic*, Czech Mycology, 65(1):1-13(2013).
- Li Y.C., Yang Z.L., Tolgor B., *Phylogenetic and biogeographic relationships of Chroogomphus species as inferred from molecular and morphological data*, Fungal Diversity, 38:85-104(2009).
- Martin M.P., Siquier J.L.I., Salom J.C., Telleria M.T., Finschow G., *Barcoding sequences clearly separate Chroogomphus mediterraneus (Gomphidiaceae, Boletales) from C. rutilus, and allied species*, Mycoscience, 57(6): 384-392(2016).
- Miller O. K., *Monograph of Chroogomphus (Gomphidiaceae)*, Mycologia, 56: 526-549(1964).
- Öztürk C., Pamukçu D., Aktaş S., *Macrofungi of Nallihan (Ankara) District*, Mantar Dergisi, 8(1)60-67(2017).
- Sesli E., Denchev C.M., *Checklists of the myxomycetes, larger ascomycetes, and larger basidiomycetes in Turkey*, Mycotaxon, 106: 65-67(2008).
- Sesli E., Türkekul İ., Akata I., Niskanen T., *New records of Basidiomycota from Trabzon, Tokat, and İstanbul provinces in Turkey*, Turkish Journal of Botany, 40: 531-545(2016).
- Vesterholt J., *The Genus Hebeloma (Fungi of Northern Europe, Vol. 3)*. Danish Mycological Society, Copenhagen, Denmark(2000).



Mineral Contents of Some Wild Edible Mushrooms

Abdullah KAYA¹, Fevzi KILIÇEL², Hacer Sibel KARAPINAR², Yasin UZUN¹

¹ Karamanoğlu Mehmetbey University, Science Faculty, Department of Biology, 70100 Karaman

² Karamanoğlu Mehmetbey University, Science Faculty, Department of Chemistry, 70100 Karaman

Abstract: Mineral (Ni, Cu, Co, Zn, Cr, Mn, Mg, Cd, Fe, Ca and Pb) contents of 11 wild edible agaricoid mushrooms (*Coprinus comatus* (Müll.:Fr.) S.F. Gray, *Leucoagaricus leucothites* (Vitt.) Wasser, *Lycoperdon molle* Pers.: Pers., *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kummer, *Volvopluteus gloiocephalus* (DC.) Justo, *Coprinellus micaceus* (Bull.) Vilgalys, Hopple & Jacq. Johnson, *Psathyrella candolleana* (Fr.:Fr.) Mre., *Cyclocybe cylindracea* (DC.) Vizzini & Angelini, *Lepista nuda* (Bull. Fr.) Cke., *Melanoleuca cognata* (Fr.) Konr. & Maubl. ss. Lge. and *Tricholoma terreum* (Schaeff.) P. Kumm.) were determined by an atomic absorption spectrophotometer (AAS). Ca and Fe were found to be the most abundant elements among the mushroom studied. Cr was detected only in 5 mushrooms while Pb was not detected in any of the samples.

Key words: Edible mushrooms, mineral content, atomic absorption spectrophotometer

Bazı Yenilebilir Yabani Mantarların Mineral İçerikleri

Özet: Yenilebilir 11 yabani agarikoit mantar türünün (*Coprinus comatus* (Müll.:Fr.) S.F. Gray, *Leucoagaricus leucothites* (Vitt.) Wasser, *Lycoperdon molle* Pers.:Pers., *Pleurotus ostreatus* (Jacq.:Fr.) Kummer, *Volvopluteus gloiocephalus* (DC.) Justo, *Coprinellus micaceus* (Bull.) Vilgalys, Hopple & Jacq. Johnson, *Psathyrella candolleana* (Fr.:Fr.) Mre., *Cyclocybe cylindracea* (DC.) Vizzini & Angelini, *Lepista nuda* (Bull. Fr.) Cke., *Melanoleuca cognata* (Fr.) Konr. & Maubl. ss. Lge. ve *Tricholoma terreum* (Schaeff.) P. Kumm.) mineral (Ni, Cu, Co, Zn, Cr, Mn, Mg, Cd, Fe, Ca ve Pb) içerikleri atomik absorpsiyon spektrofotometresi kullanılarak belirlenmiştir. Çalışılan mantar örneklerinde en çok gözlenen ağır metaller Ca ve Fe olmuştur. Krom sadece 5 mantar örneğinde gözlenirken, hiçbir örnekte kurşun belirlenememiştir.

Anahtar kelimeler: Yenen mantarlar, mineral içerik, atomik absorpsiyon spektrofotometresi

Introduction

Mushrooms are an important group of organisms in nature and can be found almost everywhere in terrestrial ecosystems, and collection and consumption of them has a long tradition in many countries. Though the knowledge of the nutritional value of wild growing mushrooms has been limited compared to other vegetables, they are usually considered as valuable nutrient sources and many of them are recommended against health problems such

as headache, colds, asthma, diabetes etc.(Kalacetal., 1991).

Mineral accumulation in macrofungi has been found to be affected by environmental and fungal factors (Garcia et al., 1998). Amount of organic matter, pH and metal concentrations of underlying soil can be listed as environmental factors. Because of such ecological factors, the fruiting bodies of mushrooms could be relatively rich in mineral contents (Vetter, 1990).



Although some metals are essential and play important roles in living systems, they may have toxic effects if consumed above threshold concentration levels (Olumuyiwa et al., 2007; Tüzen et al., 2007).

The study aims to determine the mineral content of some agaricoid wild edible mushrooms growing naturally in Gaziantep province (Turkey).

Materials and Methods

The macrofungi specimens were

collected from different localities within Gaziantep province (Turkey) within the scope of the TÜBİTAK project TOVAG-212T112. After taking the color photographs and recording the necessary taxonomically important data of the samples, they were transferred to the fungarium and identified with the help of the relevant literature (Breitenbach & Kränzlin, 1991, 1995; Candusso and Lanzoni, 1990; Buczacki, 1992; Jordan, 1995; Pegler et al., 1995; Bessette and Bessette, 1997). The names and habitats of the studied samples were given in Table 1.

Table 1. The names and the habitats of the mushrooms studied

| | Studied Mushroom Name | Habitat |
|----|--|------------------------------------|
| 1 | <i>Coprinus comatus</i> (O.F. Müll.) Pers. | Meadow |
| 2 | <i>Leucoagaricus leucothites</i> (Vittad.) Wasser | Meadow |
| 3 | <i>Lycoperdon molle</i> Pers. | Forest clearings |
| 4 | <i>Pleurotus ostreatus</i> (Jacq.) P. Kumm. | On <i>Salix/Populus</i> sp. trunks |
| 5 | <i>Volvopluteus gloiocephalus</i> (DC.) Justo | Among grasses |
| 6 | <i>Coprinellus micaceus</i> (Bull.) Vilgalys, Hopple & Jacq. Johnson | Around <i>Populus</i> sp. remains |
| 7 | <i>Psathyrella candolleana</i> (Fr.) Maire | Around <i>Populus</i> sp. remains |
| 8 | <i>Cyclocybe cylindracea</i> (DC.) Vizzini & Angelini | On <i>Salix/Populus</i> sp. trunks |
| 9 | <i>Lepista nuda</i> (Bull.) Cooke | Forest and shrubby areas |
| 10 | <i>Melanoleuca cognata</i> (Fr.) Konrad & Maubl. | Mixed forest |
| 11 | <i>Tricholoma terreum</i> (Schaeff.) P. Kumm. | Pine forest |

Dried samples of the mushrooms were prepared for analysis according to the procedure followed by Kaçar (1984) and Khairiah et al. (2004). Mushroom samples were washed with ultrapure water and dried at 80 °C for 8-10 hours. Then the samples were crushed and redried at the same temperature and duration. One g of powdered samples were put in 50 ml beakers and 15 ml of HNO₃ were added. After waiting 8-10 hours, 4 ml HClO₄ were added and heated gently for about 5-6 hours and cooled. Then 5 ml of H₂O₂ was added and heated till the solution is colorless enough. The solution was cooled and distilled water was added on it until the total volume reaches to 10 ml.

A flame atomic absorption spectrophotometer (FAAS) was used for the determination of elements. Metal ion concentrations were determined as six replicates. The absorption measurements of the elements were performed under the conditions recommended by the manufacturer.

meter (FAAS) was used for the determination of elements. Metal ion concentrations were determined as six replicates. The absorption measurements of the elements were performed under the conditions recommended by the manufacturer.

Results

Element concentrations of the mushroom samples are presented in Table 2. The metal concentrations were determined on dry weight basis. The results indicate that Calcium and Iron were found to be the most abundant elements among the studied mushroom samples. Ni, Cu, Co, Zn, Mn, Mg, Cd, Fe and Ca were determined in all samples.



Cr was detected only in 5 mushrooms while Pb was not detected in any of them. The average mineral contents in mushroom samples ranged as 0.763-152, 15.57-60.43, 1.305-

10.97, 58.69-110.9, 0.425-15.59, 7.115-138.2, 61.03-67.23, 1.345-5.908, 59.42-585.3, 309.2-2627 mg/kg dw for Ni, Cu, Co, Zn, Cr, Mn, Mg, Cd, Fe and Ca respectively.

Table 2. Mineral contents of studied wild edible mushrooms

| No | Amount of minerals (mg/kg dry weight) | | | | | | | | | | |
|----|---------------------------------------|-------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|----|
| | Ni | Cu | Co | Zn | Cr | Mn | Mg | Cd | Fe | Ca | Pb |
| 1 | 10,89 | 50,43 | 3,405 | 58,69 | 4,095 | 31,08 | 62,39 | 2,57 | 306,4 | 2627 | nd |
| 2 | 3,305 | 32,51 | 1,305 | 82,38 | nd | 9,95 | 61,03 | 1,625 | 59,42 | 590,5 | nd |
| 3 | 152 | 24,82 | 10,97 | 81,12 | 8,203 | 68,53 | 67,23 | 2,765 | 585,3 | 584,2 | nd |
| 4 | 2,445 | 15,57 | 1,57 | 110,9 | 0,425 | 10,43 | 61,8 | 1,97 | 106 | 309,3 | nd |
| 5 | 59,21 | 27,94 | 7,31 | 65,62 | 15,59 | 138,2 | 65,22 | 1,345 | 585 | 2404 | nd |
| 6 | 5,14 | 18,42 | 2,513 | 73,23 | nd | 12,91 | 62,34 | 2,613 | 148,4 | 1794 | nd |
| 7 | 8,018 | 60,43 | 3,448 | 97,5 | 1,58 | 45,57 | 63,54 | 1,758 | 382,8 | 2397 | nd |
| 8 | 2,368 | 27,6 | 1,733 | 66,63 | nd | 7,115 | 62,87 | 2,455 | 61,43 | 1037 | nd |
| 9 | 3,725 | 34,31 | 2.428± | 72,72 | nd | 19,88 | 62,29 | 2,723 | 156 | 1361 | nd |
| 10 | 3,218 | 25,9 | 2,25 | 67,83 | nd | 53,19 | 61,91 | 2,265 | 84,47 | 562,9 | nd |
| 11 | 0,763 | 21,49 | 2,42 | 81,82 | 2,543 | 12,54 | 62,07 | 5,908 | 217,4 | 2487 | nd |

Discussion

Except chromium and lead, all the minerals were determined in all the mushrooms studied. Chromium was detected in *Coprinus comatus*, *Lycoperdon molle*, *Pleurotus ostreatus*, *Volvopluteus gloiocephalus*, *Psathyrella candolleana* and *Tricholoma terreum* while lead was not detected in any of the mushrooms studied.

Nickel content ranged from 0.763 (*Tricholoma terreum*) to 152.0 (*Lycoperdon molle*) mg/kg dw. Ni content was determined as 44.6–127, 0.4–15.9, 2.73–19.4, 0.4–2, 8.2–26.7, 1.72–24.1, 44.6–127 mg/kg dw by Demirbaş (2001), Işıldak et al. (2004), Işıloğlu et al. (2001), Kalač and Svoboda (2001), Mendil et al. (2004) and Soylak et al. (2005) respectively. Except *L. molle*, Ni content of the mushrooms are in agreement with previous studies. Nickel has been linked to lung cancer and the tolerable upper intake level for this toxic element is reported as 1 mg/day (Anonymous, 1993).

The Copper content was 15.57 mg/kg dw in *Pleurotus ostreatus* and 60.43 mg/kg dw for

Psathyrella candolleana. The determined magnesium levels are in the range of reported amounts. Tüzen et al. (1998) and Sesli and Tüzen (1999) reported copper contents of wild edible mushrooms as being between 4.71-51 and 10.3-145 mg/kg dw. Copper concentrations are generally reported within the range of 100-300 mg/kg dw and such amounts don't cause a health risk (Kalač and Svoboda, 2001).

Minimum and maximum values of cobalt were 1.305 and 10.97 mg/kg dw. The highest and lowest levels were found in *Lycoperdon molle* and *Leucoagaricus leucothites*, respectively. The amount of cobalt was determined as 7.42 mg/kg dw for *Agrocybe dura* (Kaya and Bağ, 2010), 7.2 mg/kg dw for *Ramaria larentii* (Ouzuni et al., 2009) and 5.8 mg/kg dw for *Agaricus arvensis* (Borovička & Řanda, 2007). Except *Lycoperdon molle*, the determined cobalt contents are in agreement with the previous studies.

Generally, the zinc values in the present study are in agreement with reported literature values.



It was ranged from 58.69 mg/kg dw (*Coprinus comatus*) to 110.9 mg/kg dw (*Pleurotus ostreatus*). In a review, tracing the studies on mineral contents of mushrooms, Kalač and Svoboda (2001) reported the zinc content as ranging from 30 to 150 mg/kg dw. So far the highest zinc content was measured as 173.8 mg/kg dw in *Tricholoma equestre* (Işıldak et al., 2004).

Chromium was determined in six mushroom samples and the content was ranged from 0.425 mg/kg (*Pleurotus ostreatus*) to 15.59 mg/kg dw (*Voluopluteus gloiocephalus*). It was not determined in *Cyclocybe cylindracea*, *Coprinellus micaceus*, *Leucoagaricus leucothites*, *Melanolouca cognata* and *Lepista nuda*. Tüzen (2003) reported Cr content as 0.87-2.66 mg/kg dw, Sivrikaya et al. (2002) as 7.0-11.0 mg/kg and Kaya et al. (2011) as 0.77-80.03 mg/kg dw. Because of its ability to increase glucose tolerance in type-2 diabetes mellitus patients (Anderson, 2000), chromium is considered essential to man. The recommended dietary intake for chromium is 0.035 mg/day for male and 0.025 mg/day for the female (Anonymous, 2001). Mushrooms could be thought as a potential source of this element.

Unlike chromium, manganese was determined in all mushrooms studied and ranged from 7.12 in *Cyclocybe cylindracea* to 138.2 mg/kg dw in *Voluopluteus gloiocephalus*. Manganese values in the literature have been reported in the ranges: 5.0–60.0 mg/kg dw (Kalač and Svoboda, 2001) and 5.54-135 mg/kg dw (Gençcelep et al., 2009), respectively. Though *V. gloiocephalus* seems to contain considerably high Cr, the determined Cr content are generally in agreement with those presented before.

As it is the case for some other minerals investigated in this study, *Lycoperdon molle* contained the highest magnesium content with an amount of 67.23 mg/kg dry matter. Magnesium levels ranged between 61.8 mg/kg dw and 65.22 mg/kg dw for the other mushroom species, studied. Uzun et al. (2011) reported the magnesium values as 180 mg/kg dw and 1930

mg/kg dw for *Pleurotus fuscus* var. *ferulae* and *Lycoperdon pyriforme* respectively. Likewise Demirbaş (2001) reported the content of this mineral as 330 mg/kg dw in *Tricholoma anatolicum* and 6560 mg/kg dw in *Morchella deliciosa*. Türkekul et al. (2004), Sesli et al. (2008) and Tüzen et al. (2007) also reported the magnesium content within the range of 688 mg/kg dw and 1150 mg/kg dw. Compared to earlier published reports the determined levels of magnesium is relatively low.

Since it inhibits many life processes, cadmium is known as a principal toxic element (Kalač and Svoboda, 2004) and has been associated with renal damage; cancer and childhood aggression (Anonymous, 1993). Acceptable daily intake of this mineral is reported by World Health Organization (Anonymous, 1993) as 0.06-0.07 mg/day/kg body weight. In our study, cadmium contents ranged from 1.345 mg/kg dw for *Voluopluteus gloiocephalus* to 5.908 mg/kg dw for *Tricholoma terreum*. In some previous studies the content of cadmium in wild mushrooms were reported as 0.81–7.50 mg/kg (Svoboda et al., 2000), 0.10–0.71 mg/kg (Mendil et al., 2004), 0.28–1.6 mg/kg (Mendil et al., 2005) and 0.12– 2.60 mg/kg (Malinowska et al., 2004). Determined cadmium contents of this study are in agreement with the literatural data.

Adequate iron level in a diet was reported to be very important in order to decrease the incidence of anemia (Uzun et al., 2011). Iron content was determined to be at the lowest level (59.42 mg/kg dw) in *Leucoagaricus leucothites* and at the highest level (585.3 mg/kg dw) in *Lycoperdon molle*. Our iron measurements are in agreement with the findings of previous studies. The reported iron contents ranged between 5.0 and 7162 mg/kg dw (Sesli and Tüzen, 1999; Işiloğlu et al., 2001; Gençcelep et al., 2009, Kaya et al., 2011; Uzun et al., 2011).

All the mushroom samples contained calcium and ranged from 309.3 mg/kg dw (*Pleurotus ostreatus*) to 2627 mg/kg dw (*Coprinus comatus*).



For other mushroom samples the measured calcium contents were between 309.3-2487 mg/kg dw. Compared to reports of Kalač, (2009) (100-2400 mg/kg dw) and Sanmeea et al. (2003) (100-2400 mg/kg dw), determined calcium contents for some samples seems to be higher. But Uzun et al. (2011) measured the calcium content of *Laetiporus sulphureus* as 5700 mg/kg dw. Likewise Gençcelep et al. (2009) reported the calcium content to be 8800 mg/kg for *Lepista nuda*.

Lead was not determined in any of the mushroom samples studied. Kalač & Svoboda, (2001) reported the lead contents of wild growing mushrooms as being between 0.5-20 mg/kg dw. Kaya and Bağ (2010) measured lead contents between 1.445 mg/kg dw and 3.371 mg/kg dw. But Uzun et al (2011), Kaya et al. (2011), Kaya and Bağ (2013) could not determine this mineral in many of the mushrooms they studied. The acceptable daily intake of Pb for adults is 0.21-0.25 mg/day

(Anonymous 1993).It means that consumption of wild edible mushrooms collected from these habitats within Gaziantep province may not have any harmful effect if not overconsumed.

Analysis of the determined mineral contents and the comparison of them with previously reported values indicate that the wild growing edible mushrooms, collected from Gaziantep province and evaluated in this study, generally contained considerable amounts of minerals but lower toxic metal contents (Pb, Cd, Cr), and can be used as a natural food source without any health risk.

Acknowledgements

The authors would like to thank Karamanoğlu Mehmetbey University Research Fund (30-M-15) for its financial support, and TUBITAK 212T112, from which the mushroom samples were obtained.

References

- Anderson A. *Chromium in the prevention and control of diabetes*. Diab. Metabol., 26: 22-27 (2000).
- Anonymous. *Evaluation of certain food additives and contaminants*. World Health Organization (WHO) and Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) Technical Report Series 837, Geneva (1993).
- Anonymous. *Food and Nutrition Board (FNB), Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium and Zinc*, Washington, DC: Institute of Medicine, National Academy Press, pp. 1-28 (2001).
- Bessette A.E., Bessette A.R., Fischer D.W. *Mushrooms of Northeastern North America*. Hong Kong: Syracuse University Press (1997).
- Borovička - Řanda Z., Jelínek E., Dunn C.E. *Hyperaccumulation of silver by Amanita strobiliformis and related species of the section Lepidella*. Mycological Research, 111, 1339–1344 (2007).
- Breitenbach J., Kränzlin F. *Fungi of Switzerland, Vol: 3, 4*. Switzerland: Verlag Mykologia Luzern (1991, 1995).
- Buczacki S. *Mushrooms and Todstools of Britain and Europe*. Glasgow: Harper Collins Publishers (1992).
- Candusso M., Lanzoni G. *Lepiota s.l., Vol-4*. Saronno-Italia: Libreria editrice Giovanna Biella (1990).
- Demirbaş A. *Concentrations of 21 metals in 18 species of mushrooms growing in the East Black Sea region*. Food Chemistry, 75, 453–457 (2001).
- Garcia M.A., Alonso J., Fernandez M.I., Melgar M.J. *Lead Content in Edible Wild Mushrooms in Northwest Spain as Indicator of Environmental Contamination*. Archives of Environmental Contamination and Toxicology 34: 330-335 (1998).
- Gençcelep H., Uzun Y., Tunçturk Y., Demirel K. *Determination of mineral contents of wildgrown edible mushrooms*. Food Chemistry 113: 1033-1036 (2009).
- İşildak Ö., Turkecul I., Elmastaş M., Tüzen M. *Analysis of heavy metals in some wild-grown edible mushrooms from the middle Black Sea region, Turkey*. Food Chemistry, 86, 547–552 (2004).
- İşiloğlu M., Yılmaz F., Merdivan D. *Concentrations of trace elements in wild edible mushrooms*. Food Chemistry, 73, 169–175 (2001).



- Jordan M. *The Encyclopedia of Fungi of Britain and Europe*, David & Charles Book Co. Devon. UK: John Taylor Book Ventures Ltd. (1995).
- Kacar B *Plant nutrition practice guide*. Ankara Univ. Agricultural Fac. Pub: 900, Practice Guides: 214. Ankara, Turkey (1984)..
- Kalač P., Svoboda L. A review of trace element concentrations in edible mushrooms. *Food Chemistry*, 69, 273–281 (2001).
- Kalac P. *Chemical composition and nutritional value of European species of wild growing mushrooms: A review*. *Food Chemistry* 113: 9-16 (2009).
- Kalač P., Burda J., Staskova I. *Concentrations of lead, cadmium, mercury and copper in mushrooms in the vicinity of a lead smelter*. *Sci. Total Environ.* 105: 109-119 (1991).
- Kalač, P., Svoboda, L. Havlíčková *Contents of cadmium and mercury in edible mushrooms*. *Journal of Applied Biomedicine*, 2: 15–20 (2004).
- Kaya A., Bağ H. *Trace Element Contents of Edible Macrofungi Growing in Adıyaman (Turkey)*. *Asian Journal of Chemistry* 22: 1515-1521 (2010).
- Kaya A., Genççelep H., Uzun Y., Demirel K. *Analysis of Trace Metal Levels in Wild Mushrooms*. *Asian Journal of Chemistry* 23: 1099-1103 (2011).
- Kaya A., Bağ H. *Mineral Contents of some Wild Ascomycetous Mushrooms*. *Asian Journal of Chemistry* 25: 1723-1726 (2013).
- Khairiah T., Zalifah M.K., Yin Y.H., Aminah A. *The uptake of heavy metals by fruit type vegetables grown in selected agricultural areas*. *Pak. J. Biol. Sci.*, 7(8):1438–1442 (2004).
- Malinowska E., Szefer P., Falandaysz J. *Metals bioaccumulation by bay bolete, Xerocomus badius, from selected sites in Poland*. *Food Chemistry*, 84, 405–416 (2004).
- Mendil D., Uluözlü D.Ö., Tüzen M., Hasdemir E. Sarı H. *Trace Metal Levels in Mushroom Samples from Ordu, Turkey*. *Food Chemistry*, 91, 463-467 (2005).
- Mendil D., Uluözlü Ö.D., Hasdemir E., Çağlar A., *Determination of trace elements on some wild edible mushroom samples from Kastamonu, Turkey*. *Food Chemistry*, 88, 281–285 (2004).
- Olumuyiwa S.F., Oluwatoyin O.A., Olanrewaja O., Steve R.A. *Chemical composition and toxic trace element composition of some Nigerian edible wild mushroom*. *International Journal of Food Science and Technology*. 43(1). 24-29 (2007).
- Ouzuni, P.K., Petridis D., Koller W.D., Riganakos, K.A. *Nutritional value and metal content of wild edible mushrooms collected from West Macedonia and Epirus, Greece*. *Food Chemistry*, 115:1575–1580 (2009).
- Pegler D.N., Læssøe T., Spooner B.M. *British Puffballs, Earthstars and Stinkhorns, Royal Botanic Gardens*. Kew: Whitstable Litho (1995).
- Sanmee R., Dellb B., Lumyong P., Izumori K., Lumyonga, S., *Nutritive value of popular wild edible mushrooms from northern Thailand*. *Food Chemistry* 82: 527-532 (2003).
- Sesli E., Tüzen M. *Levels of trace elements in the fruiting bodies of macrofungi growing in the East Black Sea region of Turkey*. *Food Chemistry* 65: 453-460 (1999).
- Sesli E., Tüzen, M., Soylak, M. *Evaluation of trace metal contents of some wild edible mushrooms from East Black Sea region, Turkey*. *Journal of Hazardous Materials*, 160(2–3), 462–467 (2008).
- Soylak M., Saraçoğlu S., Tüzen M., Mendil D. *Determination of Trace Metals in Mushroom Samples From Kayseri, Turkey*. *Food Chemistry*, 92, 649-652 (2005).
- Svoboda L., Zimmermannova K., Kalač P. *Concentrations of mercury, cadmium, lead and copper in fruiting bodies of edible mushrooms in an emission area of a copper smelter and a mercury smelter*. *The Science of the Total Environment*, 246, 61–67 (2000).
- Turkekul I., Elmastas M., Tüzen M. *Determination of iron, copper, manganese, zinc, lead, and cadmium in mushroom samples from Tokat, Turkey*. *Food Chemistry*, 84, 389–392 (2004).
- Tüzen M., Özdemir M., Demirbas A. *Study of heavy metals in some cultivated and uncultivated mushrooms of Turkish origin*. *Food Chemistry* 63: 247-251 (1998).



YAYIN İLKELERİ

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ MANTARCILIK UYGULAMA Ve ARAŞTIRMA MERKEZİ'nin yayınladığı **MANTAR DERGİSİ** (e-ISSN 2147 6845); Ulusal veya Uluslararası Mikoloji alanıyla ilgili araştırma sonuçlarını içeren orijinal araştırma ve derleme makalelerin yayımlandığı elektronik HAKEMLİ bir dergidir. Derginin İdari Yayın Kurulu Merkez Yönetim Kuruludur.

Dergiye yayınlanmak üzere sunulan makaleler, Baş Editör tarafından konusu açısından dergide yayınlanmasının uygunluğuna karar verildikten sonra, Editör Kurulu aracılığı ile ilgili uzmanlık alanındaki hakemlere bilimsel yönden değerlendirilmek üzere gönderilir. Baş Editör, Bilimsel Hakemlerin eleştirisi ve önerileri ile yazarın bunlara verdiği cevaplar doğrultusunda eserin yayınlanıp, yayınlanamayacağına karar verir. Yayınlanması uygun görülmeyen eserler hakkında yazarlara bilgi verilir. Yayınlanması uygun görülen eserler hakkında İdari Yayın Kurulu Kararı alındıktan sonra, matbaa provası yazarlara gönderilir ve son kontrol okuması yapılır. Son okumada imla ve şekilsel hatalar dışında düzeltme veya ekleme yapılmaz. Derginin yayın dili Türkçedir. İngilizce dilinde de yayın kabul edilebilir.

Web sitemizde bulunan Telif Hakkı Devri Formu tüm yazarlarca imzalanmalı iletişim adresine posta ile gönderilmelidir. Bu form tüm yazarlar tarafından imzalanmadığı takdirde makale işleme alınmaz. Tüm imzalar orijinal olmalıdır.

Yazar makalesi ile ilgili en az 5 uzman ismini iletişim bilgileriyle beraber(cep tlf, e-posta adresi) word dosyası olarak, Hakem Öneri Formunu doldurarak sisteme ek dosya olarak yüklemelidir.

Sisteme yüklenen makalelerin bir an önce işleme alınabilmesi için; Telif Hakkı Devri Formu renkli olarak taranmış şekilde sisteme ek dosya olarak yüklenmelidir. Yazarlar eserlerini göndermeden önce son kontrolü sistem üzerinden yapmak zorundadırlar.

MAKALE YAZIM KURALLARI

Telif Hakkı devri formu ile gönderilecek Makale, **A4 boyutunda**, kenarlarda **3 cm** boşluk bırakılacak şekilde, **1.5 aralıklı, arial** yazı karakterinde, **10 punto** kullanılarak Word 2003 veya daha üst sürümdeki programla yazılmalıdır. Makalenin word dosyasında otomatik numaralandırma kullanılmamalıdır. Makalenin bölümleri sırayla şöyle olmalıdır;

(Türkçe Makaleler için);

Türkçe Başlık, Yazarlar ve adresleri, Öz, Anahtar kelimeler, İngilizce Başlık, Abstract, Key words, Giriş, Materyal ve Metot, Bulgular, Tartışma, Kaynaklar.

(İngilizce makaleler için);

İngilizce Başlık, yazarlar ve adresleri, Abstract ve Key words, Türkçe Başlık, Öz ve Anahtar Kelimeler, Introduction, Material and Method, Results, Discussion, References.

Yazar gerekli görürse alt başlıklar kullanılabilir. Her bölüme ait başlıklar kalın ve ilk harfleri büyük yazılmalıdır. Metin içinde geçen tüm bilimsel isimler italik olmalı, eğer başlık içerisinde yer alıyorsa hem italik hem de kalın olmalıdır. Tür isimleri ilk geçtikleri yerde yazarlarıyla birlikte verilmelidir. Daha sonraki yerlerde sadece takson isimleri yazılmalıdır. Bölümler arasında bir satır boşluk bırakılmalıdır.

Başlık: Türkçe Makalelerde makalenin Türkçe başlığı 14 punto, İngilizce başlığı 12 punto sadece baş harfleri büyük ve kalın olmalıdır. Yazar isimlerinin baş harfi ve soyadı büyük olmalı, adresler ismin altına yazılmalı, sorumlu yazarın e-mail adresi mutlaka belirtilmelidir. Akademik unvanlar makalede yer almamalıdır.

Anahtar Kelimeler: 4-10 kelimedenden oluşmalıdır.

Giriş: Araştırma konusu mümkün olduğu kadar güncel olarak kısa ve özlü değerlendirilir. Çalışmanın amacı da belirtilmelidir.

Kaynaklar: Kaynaklar metinde (soyadı, tarih) parantez içinde belirtilerek yazılmalıdır. Kaynaklar bölümü alfabetik sıraya göre 10 punto olarak yazılmalı ve yararlanılan eserlerin Yazar (yazarlarının) Adı ve soyadının ilk harfleri büyük olmalıdır. Kitap, makale ve bildiri isimlerinin ilk harfleri büyük, tümü italik yazılmalıdır. Lisansüstü tezler kaynak olarak gösterilemez.

Kaynak künyeleri aşağıdaki sıraya uygun olarak yazılmalıdır.

Periyodik ise aşağıdaki örneğe uygun olarak: Yazarın soyadı, adının baş harfi, makalenin başlığı, derginin adı, cilt, sayı ve sayfa numarası, yayın yılı (yıl parantez içinde). İki satır olduğunda ikinci satır asılı olacaktır.

Aktaş S., Kaşık G., Doğan H.H., Öztürk C., *Two New Taxa Records for the Macrofungi of Turkey*, Tr.J.of Botany, 30(4)209-212(2006).

Kitap ise aşağıdaki örneğe uygun olarak: Yazarın soyadı, adının baş harfi, kitabın adı, yayınevi, yayımlandığı şehir ve basım yılı (yıl parantez içinde). İki satır olduğunda ikinci satır asılı olacaktır.

Kaşık G., Öztürk C., Doğan H.H., Aktaş S., Demirel G., *Mikoloji Laboratuvarı*, Marifet Ofset Matbaa ve Kağıtçılık, Konya(2005).

Bilimsel Toplantı kitabı ise aşağıdaki örneğe uygun olarak: Yazarın soyadı, adının baş harfi, bildiri adı, bilimsel toplantının adı, yapıldığı tarih, kitapçığın basıldığı yayın evi, sayfa numarası, toplantının yapıldığı yer ve yıl (yıl parantez içinde). İki satır olduğunda ikinci satır asılı olacaktır.

Aktaş S., Öztürk C., Kaşık G., Doğan H.H., Demirel G., *Köprülü Kanyon Milli Parkında (Antalya) Belirlenen Makrofunguslar*, XVIII. Ulusal Biyoloji Kongresi, 26-30 Haziran 2006, Nobel Yayın Dağıtım, s.12-13,Kuşadası-Aydın(2006).

Tablo ve şekiller: Tablo bulundurmayan bütün görüntüler (fotoğraf, çizim, grafikler, harita vb.) şekil olarak isimlendirilmelidir. Bütün şekil ve tablolar metin içinde ardışık olarak numaralandırılmalıdır. Tablo ve şekillerin boyutları 14-20 cm.' den büyük olmamalıdır. Şekiller mutlaka orijinal olmalıdır. Fotoğraflar en az 600dpi çözünürlükte olmalı veya taranmış olmalıdır. Şekiller mutlaka ana makaleden ayrı olarak "jpeg" dosyası olarak gönderilmelidir. Şekillerde el yazısı kullanılmamalı, bilgisayar yazılımı olmalıdır. Şekil ismi şekillerin altına, tablo ismi tablonun üstüne yazılmalıdır. Tablo üstü ve şekil altı yazıları 10 punto olmalıdır.

Eserler " <http://dergipark.ulakbim.gov.tr/mantar/>" adresinden online olarak gönderilir.

Belirtilmeyen konular bilimsel kurallara uygun olmalıdır.

İletişim Adresi:

S.Ü. Mantarcılık Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğü

Mantar Dergisi Editörlüğü

Fen Fakültesi Binası A Blok Zemin Kat

42079 Kampüs/KONYA E-posta: mantarcilik@gmail.com

Web Sayfası: <http://mantarcilik.selcuk.edu.tr/> / <http://dergipark.ulakbim.gov.tr/mantar/>



MANTAR DERGİSİ

TELİF HAKKI DEVRİ

Selçuk Üniv. Mantarcılık Uygulama
Ve Araştırma Merkezi Müdürlüğü
42031, Kampüs, KONYA
mantarcilik@gmail.com

Dergi Adı: *MANTAR DERGİSİ* (The Journal of Fungus) e-ISSN 2147-6845

Makalenin Adı :

SORUMLU YAZARIN;

Adı ve Adresi :

Telefon Numaraları

İş : Cep : E-posta : Fax :

Yazar(lar):

- Sunulan makalenin yazar(lar)ın orijinal çalışması olduğunu,
- Tüm yazarların bu çalışmaya bireysel olarak katılmış olduklarını ve bu çalışma için her türlü sorumluluğu aldıklarını,
- Tüm yazarların sunulan makalenin son halini gördüklerini ve onayladıklarını,
- Makalenin başka bir yerde basılmadığını veya basılmak için sunulmadığını,
- Makalede bulunan metnin, şekillerin ve dokümanların diğer şahıslara ait olan Telif Haklarını ihlal etmediğini taahhüt ederler.

Buna rağmen yazarların veya varsa yazarların işvereninin;

- Patent hakları,
- Yazar(lar)ın gelecekte kitaplarında veya diğer çalışmalarında makalenin tümünü ücret ödemeksizin kullanma hakkı,
- Makaleyi satmamak koşuluyla kendi amaçları için çoğaltma hakkı gibi fikri mülkiyet hakları saklıdır. Bununla beraber yazar(lar) makaleyi çoğaltma, postayla veya elektronik yolla dağıtma hakkına sahiptir.

Makalenin herhangi bir bölümünün başka bir yayında kullanılmasına **S. Ü. MANTARCILIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ MÜDÜRLÜĞÜ** yayımcı kuruluş olarak belirtilmesi ve Bilimsel Dergiye atıfta bulunulması şartıyla izin verilir. Atıf yapılırken Dergi Adı, Makale Adı, Yazar(lar)ın Adı, Soyadı, Cilt No, Sayı No ve Yıl verilmelidir. Yayımlanan veya Yayına kabul edilmeyen makalelerle ilgili dökümanlar (fotoğraf, orijinal şekil v.b.) karar tarihinden başlamak üzere bir yıl süreyle **S. Ü. Mantarcılık Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğü** tarafından saklanır ve bu sürenin sonunda imha edilir. Ben/Biz, telif hakkı ihlali nedeniyle üçüncü şahıslarla istenecek hak talebi veya açılacak davalarda **S. Ü. Mantarcılık Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğü** ve Bilimsel Dergi Editörleri'nin hiçbir sorumluluğunun olmadığını, tüm sorumluluğun yazarlara ait olduğunu taahhüt ederim/ederiz. Ayrıca Ben/Biz makalede hiçbir suç unsuru veya kanuna aykırı ifade bulunmadığını, araştırma yapılırken kanuna aykırı herhangi bir malzeme ve yöntem kullanmadığını taahhüt ederim/ederiz. Telif Hakkı Devri Formu tüm yazarlarca imzalanmalıdır. Değişik kuruluşlarda görev yapan yazarlar Telif Hakkı Devri Formu'nda Dergi Adı, Makale Adı ve Yazar Adları bölümleri doldurulmak şartıyla ayrı ayrı imzalayarak sunabilirler. Buna rağmen tüm imzalar orijinal olmalıdır.

| | |
|-----------------------------------|-----------------------------------|
| İmza..... Tarih..... İsim..... | İmza..... Tarih..... İsim..... |
| İmza..... Tarih..... İsim..... | İmza..... Tarih..... İsim..... |
| İmza..... Tarih..... İsim..... | İmza..... Tarih..... İsim..... |



Principles of Articles

THE JOURNAL OF FUNGUS(e-ISSN-2147-6845) is published by SELÇUK UNIVERSITY MYCOLOGICAL APPLICATION RESEARCH CENTER. The journal, which is a peer-reviewed journal, publishes original research and review articles. The journal includes national or international research of results with respect to the field of mycology.

Journal articles submitted for publication, after deciding for the eligibility in terms of issues to be published in the journal by the editors, articles will be sent to relevant expertise in the field of scientific referees for evaluation. Editorial Board decides whether it can be published or not in accordance with the referees decides and suggestions. Galley Proof of the articles which is accepted for the publication is sent to the authors then final inspection is done. The language of the journal is in Turkish and English.

Copyright Release Form on our website which must be signed by all authors and must be sent via post to the correspondence address. If this form is not signed by all authors, the article will not be processed. All signatures must be original.

To start the process of the Articles as soon as possible; Article and signed **Copyright Release Form** should be sent to mantarcilik@gmail.com address as attachments via e-mail.

Articles preparation Rules

The article which will be accompanied with the **Copyright Release Form**, must be 1.5 spaced in A4 size, 3 cm each margins, 10 font size and in Arial text character. Articles should be written in Word 2003 or higher. Sections of the article should be respectively like this:

For Article in Turkish

Turkish title, Name(s) of author(s) and their addresses, Turkish abstract, Turkish key words, English title, English abstract, Key words, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, References.

For Article in English

English title, Name(s) of author(s) and their addresses, English abstract, Key words, Turkish title, Turkish abstract, Turkish key words, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, References.

If necessary, authors may use sub-titles. The title of each section should be written in bold and the initial letters should be written big on title. All the scientific names should be italicized in the text, if it take part in the title should be both bold and italic. Genus and species names must first be supplied with the authors in their place. Then other place names should be used only species names. Should be a blank line between sections.

Title: Title of Turkish articles should be 14 points. English title should be 12 points. Initial letters and surname of the author's name must be greater. Address should be written under the name of the author. E-mail address of corresponding author must be given. Academic qualifications are not included in the article.

Key words: Should consist of 4-10 words.

Introduction: Research topic as much as possible should be short and concise. The aim of the study should also be indicated.

References: References in the text must be written in parentheses (name, date). References section should be written as 9 points in alphabetical order. Names of books, articles and announcements initial letters should be big and all of them should be italicized. Master's theses are not shown as a reference. Reference should be written according to the following order.

For Article: Author's surname, first name initial, article title, journal name, volume number and page number, year of publication (year in parentheses)

Aktaş S., Kaşık G., Doğan H.H., Öztürk C., *Two New Taxa Records for the Macrofungi of Turkey*, Tr.J.of Botany, 30 (4) 209-212 (2006).

For Books: Author's surname, first name initial, the title of the book, publisher, and year of publication of the book (years in parentheses)

Kaşık G., Öztürk C., Doğan H.H., Aktaş S., Demirel G., *Mikoloji Laboratuvarı*, Marifet Ofset Matbaa ve Kağıtçılık, Konya(2005).

For Congress Book: Author's surname, first name initial, the article name, the name of scientific meetings, the date, publishing house, page number, meeting place and year (year in parentheses)

Aktaş S., Öztürk C., Kaşık G., Doğan H.H., Demirel G., *Köprülü Kanyon Milli Parkında (Antalya) Belirlenen Makrofunguslar*, XVIII. Ulusal Biyoloji Kongresi, 26-30 Haziran 2006, Nobel Yayın Dağıtım, s.12-13,Kuşadası-Aydın (2006).

Tables and figures: All images (photographs, drawings, graphs, maps, etc..) should be named as figure. All figures and tables should be numbered consecutively in the text. The sizes of tables and figures 14-20 cm should not be greater than. Figures must be original. Photos must be at least 600 dpi resolution or must be scanned. Handwritten forms should not be used on figures. Figure name should be written under figure and should be 9 points. Table name should be written on top of the table and should be 9 points.

Correspondence Address:

S.Ü. Mantarcılık Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğü

Mantar Dergisi Editörlüğü

Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, 42079 Kampüs/KONYA

Faks: 0 332 2410549, E-posta: mantarcilik@gmail.com

Web Sayfası: <http://mantarcilik.selcuk.edu.tr>



İÇİNDEKİLER (CONTENTS) Devamı

- Molecular Identification and Phylogeny of Some *Hypocreales* Members Isolated from Agricultural Soils.....137
Tarımsal Topraklardan İzole Edilen Bazı Hypocreales Üyelerinin Moleküler Teşhisi ve Filogenisi
Rasime DEMİREL
- Bitki Patojeni Funguslarda Virülans Faktörleri.....143
Virulence Factors in Plant Pathogen Fungi
Özlem Abacı GÜNYAR
- Increasing of Laccase and Manganese Peroxidase Activity By Co-Culture of Immobilized *Pleurotus ostreatus* and *Lentinus tigrinus* Mycelia.....152
Immobilize Pleurotus ostreatus ve Lentinus tigrinus Misellerinin Birlikte Kültürü ile Lakkaz ve Mangan Peroksidaz Enzim Aktivitelerinin Arttırılması
Selen Seyide UZAR, Ayşe Betül KARADUMAN, Mustafa YAMAÇ
- A Hypogeous *Lactarius* sp., New to Turkish Mycobiota.....163
Türkiye Mikobiyotası İçin Yeni Bir Toprakaltı Lactarius Türü
Yasin UZUN, Abdullah KAYA
- Four New Records of Basidiomycota for the Turkish Mycota From Trabzon and İstanbul Provinces168
Türkiye Mikotası İçin Trabzon ve İstanbul İllerinden Dört Yeni Bazidiyomikota Kaydı
İlgaz AKATA, Ertuğrul SESLİ
- Mineral Contents of Some Wild Edible Mushrooms.....178
Bazı Yenilebilir Yabani Mantarların Mineral İçerikleri
Abdullah KAYA, Fevzi KILIÇEL, Hacer Sibel KARAPINAR, Yasin UZUN

İÇİNDEKİLER (CONTENTS)

- Macrofungual Diversity of Yalova Province76
Yalova İlinin Makrofungus Çeşitliliği
Hakan ALLI, Selime Semra CANDAR, Ilgaz AKATA
- Entoloma majaloides* (Entolomataceae): Türkiye Mikotası İçin Yeni Bir Kayıt.....85
Entoloma majaloides (Entolomataceae): A New Record for the Turkish Mycota
Ertuğrul SESLI, Ayşegül TOPCU SESLI
- Kültüre Alınmış *Lentinula edodes*'in Metanol Ekstraktının
Antioksidan ve *In Vitro* Bazı Enzim İnhibitör Aktiviteleri.....90
Antioxidant and In Vitro Some Enzyme Inhibitory Activities
of Methanolic Extract of Cultivated Lentinula edodes
Sinan ALKAN, Haluk ÖZPARLAK, Gökhan ZENGİN, Gıyasettin KAŞIK
- Two New Records for Turkey:
Ophiobolus erythrosporus and *Leptosphaeria modesta*.....99
Türkiye İçin İki Yeni Kayıt: Ophiobolus erythrosporus ve Leptosphaeria modesta
Makbule ERDOĞDU, Gökhan DOĞAN
- Bovista plumbea* Pers.'nin Yağ Asiti İçeriklerinin İncelenmesi.....104
Determination of Fatty Acid Contents of Bovista plumbea Pers.
Fatih DURMAZ, Sinan AKTAŞ, Ela Nur ŞİMŞEK SEZER
- Evlerde Kullanılan Buzdolaplarının İç Ortamında
Havayla Taşınan Fungusların Biyoçeşitliliği.....109
Biodiversity of Airborne Fungi in the Indoor Environment of Refrigerators Used in Houses
Soner OZDIL, Ahmet ASAN, Burhan SEN, Suzan OKTEN
- An Interesting Half-Free Morel Record for Turkish Mycobiota
(*Morchella populiphila* M. Kuo, M.C. Carter & J.D. Moore).....125
Türkiye Mikobiyotası İçin İlginç Bir Yarı-Serbest Morel Kaydı
(*Morchella populiphila* M. Kuo, M.C. Carter & J.D. Moore)
İsmail ACAR, Yusuf UZUN
- Selçuk Üniversitesi Alaeddin Keykubat Kampüsü
(Konya) Makromantarlarına İlaveler.....129
Additions to the Macrofungi of Selçuk University Alaeddin Keykubat Campus (Konya)
Gıyasettin KAŞIK, Sinan AKTAŞ, Sinan ALKAN, Celaeddin ÖZTÜRK

Devamı iç kapakta



Ekim 2017

Cilt:8

Sayı:2

e-ISSN 2147-6845

E-DERGİ

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

MANTARCILIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ-KONYA-TÜRKİYE