

e-ISSN:2147-6845

E-JOURNAL

April 2018 Volume:9 Issue:1



Selçuk University Mushroom Application and
Research Center-KONYA-TURKEY

JOURNAL OF FUNGUS



Selçuk Üniversitesi
Mantarcılık
Uygulama ve Araştırma Merkezi
KONYA-TÜRKİYE



MANTAR DERGİSİ

E-DERGİ/ e-ISSN:2147-6845

Nisan 2018

Cilt:9

Sayı:1



e-ISSN 2147-6845
Nisan 2018 / Cilt:9 / Sayı:1
April 2018 / Volume:9 / Issue:1

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
MANTARCILIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ MÜDÜRLÜĞÜ

ADINA SAHİBİ

PROF.DR. GIYASETTİN KAŞIK

YAZI İŞLERİ MÜDÜRÜ
ÖĞR.GÖR.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 2233998/ Fax: (+90)0 332 241 24 94

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

E-Posta: mantarcilik@gmail.com

Yayın Tarihi/Publication Date
25/04/2018

İDARİ YAYIN KURULU
(Merkez Yönetim Kurulu)
Prof.Dr. Gıyasettin KAŞIK
Prof.Dr. Celaleddin ÖZTÜRK
Prof.Dr. Hasan Hüseyin DOĞAN
Dr. Öğr. Üyesi Sinan AKTAŞ
Dr. Öğr. Üyesi Gönül EROĞLU



e-ISSN 2147-6845
Nisan 2018 / Cilt:9 / Sayı:1
April 2018 / Volume:9 / Issue:1

EDİTÖRLER KURULU / EDITORIAL BOARD

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



e-ISSN 2147-6845
Nisan 2018 / Cilt:9 / Sayı:1
April 2018 / Volume:9 / Issue:1

Bu sayımızda yer alan eserler hakkında aşağıda isimleri yazılı hakemlerimize yaptıkları değerlendirmeler için teşekkür ederiz.

Prof.Dr. Abdullah KAYA
Prof.Dr. Ahmet ASAN
Prof.Dr. Ahmet BALKAYA
Prof.Dr. Ayşen TÜRK
Prof.Dr. Celaleddin ÖZTÜRK
Prof.Dr. Devrim DÜNDAR
Prof.Dr. Ertuğrul SESLİ
Prof.Dr. Hacı Halil BIYIK
Prof.Dr. Hasan Hüseyin DOĞAN
Prof.Dr. Hasan YIDIRIM
Prof.Dr. Gökalp Özmen GÜLER
Prof.Dr. Yusuf DURAK
Prof.Dr. Yusuf UZUN
Doç.Dr. Ahmet UYSAL
Doç.Dr. Bahadır ÖZTÜRK
Doç.Dr. Ilgaz AKATA
Doç.Dr. Mehmet CANDAN
Doç.Dr. Kadir KINALIOĞLU
Dr. Öğr. Üyesi Hakan ALLI
Dr. Öğr. Üyesi İskender KARALTI
Dr. Öğr. Üyesi İsmail ACAR
Dr. Öğr. Üyesi Sinan AKTAŞ
Dr. Öğr. Üyesi Fatma Nur ARSLAN
Öğr. Gör. Dr. Sinan ALKAN



e-ISSN 2147-6845
Nisan 2018 / Cilt:9 / Sayı:1
April 2018 / Volume:9 / Issue:1

İÇİNDEKİLER/ CONTENTS

- Saf Kültür Olarak Stoklanmış Bazı Mikrofungusların ITS, B-Tubulin ve Aktin Gen Dizilerine Göre Moleküler Tanısı..... 1
Molecular Based Identification of Some Stocked Microfungi as Pure Culture According to ITS, Beta-Tubulin and Actin Genes
Elçin TUNEY, Ahmet ASAN, Burhan ŞEN
-
- Cortinarius* ve *Lyophyllum* Cinslerine Ait Yeni Kayıtlar..... 18
New Records Belong to *Cortinarius* and *Lyophyllum* Genera
Ertuğrul SESLİ
-
- Marasmiellus vaillantii* (Pers.) Singer (*Omphalotaceae*), Türkiye Mikotası İçin Yeni Bir Kayıt..... 24
Marasmiellus vaillantii (Pers.) Singer (*Omphalotaceae*), Türkiye Mikotası İçin Yeni Bir Kayıt
Yasin UZUN, Abdullah KAYA
-
- High-Throughput Genomic Simple Sequence Repeat (SSR) Marker Development and Construction of A High Resolution Physical Map in Button Mushroom (*Agaricus bisporus*) Genome..... 28
Kültür Mantarı (*Agaricus Bisporus*) Genomuna Özel Yüksek Miktarda Basit Dizi Tekrarı (SSR) Markörünün Geliştirilmesi ve Yüksek Çözünürlükte Fiziksel Genom Haritasının Oluşturulması
Ali Tefik UNCU, Ayşe Özgür UNCU
-
- A New Genus Record for Turkish Clathroid Fungi.....36
Türkiye Clathroid Mantarları İçin Yeni Bir Cins Kaydı
İlgaz AKATA, Cem Tolga GÜRKANLI
-
- Lichenized and Lichenicolous Fungi Records From Kazdağı (Balıkesir, Turkey)39
Kazdağı'ndan (Balıkesir, Türkiye) Likenleşmiş ve Likenikol Mantar Kayıtları
Seyhan ORAN, Gülşah ÖZYİĞİTOĞLU, Şule ÖZTÜRK
-
- Yenilebilir Bir Tür Olan *Lycoperdon utriformis*'in Serbest Yağ Asiti Miktarlarının GC (Gaz Kromatografisi)'de Tayin Edilmesi..... 50
Determination of the Fatty Acid Compositions in Edible Species *Lycoperdon utriformis* by Gas Chromatography (GC)
Fatih DURMAZ, Ela Nur ŞİMŞEK SEZER, Sinan AKTAŞ
-
- A New Record for Turkish Mycota From Tokat Province: *Arachnopeziza aurelia* (Pers.) Fuckel.. 54
Tokat Yöresinden Yeni Askomiset Fungus Kaydı: *Arachnopeziza aurelia* (Pers.) Fuckel
Hakan IŞIK, İbrahim TÜRKEKUL
-
- CCl₄ İle Oksidatif Stres Oluşturulan Sıçanlarda *Pholiota aurivella* Liyofilize Ekstrenin Bazı Biyokimyasal ve Hematolojik Parametrelere Etkisi..... 58
Effect of *Pholiota aurivella* Lyophilized Extract On Some Biochemical and Hematological Parameters Against CCl₄-Induced Oxidative Stress in Rats
Abdulahad DOĞAN
-
- Flukonazol..... 67
Fluconazole
Selim ÖNCEL, Sema Aşkın KEÇELİ
-
- Bir üniversite hastanesinde idrar kültüründe üreyen *Candida* türlerinin retrospektif olarak değerlendirilmesi.....76
Retrospective evaluation of *Candida* Species Isolated From Urine in A University Hospital
İskender KARALTI
-
- Farklı Dozlarda Uygulanan Sitokininin Beyaz Şapkalı Mantarın (*Agaricus bisporus*) Muhafazası Üzerine Etkisi..... 80
The Effect of Various Cytokinin Doses on Storage of White Button Mushrooms (*Agaricus bisporus*)
Gül GÖKÇENAY, Şeyda ÇAVUŞOĞLU



Geliş(Received) :27/02/2017
Kabul(Accepted) :06/12/2017

Araştırma Makalesi
DOI:10.30708/mantar.295146

Saf Kültür Olarak Stoklanmış Bazı Mikrofungusların ITS, Beta-tubulin ve Aktin Gen Dizilerine Göre Moleküler Tanısı

Elçin TUNEY¹, Ahmet ASAN*², Burhan ŞEN²

*Sorumlu yazar: ahmetasan84@gmail.com

¹Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dalı, Edirne

²Trakya Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Edirne

Öz: Bu çalışmada, Trakya Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji laboratuvarında saf kültür olarak stoklanmış bununla beraber; cins veya tür düzeyinde morfolojik olarak teşhis edilemeyen bazı mikrofunguslar moleküler olarak tanımlanmıştır. Çalışmada kullanılan mikrofunguslar daha önce tür düzeyinde morfolojik olarak tanımlanamamış izolatlardan oluşmuştur. Örnekler, MEA besiyerine ekilip 25°C'de 7 gün inkübe edilmiştir. Besiyerinden alınan örnekler, analiz yapılabildiği kadar -20°C'de saklanmıştır. DNA izolasyonu için funguslara özel, kimyasal (SDS ve CTAB), biyokimyasal (proteinazK vb.) ve fiziksel (0.1 mm çaplı boncuklar) parçalama yöntemlerini bir arada kullanan DNA izolasyon kitleri kullanılmıştır. Çeşitlilik çalışmaları, PCR tabanlı fungal çeşitlilik çalışma kitleri ile yapılmıştır. Tüm izolatlar için ITS gen dizisi kullanılmış, cinse bağlı olarak β -tubulin ve Aktin gen dizilimlerini hedeflenmiştir. PCR ile çoğaltılan DNA dizilimleri "Sanger Sequencing Yöntemi" ile dizilenmiştir. Elde edilen dizilerin hangi organizmalara ait olduğu NCBI ve EBI gibi uluslararası nükleik asit data bankalarında mevcut dizilimlerle, elde edilen filotiplerin dizilimleri karşılaştırılarak belirlenmiştir. Toplam 61 mikrofungus örneği, cins düzeyinde 3 gruba (A,B,C) ayrılmış olup, gruplara göre ilgili gen bölgeleri moleküler teşhis için analiz edilmiştir. 3 grup için hem ilgili gen bölgeleri hem de ITS bölgeleri baz alınarak yapılan moleküler analizler sonucunda, 6 örneğin tür teşhisi yapılamamış, 56 tür moleküler düzeyde teşhis edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Beta-tubulin gen dizisi, Aktin gen dizisi, ITS gen dizisi, PCR, sekans yöntemleri, mikrofungusların moleküler teşhisi

Molecular Based Identification of Some Stocked Microfungi as pure culture according to ITS, Beta-tubulin and Actin Genes

Abstract: Some microfungi deposited in laboratory as pure culture and unidentified morphologically as genus or species level and these fungi were identified by molecular methods in study. The used microfungi were comprised unidentified species and can not be identify as colonially and morphologically previously. We used ITS gene for all isolates, also according to the genus we used beta-tubulin and actin genes targeting PCR based fungal biodiversity working kits. DNA sequences were sequenced by Sanger Method, and obtained sequences were analysed as bioinformatics and completed filogenetically analysis. Then samples inoculated to MEA at 25°C for 7 days. All samples obtained from MEA media were preserved at -20°C until analysis. For DNA isolation were used the spesific kits, using together digestion method such as chemical (SDS and CTAB), biochemical (proteinaseK etc.) and physical (beat with 0.1 mm diameter) were used for DNA isolation. DNA's maintained in silica colones. In the last stage of isolation, nucleic acides were dissolved in the water DNase/Pyrogen free. After that, sequence series analysed on spectrophotometer and so determined, purity of DNA. Studies of diversity is made with PCR based fungal biodiversity working kits. After the PCR application, DNA series sequenced using by "Sanger-Sequencing Protocol". Sequence series found that belong to which organisms on NCBI and EBI. After that, phlotypes were compared with similar organisms. A total of 61 Microfungi samples , the genus level 3 groups (A, B, C) is divided , according to group related gene regions were analyzed for molecular diagnostics. Both gene regions related to 3 groups based on the results of molecular analyzes of ITS , 6 species diagnosis has not been made , for example , 56 species have been identified at the molecular level .

Key words: Beta-tubulin region, Aktin region, ITS region, PCR, sequencing methods, identification of microfungi



Giriş

Mikrofungusların tanısı, uzun süre üreme yapıları temellenmiş, morfolojik ve koloniyal özellikler önemli taksonomik kriterler olarak ele alınmıştır. Fosil kayıtların yetersizliği, fungal gruplar arasındaki filogenetik ilişkilerin kurulmasını zorlaştırmaktadır. Bu nedenle fungal sistematik çok uzun süre (hatta halen), yaşamakta olan fungusların fenotipik özellikleri (*üreme yapıları, morfolojileri, spor şekilleri, koloniyal özellikler*) üzerine kurulmuştur. Özellikle eşeyssel üreme yapıları taksonomide çok önemlidir ancak her fungus eşeyli olarak ürememektedir. Bu nedenle fungal taksonomide genellikle tartışmalı bir durum olagelmıştır. Ancak özellikle 1983'de Kary MULLIS tarafından PCR'in keşfedilmesiyle birlikte (Wessner ve Ark., 2013), funguslarla ilgili moleküler çalışmalar inanılmaz bir hız kazanmış ve fungal taksonomi ile ilgili son derece önemli yeni bilgiler ortaya çıkmıştır. Levetin (2016)'e göre 1995-2015 yılları arasındaki 20 yılda, DNA sekanslamasıyla 8 fungal filum ile ilgili çözüm üretilmiştir, bunlardan üçü, önemli aeroellerjenler içeren Zygomycota, Ascomycota ve Basidiomycotadır ve sonuçta Deuteromycetes iptal edilmiş, yapışkan küfler (Myxomycetes) ve su küfleri (Oomycetes) gibi fungus benzeri organizmalar diğer alemlere aktarılmıştır. Moleküler çalışmalar, fungal taksonomik sorunları % 100 çözmekle birlikte çok önemli katkılar yapmıştır. Bu çalışmalar sonucunda yeni taksonlar (filum, genus, v.s.) önerilmektedir. Fungal moleküler çalışmalarda ITS bölgesi fungusların tanısı için önemli bir bölge olmasına rağmen, bazen tanı için yeterli olmamakta ve başka gen bölgelerinin çalışılmasına ihtiyaç duyulabilmektedir. Bu çalışmada, laboratuvar ortamında saf kültür olarak stoklanmış bazı mikrofungusların ITS, Beta-tubulin ve Actin gen dizilerine göre moleküler tanısının yapılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Araştırma materyali, Edirne ev içi ortamından izole edilmiş ve Trakya Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji laboratuvarında saf kültür olarak stoklanmış bazı mikrofunguslardır. Bununla beraber mikrofungus örnekleri ilgili gen bölgelerine göre 3 gruba ayrılmıştır. A grubunu oluşturan mikrofungus örnekleri 23 adet, B grubunu oluşturan mikrofungus örnekleri 35 adet, C grubunu oluşturan mikrofungus örnekleri ise 5 adettir. Toplam örnek sayısı 61 adettir. A grubu mikrofungus örneklerinin moleküler teşhisi için "actin" gen bölgesine, B grubu mikrofungus örneklerinin moleküler teşhisi için "beta-tubulin" gen bölgesine, C grubu mikrofungus örneklerinin moleküler teşhisi için ise hem "actin" hem

"beta-tubulin" gen bölgelerine bakılmış aynı zamanda her üç grup için de ITS gen bölgesine bakılmıştır.

Mikrofungusların Moleküler Tanısı

Toplam 61 mikrofungus örneği için ilk aşama olarak DNA izolasyonu yapılmıştır, ardından Q-PCR ile actin ve beta-tubulin gen bölgelerine özgü primerlerle beraber örnekler çoğaltılmıştır.

Moleküler tanı için son aşama olarak da, dizi analizi ve filogenetik analiz yapılmıştır.

DNA İzolasyonu

DNA İzolasyonu için Biospeedy DNA İzolasyon Kiti (Bioeksen, Türkiye) kullanılmıştır. Kit protokolü şu şekildedir; Bir mikrofuj tüpüne 400 µl Guanidinium thiocyanate (0.1 M Tris; pH 7.5) eklenmiş, daha sonra katı besi yerinden alınan fungi kolonileri kolonisi tamponun içine bırakılmıştır. Numune vorteksle 1 dk 3000 RPM'de karıştırılmıştır ve daha sonra 95°C'de 10 dk inkübe edilmiştir. Numune vorteksle 1 dk 3000 rpm karıştırıldıktan sonra tüp 14000 RPM'de 1 dk santrifüj edilmiş ve elde edilen üst sıvı yeni bir tüpe transfer edilmiştir. Elde edilen üst sıvıya 200 µl isopropanol eklenmiş, iyice karıştırılmıştır. Karışım DNA Kolonu'na eklenmiş, 1-2 dk beklenmiş ve 12000 RPM de 1 dk santrifüj edildikten sonra alt sıvı atılmıştır. Kolona 500 µl Yıkama Tamponu (20 mM NaCl, 2 mM Tris-HCl, pH 7.5; 80% v/v Ethanol) eklenmiş, 12000 RPM de 1 dk santrifüj edilmiş ve alt sıvı atılmıştır. Bu adım iki defa daha tekrarlanmıştır. Kolon 12000 RPM de 1 dk boş santrifüj edildikten sonra steril yeni bir mikrosantrifüj tüpe yerleştirilmiş, 100 µl Çözücü Tampon eklenmiş, 1 dk oda sıcaklığında inkübe edilmiş, 14000 RPM de 1 dk santrifüj edilmiş ve DNA izolatu elde edilmiştir. Elde edilen DNA -20°C'de saklanmıştır.

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

Q-PCR için Biospeedy Fungal Çeşitlilik Çalışma Kiti (Bioeksen, Türkiye) kullanılmıştır. Kit fungal 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 forward 5' TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3' ve reverse 5'- GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAG G-3' primerlerini, β-tubulin genini hedefleyen forward 5'-TGG GCY AAG GGT YAY TAY AC-3' ve reverse 5'-GGR ATC CAY TCR ACR AA-3' primerlerini ve aktin genini hedefleyen 5'-TGG GAY GAY ATG GAN AAN ATH TGG CA-3' ve reverse 5' TCN TCG TAT NCT NGC TNN GAN ATC CAC AT-3' primerlerini içermektedir.



Bütün reaksiyonlarda Biorad CFX Connect (Bio-Rad Laboratories, Amerika) kullanılmıştır. Reaksiyon 1.5 mM MgCl₂, 0.2 mM dNTP mix, 1x Reaksiyon Tamponu, 0.1U Fast Start Taq DNA Polimeraz, 1x EvaGreen, 4 ng/μl kalıp DNA ve her bir primerden 0.5 μM içermektedir. Cihazda, primer çiftine özgü optimizasyonu

sağlanmış Tablo 1'de verilen ısı döngüsü programı uygulanmıştır. Q-PCR sırasında sadece istenilen ürünün çoğaltıldığını belirlemek için 65°C - 98°C arasında erime eğrisi analizi yapılmıştır. Q-PCR dataları CFX Manager Software 3.0'da analiz edilmiştir.

Tablo 1. PCR şartları

Tespit Formatı		Reaksiyon Hacmi		
SYBR Green		20 μl		
Programlar				
Program İsmi	Döngü Sayısı	Analiz Modu		
Ön-İnkübasyon	1			
Çoğalma	45	Sayım		
Erime Eğrisi	1	Erime Eğrisi		
Soğuma	1			
Sıcaklık Hedefleri				
Hedef (°C)	Okuma Modu	Bekletme (hh:mm:ss)	Hız (°C/s)	Okuma (°C başına)
<i>Ön İnkübasyon</i>				
95		00:10:00	4,8	–
<i>Çoğalma</i>				
95		00:00:15	4,8	–
53		00:00:15	2,5	–
72	Tek	00:00:30	4,8	–
<i>Erime Eğrisi</i>				
95		00:00:05	–	–
65		00:01:00	–	–
98	Sürekli	–	0.5	10
<i>Soğuma</i>				
40	Tek	00:00:30	2,5	–



Dizi Analizi ve Filogenetik Analiz

İlgili genlerden 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.

Dizi analizi ileri primerler kullanılarak, tek yönlü gerçekleştirilmiştir. Elde edilen diziler 4peaks yazılımı (<http://nucleobytes.com/index.php/4peaks>) ile analiz edilmiştir. Dizilerin DNA Data bankasında en çok benzer olduğu diziler NCBI BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>) programı kullanılarak belirlenmiştir.

PCR

PCR 1 döngü 10 dakika 95°C; 45 döngü 15 saniye 95°C, 15 saniye 53°C ve 30 saniye 72°C koşullarında gerçekleştirilmiştir. 72°C inkübasyon adımı sonunda SYBR Green tespit formatında her kuyucukta floresan ışığa okunmuştur. Q-PCR sırasında sadece istenilen ürünün çoğaltıldığını belirlemek için 65°C - 98°C arasında, 0.5 °C/s rampa hızıyla sıcaklık artırılıp sürekli SYBR Green tespit formatında okuma yapılarak erime eğrisi analizi yapılmıştır.

Sonuçlar

Toplam 61 mikrofungus örneğinin moleküler tanısı için yapılan DNA izolasyonu, Q-PCR ile örneklerin çoğaltılması, dizi analizi ve filogenetik analizler sonucunda ortaya çıkan mikrofungusların "Actin ve ITS" gen bölgelerine göre "Maksimum Identification" ları baz alınarak, tür karşılaştırılması yapılmış ve Tablo 2'de gösterilmiştir. Aynı şekilde "Beta-tubulin ve ITS" gen bölgelerine göre yine "Maksimum Identification" baz alınarak mikrofungus türlerinin karşılaştırılması yapılmış ve tabloda gösterilmiştir (Tablo 3). Karşılaştırma tablosunun ardından, mikrofungus türlerinin akrabalık düzeyini belirtmek ve incelemek amaçlı filogenetik ağaçlar çizilmiştir. Fungal cinslerin ilgili fen bölgeleri göz önüne alınarak çizilen filogenetik ağaçlar, Şekil 1-7 arasında belirtilmiştir.

Tartışma

Moleküler tanımlama yöntemleri, gelişmekte olan teknolojinin mikrobiyoloji alanında sunduğu en önemli yeniliklerden biridir. Moleküler tanımlama tekniklerine her geçen gün bir yenisinin daha eklenmesi, farklı amaçlarla yürütülen bilimsel çalışmalara büyük kolaylıklar

sağlamaktadır (Abacı ve Haliki, 2005; Bridge ve Arora, 1998). PCR, moleküler biyolojide geniş uygulama alanı ile güçlü bir yöntem olup, bu sayede her bir diziyi klonlayabilme, analiz ve modifiye edebilme ve hatta nadir dizileri bile saptayabilmeyi sağlamıştır. Bu nedenle PCR; fungal genetik, toprak mikrobiyolojisi, medikal mikoloji, biyoteknoloji gibi mikolojinin pek çok ayrı dalında geniş uygulamaları kullanılmaktadır. PCR amplifikasyonu DNA dizisine dayalı bilgiler sağladığından, bugüne kadar fenotipik olarak tanımlanmış türlerin doğrulamasını yapmıştır (Takamatsu, 1998). PCR, hassasiyeti ve spesifikliği nedeniyle fungusların tanısında sıklıkla kullanılmaktadır. Fungusların ayırımı için PCR temelli analiz yöntemleri, spesifik primerlerin dizayn edilmesini gerekli kılmıştır. Bununla beraber, en azından hedef DNA bölgesinin bir kısmının bilinmesi gereklidir ki, bu durum hedef genin seçimini sağlayacağından PCR bazlı analizler için oldukça anlamlı olacaktır (Manian ve Ark., 2001).

rRNA dizileri, yaşayan tüm hücrelerde bulunduğu ve aynı görevi üstlendiğinden, taksonomik ve filogenetik çalışmalar için sıklıkla kullanılmaktadır. Bu dizilerin evriminin; tüm genomun evrimini yansıttığı söylenebildiği gibi aynı zamanda farklılık gösteren ve korunmuş bölgeler de içermektedirler. Bu sayede farklı taksonomik gruplarda bulunan organizmaların karşılaştırma ve ayırımlarında kullanılmaktadır. Funguslarda nuklear rDNA, arka arkaya tekrar eden rDNA alt birimleri olarak organize olmuşlardır. Birinci alt birim küçük nuklear 18S rRNA, 5,8S rRNA ve büyük nuklear 28S rRNA genlerini içermektedir. Birinci alt birimde genler ITS1 (internal transcribed spacer) ve ITS2 ile ayrılmıştır ve iki alt birim IGS (intergenic spacer) ile ayrılmıştır. Son rRNA geni (5S) fungal taksona bağlı olarak, tekrarlanmış alt birimler ile birlikte olabilir veya olmayabilir. 18S rDNA, nispeten yavaş evrim geçirir ve uzak akraba organizmaların karşılaştırılmasında kullanılmaktadır. Kodlama yapmayan (ITS ve IGS) bölgeleri daha hızlı evrim geçirir ve bir genustaki fungal türlerin veya bir türdeki suşların karşılaştırılması için kullanılmaktadır. 28S rDNA'nın bazı bölgeleri türler arasında farklılık göstermektedir (Edel, 1998). Tanısal PCR'ın spesifikliğinde amplifikasyon için uygun hedef dizinin belirlenmesi gerekmektedir. Spesifiklik, farklı genuslar veya türlerin DNA dizileri ile hedef dizi arasındaki homolojinin derecesi ile belirlenmektedir.



Tablo 2. Mikrofungusların Actin ve ITS gen bölgelerine göre karşılaştırılması

Kod	Tür/ITS	Tür Accession Number	Eşleşen Tür	Tür Eşleşme Oranı (MI)	Eşleşen Tür Accession Number
A1	<i>Alternaria alternata</i>	KY921915	<i>Alternaria Alternata</i>	557/559(99%)	KC139494.1
A2	<i>Alternaria alternata</i>	KY921916	<i>Alternaria Alternata</i>	552/559(99%)	KJ739880.1
A3	<i>Lewia infectoria</i>	KY921917	<i>Lewia infectoria</i>	579/586(99%)	AY154690.1
A4	<i>Alternaria alternata</i>	KY921918	<i>Alternaria sp.</i>	563/568(99%)	KC139464.1
A5	<i>Alternaria alternata</i>	KY921919	<i>Alternaria alternata</i>	557/565(99%)	KJ739880.1
A6	<i>Alternaria alternata</i>	KY921920	<i>Alternaria alternata</i>	552/561(98%)	KJ739880.1
A7	<i>Alternaria alternata</i>	KY921921	<i>Alternaria alternata</i>	563/572(98%)	KJ739874.1
A8	<i>Alternaria alternata</i>	KY921922	<i>Alternaria alternata</i>	558/562(99%)	KJ739880.1
A9	<i>Alternaria alternata</i>	KY921923	<i>Alternaria alternata</i>	565/569(99%)	KJ739874.1
A10	tür tespit edilememiştir				
A11	tür tespit edilememiştir				
A12	<i>Cladosporium herbarum</i>	KY921924	<i>Cladosporium sinuosum</i>	537/544(99%)	KX674647.1
A13	<i>Cladosporium tenuissimum</i>	KY921925	<i>Cladosporium tenuissimum</i>	538/541(99%)	EU272531.1
A14	<i>Cladosporium tenuissimum</i>	KY921926	<i>Cladosporium tenuissimum</i>	537/541(99%)	EU272531.1
A15	tür tespit edilememiştir				
A16	<i>Cladosporium tenuissimum</i>	KY921927	<i>Cladosporium tenuissimum</i>	537/541(99%)	EU272491.1
A17	<i>Cladosporium tenuissimum</i>	KY921928	<i>Cladosporium tenuissimum</i>	540/547(99%)	EU272531.1
A18	<i>Cladosporium tenuissimum</i>	KY921929	<i>Cladosporium sp.</i>	532/536(99%)	LN834410.1
A19	tür tespit edilememiştir				
A20	<i>Cladosporium tenuissimum</i>	KY921930	<i>Cladosporium tenuissimum</i>	539/543(99%)	EU272531.1
A21	tür tespit edilememiştir				
A22	tür tespit edilememiştir				
A23	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	KY921931	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	540/546(99%)	EU272532.1
C1	tür tespit edilememiştir				
C2	tür tespit edilememiştir				
C3	tür tespit edilememiştir				
C4	tür tespit edilememiştir				
C5	<i>Aspergillus terreus</i>	KY926855	<i>Aspergillus terreus</i>	585/588(99%)	FJ011538.1



Tablo 2. Devamı

Kod	Tür/ACTİN	Tür Accession Number	Tür Eşleşme Oranı (MI)	Eşleşen Tür	Eşleşen Tür Accession Number
A1	<i>Alternaria alternata</i>	KY930577	815/838(97%)	<i>Alternaria alternata</i>	AY748985.1
A2	tür tespit edilememiştir				
A3	tür tespit edilememiştir				
A4	<i>Alternaria alternata</i>	KY930578	713/729(98%)	<i>Alternaria Alternata</i>	AY748985.1
A5	<i>Alternaria alternata</i>	KY930579	757/776(98%)	<i>Alternaria Alternata</i>	AY748985.1
A6	<i>Alternaria alternata</i>	KY930580	717/723(99%)	<i>Alternaria Alternata</i>	AY748985.1
A7	<i>Alternaria alternata</i>	KY930581	669/674(99%)	<i>Alternaria Alternata</i>	AY748985.1
A8	tür tespit edilememiştir				
A9	<i>Alternaria alternata</i>	KY930582	728/741(98%)	<i>Alternaria Alternata</i>	AY748985.1
A10	<i>Cladosporium herbarum</i>	KY930583	602/624(96%)	<i>Cladosporium herbarum</i>	AJ300315.1
A11	tür tespit edilememiştir				
A12	tür tespit edilememiştir				
A13	tür tespit edilememiştir				
A14	<i>Cladosporium oxysporium</i>	KY930584	679/710(96%)	<i>Cladosporium oxysporium</i>	AJ300311.1
A15	<i>Cladosporium herbarum</i>	KY930585	732/734(99%)	<i>Cladosporium herbarum</i>	AJ300323.1
A16	<i>Cladosporium tenuissimum</i>	KY930586	684/712(96%)	<i>Cladosporium tenuissimum</i>	AJ300324.1
A17	<i>Cladosporium tenuissimum</i>	KY930587	698/726(96%)	<i>Cladosporium tenuissimum</i>	AJ300324.1
A18	<i>Cladosporium tenuissimum</i>	KY930588	732/735(99%)	<i>Cladosporium tenuissimum</i>	AJ300324.1
A19	tür tespit edilememiştir				
A20	<i>Cladosporium tenuissimum</i>	KY930589	748/779(96%)	<i>Cladosporium tenuissimum</i>	AJ300324.1
A21	<i>Cladosporium herbarum</i>	KY930590	735/735(100%)	<i>Cladosporium herbarum</i>	AJ300315.1
A22	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	KY930591	768/773(99%)	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	AJ300329.1
A23	tür tespit edilememiştir				
C1	tür tespit edilememiştir				
C2	tür tespit edilememiştir				
C3	tür tespit edilememiştir				
C4	tür tespit edilememiştir				
C5	tür tespit edilememiştir				

Tablo 3. Mikrofungusların β -tubulin ve ITS gen bölgelerine göre karşılaştırılması

Kod	Tür/ITS	Tür Accession Number	Eşleşen Tür	Eşleşme Oranı (MI)	Eşleşen Tür Accession Number
B1	<i>Metarhizium anisopliae</i>	KY921932	<i>Metarhizium anisopliae</i>	565/567(99%)	KU965593.1
B2	<i>Penicillium glabrum</i>	KY921933	<i>Penicillium glabrum</i>	559/565(99%)	KJ475813.1
B3	<i>Metarhizium anisopliae</i>	KY921934	<i>Metarhizium anisopliae</i>	567/571(99%)	KU965593.1
B4	<i>Penicillium commune</i>	KY921935	<i>Penicillium commune</i>	566/570(99%)	DQ132814.1
B5	<i>Penicillium brevicompactum</i>	KY921936	<i>Penicillium brevicompactum</i>	568/575(99%)	LT558911.1
B6	<i>Penicillium brevicompactum</i>	KY921937	<i>Penicillium brevicompactum</i>	570/578(99%)	LT558911.1
B7	<i>Penicillium citrinum</i>	KY921938	<i>Penicillium citrinum</i>	535/538(99%)	LT558897.1
B8	<i>Penicillium glabrum</i>	KY921939	<i>Penicillium glabrum</i>	561/564(99%)	KU847871.1
B9	<i>Penicillium glabrum</i>	KY921940	<i>Penicillium glabrum</i>	568/575(99%)	KU847871.1
B10	tür tespit edilememiştir				
B11	tür tespit edilememiştir				
B12	<i>Penicillium charlesii</i>	KY921941	<i>Penicillium charlesii</i>	540/556(97%)	KY859386.1
B13	tür tespit edilememiştir				
B14	tür tespit edilememiştir				
B15	<i>Penicillium commune</i>	KY921942	<i>Penicillium commune</i>	570/574(99%)	KC009833.1
B16	<i>Penicillium commune</i>	KY921943	<i>Penicillium commune</i>	567/573(99%)	KC009831.1
B17	<i>Penicillium griseofulvum</i>	KY921944	<i>Penicillium griseofulvum</i>	538/542(99%)	KP663722.1
B18	<i>Penicillium citrinum</i>	KY921945	<i>Penicillium citrinum</i>	539/547(99%)	LT558897.1
B19	<i>Penicillium griseofulvum</i>	KY921946	<i>Penicillium griseofulvum</i>	541/546(99%)	KC110617.1
B20	<i>Penicillium citrinum</i>	KY921947	<i>Penicillium citrinum</i>	538/539(99%)	LT558885.1
B21	<i>Penicillium glabrum</i>	KY921948	<i>Penicillium glabrum</i>	564/570(99%)	KU847871.1
B22	<i>Penicillium freii</i>	KY921949	<i>Penicillium freii</i>	567/570(99%)	AJ005479.1
B23	<i>Penicillium brevicompactum</i>	KY921950	<i>Penicillium brevicompactum</i>	573/578(99%)	LT558910.1
B24	<i>Penicillium brevicompactum</i>	KY921951	<i>Penicillium brevicompactum</i>	565/569(99%)	LT558910.1
B25	<i>Penicillium commune</i>	KY921952	<i>Penicillium commune</i>	575/580(99%)	KC009828.1
B26	<i>Penicillium brevicompactum</i>	KY921953	<i>Penicillium brevicompactum</i>	566/572(99%)	LT558910.1
B27	<i>Penicillium citrinum</i>	KY921954	<i>Penicillium citrinum</i>	534/538(99%)	LT558897.1
B28	<i>Penicillium brevicompactum</i>	KY921955	<i>Penicillium brevicompactum</i>	567/569(99%)	LT558911.1
B29	<i>Talaromyces verruculosus</i>	KY921956	<i>Talaromyces verruculosus</i>	565/572(99%)	HQ608025.1
B30	tür tespit edilememiştir				
B31	<i>Aspergillus ochraceus</i>	KY926851	<i>Aspergillus ochraceus</i>	567/569(99%)	KJ783266.1
B32	<i>Aspergillus tubingensis</i>	KY926852	<i>Aspergillus tubingensis</i>	586/594(99%)	KP131626.1
B33	tür tespit edilememiştir				
B34	<i>Aspergillus fumigatus</i>	KY926853	<i>Aspergillus fumigatus</i>	582/585(99%)	KJ001801.1



Tablo 3. Devamı

Kod	Tür/ITS	Tür Accession Number	Eşleşen Tür	Eşleşme Oranı (MI)	Eşleşen Tür Accession Number
B35	<i>Aspergillus flavus</i>	KY926854	<i>Aspergillus flavus</i>	576/579(99%)	MF120213.1
C1	tür tespit edilememiştir				
C2	tür tespit edilememiştir				
C3	tür tespit edilememiştir				
C4	tür tespit edilememiştir				
C5	tür tespit edilememiştir				

Tablo 3. Devamı

Kod	Tür/ β -TUBULİN	Tür Accession Number	Eşleşen Tür	Tür Eşleşme Oranı (MI)	Eşleşen Tür Accession Number
B1	<i>Penicillium chrysogenum</i>	KY930592	<i>Penicillium chrysogenum</i>	736/741(99%)	KT987413.1
B2	tür tespit edilememiştir				
B3	tür tespit edilememiştir				
B4	tür tespit edilememiştir				
B5	<i>Penicillium brevicompactum</i>	KY930593	<i>Penicillium brevicompactum</i>	733/743(99%)	FJ012879.1
B6	tür tespit edilememiştir				
B7	<i>Penicillium citrinum</i>	KY930594	<i>Penicillium citrinum</i>	672/677(99%)	JN112043.1
B8	tür tespit edilememiştir				
B9	tür tespit edilememiştir				
B10	tür tespit edilememiştir				
B11	tür tespit edilememiştir				
B12	tür tespit edilememiştir				
B13	tür tespit edilememiştir				
B14	tür tespit edilememiştir				
B15	tür tespit edilememiştir				
B16	<i>Penicillium viridicatum</i>	KY930595	<i>Penicillium viridicatum</i>	667/691(97%)	JN112031.1
B17	<i>Penicillium citrinum</i>	KY930596	<i>Penicillium citrinum</i>	386/389(99%)	JN112043.1
B18	<i>Penicillium citrinum</i>	KY930597	<i>Penicillium citrinum</i>	378/383(99%)	JN112043.1
B19	tür tespit edilememiştir				
B20	<i>Penicillium citrinum</i>	KY930598	<i>Penicillium citrinum</i>	428/434(99%)	JN112043.1
B21	tür tespit edilememiştir				
B22	<i>Penicillium viridicatum</i>	KY930599	<i>Penicillium viridicatum</i>	719/726(99%)	JN112031.1
B23	<i>Penicillium italicum</i>	KY930600	<i>Penicillium italicum</i>	701/726(97%)	HQ850945.1
B24	<i>Penicillium brevicompactum</i>	KY930601	<i>Penicillium brevicompactum</i>	738/743(99%)	FJ012879.1
B25	tür tespit edilememiştir				

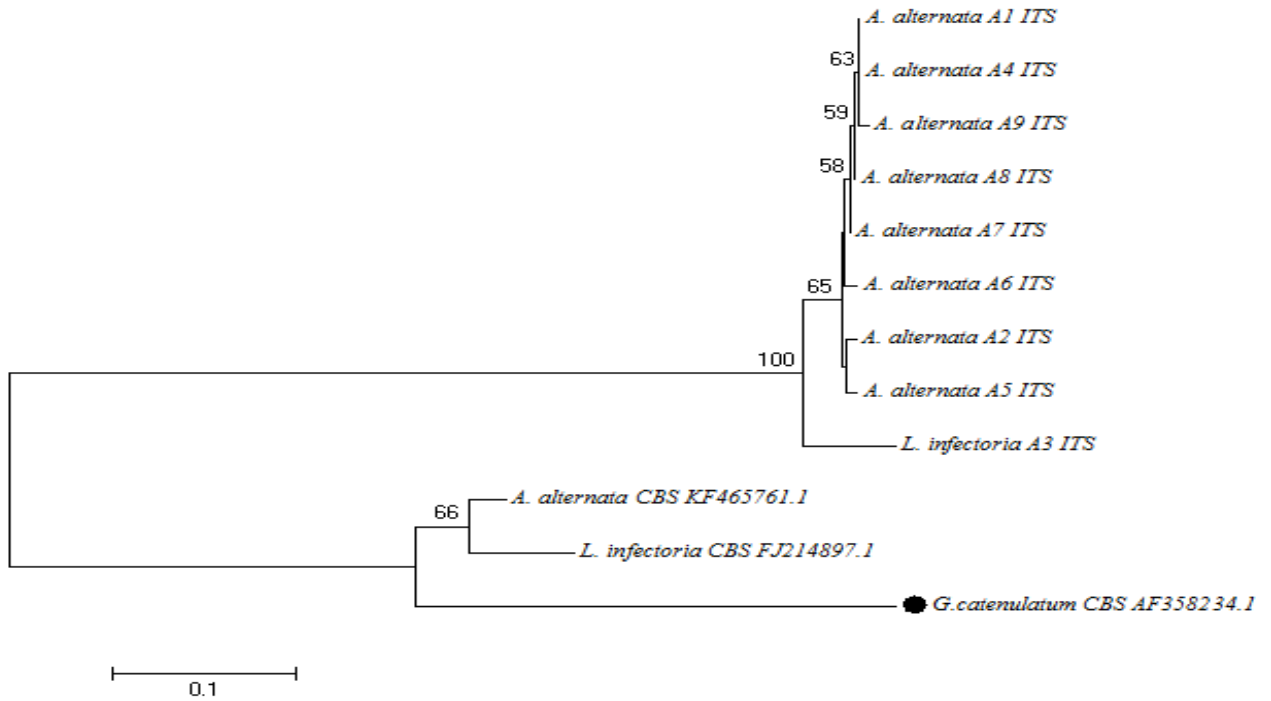


Tablo 3. Devamı

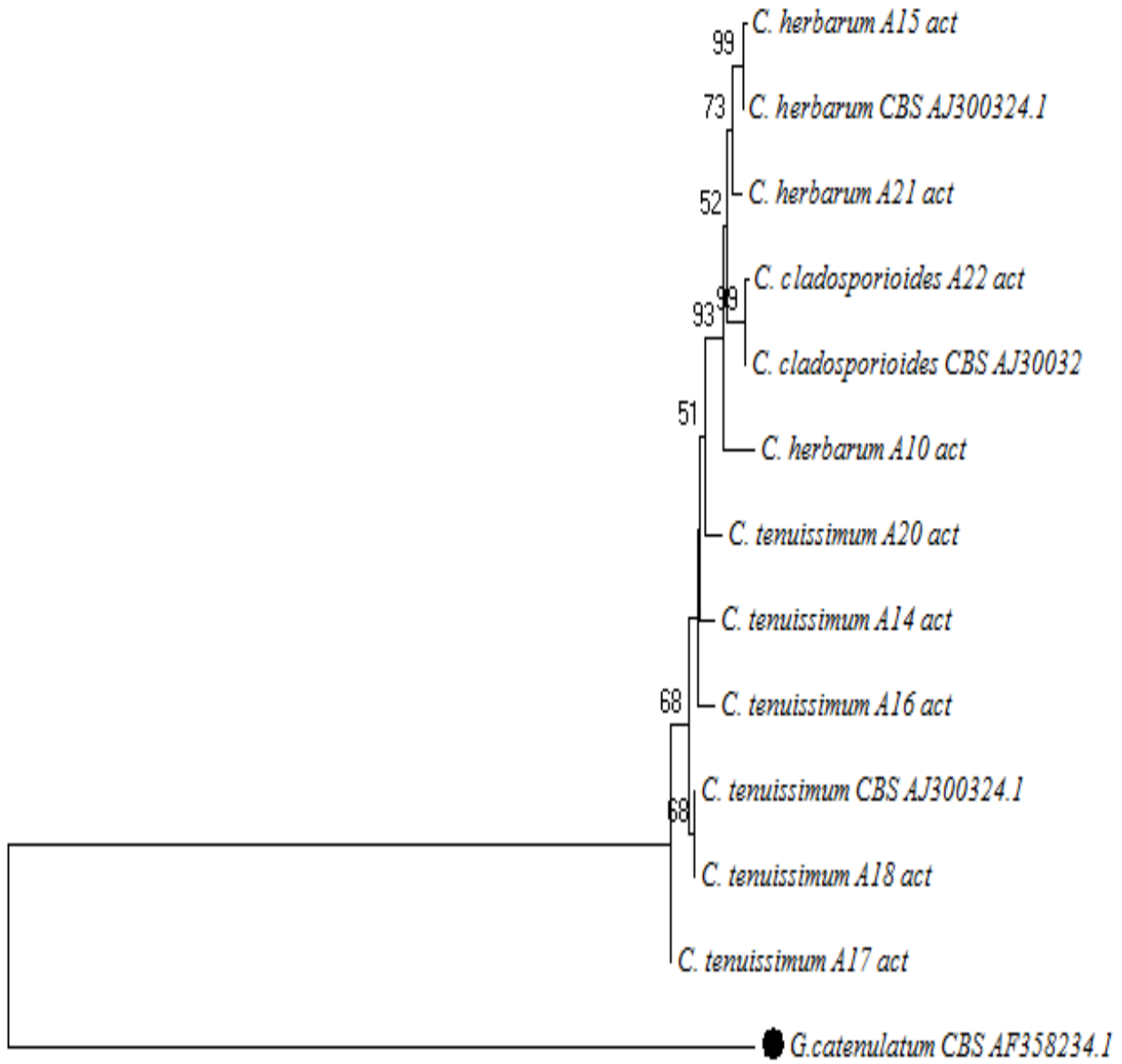
Kod	Tür/ β -TUBULİN	Tür Accession Number	Eşleşen Tür	Tür Eşleşme Oranı (MI)	Eşleşen Tür Accession Number
B26	<i>Penicillium brevicompactum</i>	KY930602	<i>Penicillium brevicompactum</i>	742/747(99%)	FJ012879.1
B27	<i>Penicillium citrinum</i>	KY930603	<i>Penicillium citrinum</i>	633/657(96%)	JN112043.1
B28	<i>Penicillium brevicompactum</i>	KY930604	<i>Penicillium brevicompactum</i>	724/745(97%)	FJ012879.1
B29	<i>Talaromyces cellulolyticus</i>	KY930605	<i>Talaromyces cellulolyticus</i>	716/728(98%)	AB773823.1
B30	tür tespit edilememiştir				
B31	tür tespit edilememiştir				
B32	tür tespit edilememiştir				
B33	tür tespit edilememiştir				
B34	tür tespit edilememiştir				
B35	tür tespit edilememiştir				
C1	tür tespit edilememiştir				
C2	tür tespit edilememiştir				
C3	tür tespit edilememiştir				
C4	tür tespit edilememiştir				
C5	tür tespit edilememiştir				



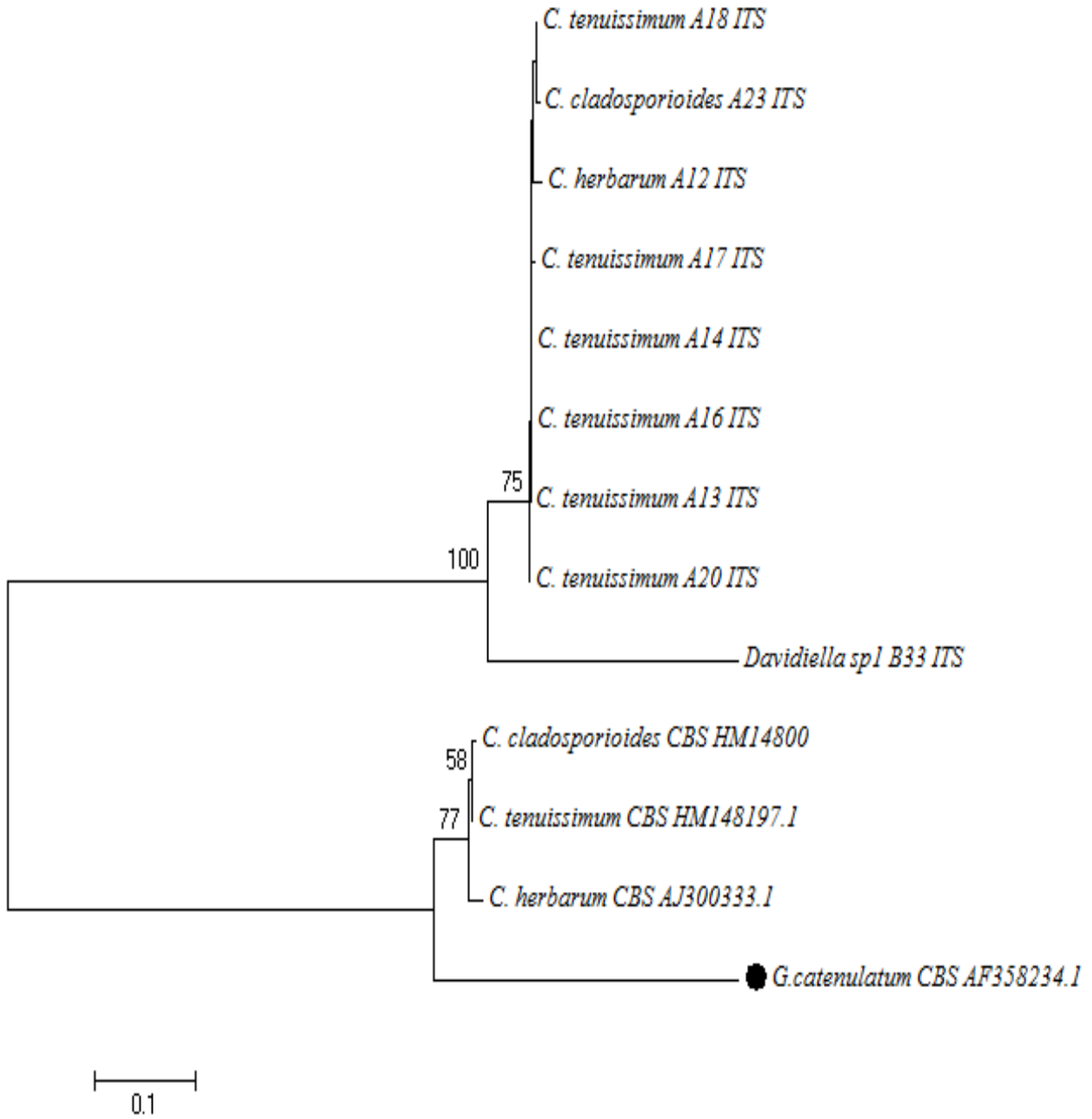
Şekil 1. Actin gen bölgesine göre moleküler tanısı yapılmış *Alternaria* cinsine ait türlerin Neighbour-Joining filogenetik ağaçtaki dallanmaları (%50 ve üzerindeki bootstrap değerleri gösterilmiştir). Referans suş sekansları NCBI Genbank'dan alınmıştır.



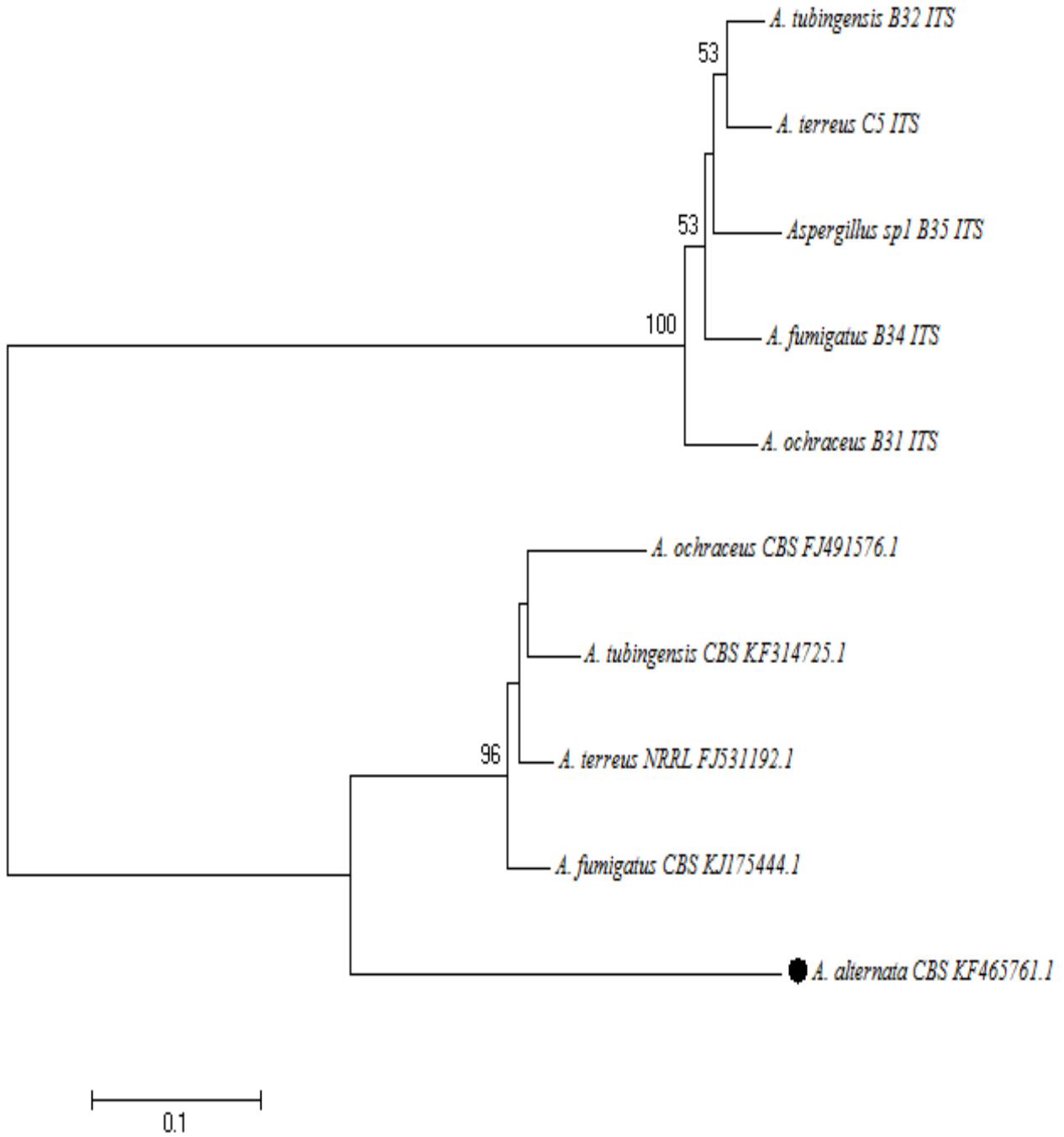
Şekil 2. ITS gen bölgesine göre moleküler tanısı yapılmış *Alternaria* cinsine ait türlerin Neighbour-Joining filogenetik ağaçtaki dallanmaları (%50 ve üzerindeki bootstrap değerleri gösterilmiştir). Referans suş sekansları NCBI Genbank'dan alınmıştır.



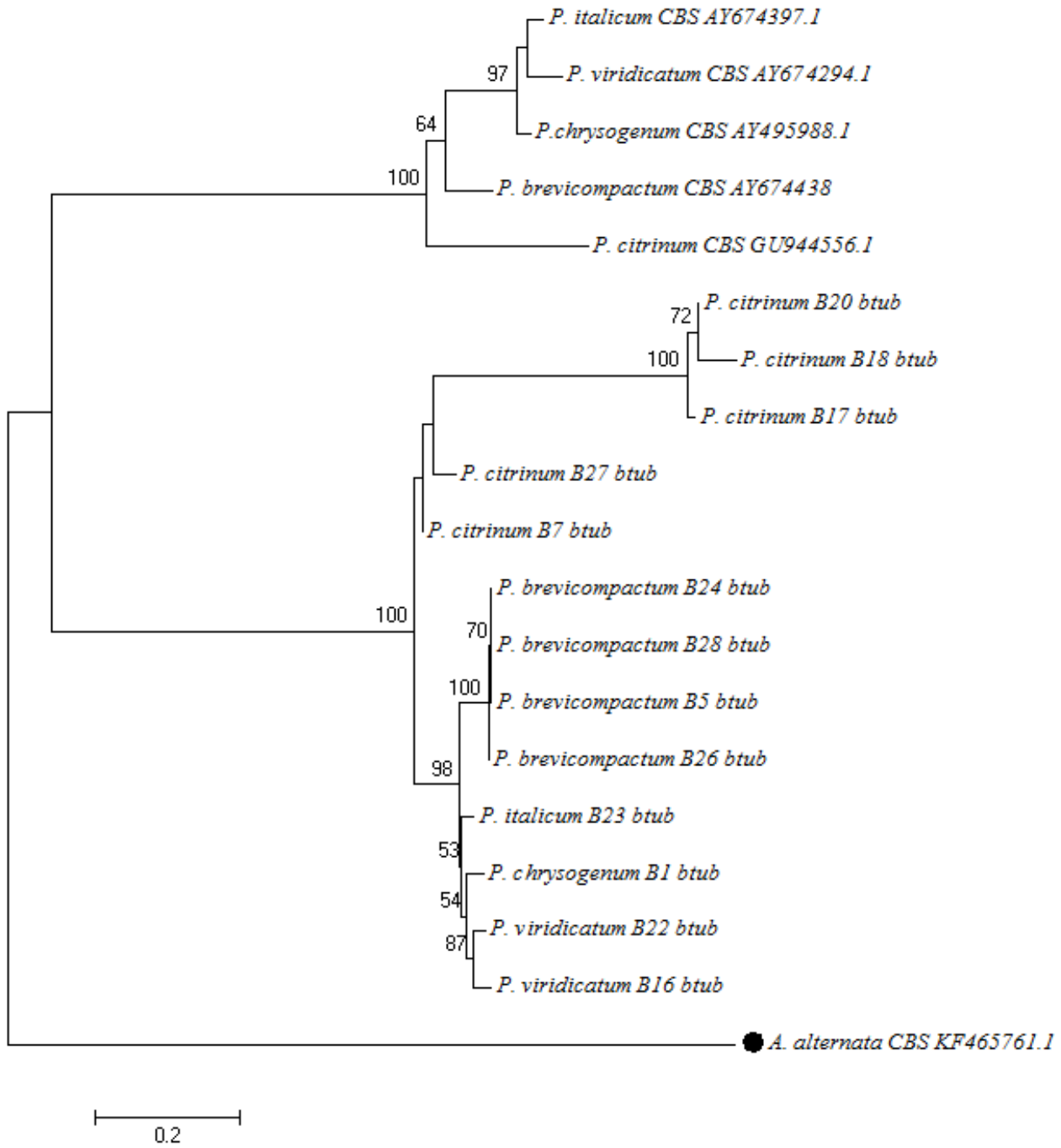
Şekil 3. Actin gen bölgesine göre moleküler tanısı yapılmış *Cladosporium* cinsine ait türlerin Neighbour-Joining filogenetik ağaçtaki dallanmaları (%50 ve üzerindeki bootstrap değerleri gösterilmiştir). Referans suş sekansları NCBI Genbank'dan alınmıştır.



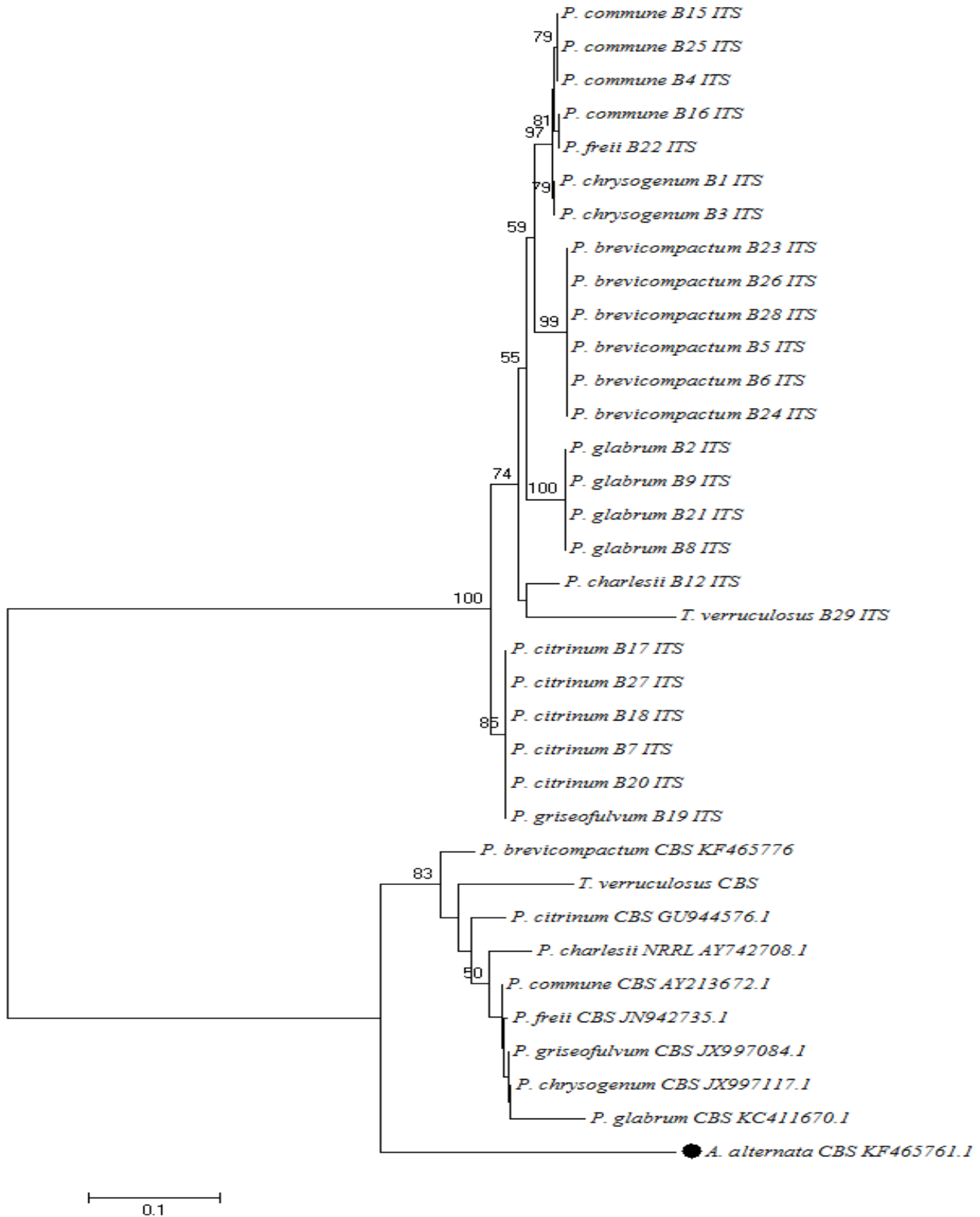
Şekil 4. ITS gen bölgesine göre moleküler tanısı yapılmış *Cladosporium* cinsine ait türlerin Neighbour-Joining filogenetik ağaçtaki dallanmaları (%50 ve üzerindeki bootstrap değerleri gösterilmiştir). Referans suş sekansları NCBI Genbank'dan alınmıştır.



Şekil 5. ITS gen bölgesine göre moleküler tanısı yapılmış *Aspergillus* cinsine ait türlerin Neighbour-Joining filogenetik ağaçtaki dallanmaları (%50 ve üzerindeki bootstrap değerleri gösterilmiştir). Referans suş sekansları NCBI Genbank'dan alınmıştır.



Şekil 6. β -tubulin gen bölgesine göre moleküler tanıyı yapılmış *Penicillium* cinsine ait türlerin Neighbour-Joining filogenetik ağaçtaki dallanmaları (%50 ve üzerindeki bootstrap değerleri gösterilmiştir). Referans suş sekansları NCBI Genbank'dan alınmıştır.



Şekil 7. ITS gen bölgesine göre moleküler tanı yapılmış *Penicillium* cinsine ait türlerin Neighbour-Joining filogenetik ağaçtaki dallanmaları (%50 ve üzerindeki bootstrap değerleri gösterilmiştir). Referans suş sekansları NCBI Genbank'dan alınmıştır.



ITS gibi DNA dizileri, farklı türler içerisinde tek bir türün saptanması için uygundur. Bununla beraber, rDNA'nın diğer dizilerinden; 18S rDNA, 28S rDNA ve mitokondriyel rDNA dizileri de spesifik primerler geliştirmek için kullanılmaktadır (Abacı ve Haliki, 2005).

A grubu'ndaki toplam 23 mikrofungus örneğinden, Actin gen bölgesine bakıldığında 6 örneğin *Alternaria* cinsine ait olduğu tespit edilmiştir. 9 örneğin ise *Cladosporium* cinsine ait olduğu tespit edilmiştir. Toplamda 15 tür tespit edilmiştir. ITS gen bölgesine bakıldığında ise 8 *Alternaria* cinsine ait tür tespit edilirken, 8 adet *Cladosporium* cinsine ait tür tespit edilmiştir. Toplamda 16 tür tespit edilmiştir. B grubundaki 35 mikrofungus örneği içerisinde, β -tubulin gen bölgesine bakıldığında, 14 adet *Penicillium* cinsine ait tür tespit edilirken, *Aspergillus* cinsine ait tür tespiti yapılamamıştır. Toplamda 14 örnek tespit edilmiştir. Bununla beraber ITS gen bölgesine bakıldığında, 25 adet *Penicillium* cinsine ait tür tespit edilirken, 7 tür ise *Aspergillus* cinsine ait olarak tespit edilmiştir. Toplamda 32 tür tespit edilmiştir. Blast analizi sonucunda tür tespiti için öncelikli olarak MI (Maksimum Identification) 'a dikkat edilmiştir bunun yanı sıra türlerin özellikle CBS, ATCC, NRRL gibi uluslararası standart suşlar ile benzer durumda olmasına dikkat edilmiştir. Bu anlamda, her bir tür için hangi grupta ise ona göre "Actin" ve " β -tubulin" gen bölgelerine bakılmış ve ayrıca her örnek için "ITS" gen bölgesi ele alınmıştır.

Tespit edilen türlerin akrabalık düzeylerini incelemek amaçlı "Neighbour-Joining Algoritma Yöntemi" kullanılarak filogenetik ağaçlar çizilmiştir. *Aspergillus* ve *Penicillium* cinsine ait türler için dış tür olarak *Alternaria alternata* (Strain/CBS KF465761.1), *Alternaria* ve *Cladosporium* türleri için ise dış tür olarak *Gliocladium catenulatum* (Strain/CBS AF358234.1) seçilmiştir. Tüm türlerin "type tür" leri yine uluslararası suşlardan seçilmiş ve laboratuvar örnekleri ile akrabalık düzeyleri incelenmiştir. Filogenetik ağaç çizimi için, doğadaki en yaygın cinslerin (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Alternaria*) teşhis edilen türleri tercih edilmiştir. Tüm analizlerin sonucunda, A grubuna mensup 23 örnekten actin gen bölgesi baz alınarak yapılan dizi analizi sonucunda 8 örnek tür düzeyinde teşhis edilememiş, ITS gen bölgesine yapılan dizi analizi sonucunda ise aynı 23 örnekten, 5 tanesi tür düzeyinde teşhis edilememiştir.

B grubuna mensup 35 örnekten β -tubulin gen bölgesi baz alınarak yapılan dizi analizi sonucunda 21 örnek tür düzeyinde teşhis edilememiş, ITS gen bölgesine yapılan dizi analizi sonucunda aynı 35

örnekten, 4 örnek tür düzeyinde teşhis edilememiştir. C grubuna mensup toplam 5 örnek içinden actin gen bölgesi için bakıldığında, 2, β -tubulin gen bölgesi için bakıldığında 5, ITS gen bölgesi için bakıldığında 1 örnek tür düzeyinde teşhis edilememiştir. Sekans veri yetersizliği sebebiyle tüm bu örnekler tür düzeyinde teşhis edilememiştir.

Bir diğer sonuç olarak, *Acrodontium sp.*, *Aspergillus sp.*, *Davidiella sp.*, türleri uluslararası suşlar ile benzerlik göstermemektedir. Tabloda görülebileceği üzere (Tablo 2), B16 örneği için β -tubulin gen bölgesine bakıldığında, "*Penicillium viridicatum*" "MI =% 97 oranında" tür teşhisi yapılırken, ITS gen bölgesine bakıldığında "*Penicillium commune*" "MI =% 99 oranında" tür teşhisi yapılmıştır. Bu durumda, B16 örneği için ITS gen bölgesindeki sonuç, daha uygun sonuç verdiğinden, "*Penicillium commune*" türü B16 örneği için uygun bulunmuştur. 2. bir örnek olan, B23 örneği için β -tubulin gen bölgesine bakıldığında, "*Penicillium italicum*" "MI =% 97 oranında" tür teşhisi yapılırken, ITS gen bölgesine bakıldığında "*Penicillium brevicompactum*" "MI =% 100 oranında" tür teşhisi yapılmıştır. Bu durumda, B23 örneği için ITS gen bölgesindeki sonuç, daha uygun sonuç verdiğinden, "*Penicillium brevicompactum*" türü B23 örneği için uygun bulunmuştur. Son zamanlarda tür teşhisi için yapılan moleküler analizlerde, protein kodlayan genler ön plana çıkmaktadır. Bu genler değişken bölge (intron) içerdiğinden tür tanısı açısından oldukça anlamlıdır. Bu genler; elongation factor 1 alpha (TEF1 α), calmodulin (Cmd), β -tubulin (BenA), actin (Act) ve histone (HIS) genleridir (Samson ve Ark., 2010). Bu çalışmada, saf kültür olarak laboratuvar ortamından izole edilen bazı mikrofunguslarda ITS, Actin ve β -tubulin gen bölgelerine göre tür teşhisi yapılmıştır.

Çalışmanın sonucu olarak, çoğu mikrofungus türünün ITS ve ilgili gen bölgesinin (actin ve/veya β -tubulin) aynı türü teşhis etmesiyle başarılı olduğu söylenebilir. Bir örnek için farklı tür teşhisi yapan ilgili gen bölgeleri için, önce "MI" incelenmiş daha sonra filogenetik ağaç çizimleri ile türlerin birbirlerine olan uzaklıkları (akrabalık düzeyleri) incelenerek, tür teşhisleri desteklenmiştir. Tür tespiti yapılamayan örnekler için, çalışma bir adım daha ileriye götürülerek cinse spesifik farklı bir gen bölgesinin araştırılması ve incelenmesi alternatif bir durum sağlayacaktır.

Teşekkür

Bu çalışma, Trakya Üniversitesi Rektörlüğü TÜBAP-2014/58 numaralı proje ile desteklenmiştir, bunun için çok teşekkür ederiz.



Kaynaklar

- Abacı Ö, Haliki A. *Fungal Tanıda Kullanılan Polimeraz Zincir Reaksiyonu*, Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi, İzmir(2005).
- Bridge, P.D., Arora D.K., *Interpretation of PCR methods for Species Definition*, P:357, 63-84, Bridge PD (ed), CAB1 Publishing, Wallingford (1998).
- Edel V. *Polymerase Chain Reaction In Mycology: An Overview*, P:357, Bridge PD, CAB1 Publishing, Wallingford (1998).
- Levetin E, Horner WE, Scott JA. Taxonomy of allergenic fungi. *Journal of Allergy Clin Allergy Prac.* 4 (3): 375-385(2016).
- Manian S, Sreenivasaprasad S, Mills PR. *DNA extraction method for PCR in mycorrhizal fungi*, 307-310. *Letters in Applied Microbiology.* 33 (4): 307-310(2001).
- Samson, R. A, Houbraken, J., Thrane, U., Frisvad, J. C. and Andersen, B. *Food and Indoor Fungi*, CBS-KNAW Fungal Diversity Centre, Utrecht, The Netherlands (2010).
- Takamatsu, S., *PCR Applications in Fungal Phylogeny*, P:357, 125-152, Bridge PD (ed), CAB1 Publishing, Wallingford (1998).
- Wessner DR, Dupont C, Charles TC. *Microbiology*. John Wiley & Sons. 867 pp + Ekler. ABD (2013).



Geliş(Received) :24/09/2017
Kabul(Accepted) :01/02/2018

Araştırma Makalesi
DOI:10.30708/mantar.339707

Cortinarius ve Lyophyllum Cinslerine Ait Yeni Kayıtlar

Ertuğrul SESLİ*

*Sorumlu yazar:ertugrulsesli@yahoo.com

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

Öz: *Cortinarius casimiri* (Velen.) Huijsman, *C. epipurrus* Chevassut & Rob. Henry ve *Lyophyllum rhopalopodium* Clémençon Türkiye'den ilk kez rapor edilmiş; arazi ve mikroskopik resimler ile desteklenip kısa bir tartışma ile birlikte sunulmuştur.

Anahtar kelimeler: *Cortinarius*, *Lyophyllum*, Trabzon, Türkiye, yeni kayıt.

New Records Belong to *Cortinarius* and *Lyophyllum* Genera

Abstract: *Cortinarius casimiri* (Velen.) Huijsman, *C. epipurrus* Chevassut & Rob. Henry and *Lyophyllum rhopalopodium* Clémençon were reported for the first time in Turkey; supported with the field and microscopic pictures and presented with a brief discussion.

Key words: *Cortinarius*, *Lyophyllum*, Trabzon, Turkey, new record.

Giriş

Şapkalı mantarların en büyük cinsi olan *Cortinarius* (Pers.) Gray üyeleri çeşitli renklerde; früktofikasyon organları misenoyit, koliboyit veya trikolomatoyit; spor izleri pas renginde ve annulusları ağısı yapıdadır. Şapkaları genellikle konveks, yüzeyleri kuru, nemli veya yapışkan; sapları silindirik, çomak şeklinde ve bazen tabanları şişkin; spor izleri tarçın kahverengi veya kızılımsı sarı; sporları elipsoit, armut, limon veya iğ şeklinde ve çıkıntılı; kenar hücreleri bazidiyumlara benzer biçimde ve kancalıdır. Yaprak dökken ve / veya iğne yapraklı ağaçlarla ektomikorizal olarak veya toprakta yaşarlar (Consiglio ve ark., 2006; Niskanen ve ark., 2008).

Lyophyllum P.Karst. üyeleri çürükçül yaşayan bir cins olup früktofikasyon organları misenoyit, koliboyit, klitosiboyit veya trikolomatoyittir. Cins üyelerinde şapka grimsi veya kahverengimsi, konveks, konik, çan şeklinde veya hafif hunimsidir. Lameller beyazımsı, krem rengi, grimsi veya kahverengimsi, bazı gruplarda ezildiği zaman mavimsi veya siyahımsıdır. Sap bazı gruplarda tabana doğru incelmıştır. Spor izi beyaz veya krem rengi, sporlar düz veya süslü, elipsoit, yuvarlağımsı, iğ veya baklava şeklinde veyahut ta dörtgen şeklinde olabilir (Clémençon, 1986; Consiglio ve Contu, 2002).

Son yıllarda Türkiye mikotasının belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen çalışmalarda çeşitli yeni kayıtlar saptanmıştır (Kaşık ve ark., 2013; Doğan ve Kurt, 2016; Akata, 2017). Bu çalışmanın amacı Türkiye şapkalı mantar mikotasına katkı sağlayabilmektir.

Materyal ve Yöntem

Bazidiyokarplar 2014-2016 yılları arasında Trabzon il sınırları içerisinde toplanmıştır. Koleksiyon çalışmaları yağmurlu günlerden sonra hava sıcaklığının 16°C 'ın altına düştüğü zamanlarda gerçekleştirilmiştir. Öncelikli olarak bazidiyokarpların doğal ortamda fotoğrafları çekilmiş, 4-15 tanesi toplanmış ve saptanabilen mikorizal ilişkileri ile ezilme sırasında renk değiştirip değiştirmedikleri kaydedilmiştir. Numaralandırılarak kese kağıtlarına konan bazidiyokarplar laboratuvara getirilip spor izleri alındıktan sonra radyatör üzerinde kurutulmuş, derin dondurucuda bir hafta tutulduktan sonra saklama kutularına yerleştirilmiştir. Bazidiyum ve hifal yapıların aydınlatılabilmesi için bazidiyokarplardan koparılan lamellardan stereo mikroskop altında enine kesitler alınmıştır. Bazidiyospor boyutlarının belirlenebilmesi için ortalama 40 spor ölçülmüştür. Bazidiyospor, bazidiyum ve diğer hifal yapılar ışık mikroskopuna bağlı kamera yardımı ile görüntülenmiştir. Yeni kayıtlar Clémençon (1986),



Breitenbach ve Kränzlin (2000), Consiglio ve Contu (2002), Kalamees (2004), Consiglio ve ark. (2006), Niskanen ve ark. (2008) yardımı ile teşhis edilmiştir.

Bulgular

Cortinarius casimiri (Velen.) Huijsman, Fungus, Wageningen 25: 20(1955) (Şekil 1).

Sin. *Cortinarius casimiri* (Velen.) Huijsman, Fungus, Wageningen 25: 20(1955) var. *casimiri*, *Cortinarius casimiri* var. *hoffmannii* (Reumaux) Suár.Sant. & A.Ortega, Mycol. Res. 113(10)(2009), *Cortinarius decipiens* var. *hoffmannii* Reumaux, Şu eserde: Reumaux & Moëne-Loccoz, Bull. Trimest. Féd. Mycol. Dauphiné-Savoie 28: 24(1988), *Cortinarius hoffmannii* (Reumaux) Reumaux, Şu eserde: Bidaud, Moëne-Loccoz, Reumaux, Carteret & Eyssartier, Atlas des Cortinaires 11: 573(2001), *Cortinarius megasporus* var. *subsertipes* (Romagn.) Bon, Docums Mycol. 21(82): 54(1991), *Cortinarius subsertipes* Romagn., Bull. Soc. Nat. Oyonnax 6: 61(1952), *Telamonia casimiri* Velen., České Houby 2: 464(1921).

Şapka 30-60 mm, başlangıçta konik, olgunlaştıkça çan şeklinde ve düzleşir, bazen kenarları yukarıya kalkık olup, zamanla hunimsi bir görünüm kazanır. Yüzeyi mat, koyu kırmızıdan şarapsı kahverengine kadar değişir ve beyaz liflerle kaplıdır. Yaşlı bireyler griden koyu sarı-kahverengine kadar değişen renklerde olabilir. **Lameller** geniş, gri-kırmızımsıdan ıssı kahverengine kadar değişir. **Sap** 40-90 x 5-10 mm, silindirik, tabanı bazen hafif soğansı, leylak kahverenginden kırmızımsı kahverengine kadar değişen yüzeyinde beyazımsı lifler bulunur. **Bazidiyosporlar** 9-12 x 5.5-7 µm, eliptik, hafif sarımsı renkte olup çıkıntılar içerir. **Bazidiyumlar** silindirik veya çomak şeklinde, 30-40 x 9-11 mikrondur.

İncelenen materyal: Trabzon, Hamsiköy, 40°41'04.69"K, 39°28'40.74"D, 1390 m, 23 Eylül 2014; gruplar halinde ladin (*Picea orientalis* L.) altında, Fatih Eğitim Fakültesi Kişisel Fungaryumu 3398.

Cortinarius epipurrus Chevassut & Rob.Henry, Docums Mycol. 8(32): 72(1978) (Şekil 2).

Şapka 30-60 mm, başlangıçta konik, zamanla daha düz, açık kahverengi, güderi renginde, benekli, tepe çıkıntısı belirsiz, kenarları düzensiz ve çatlaktır.

Lameller kahverengi ve geniştir. **Sap** 20-40 x 10-20 µm silindirik, tabanı genişlemiş ve rengi beyazdır. Sap tabana yakın bölümünden kesilirse kırmızımsı kahverengi olur. Bazidiyosporları elipsoit, çıkıntılı, 7-10 x 5-6.5 mikrondur.

İncelenen materyal: Trabzon, Boztepe, 40°58'56.83"K, 39°44'04.42"D, 281 m, 15 Kasım 2015; gruplar halinde ladin (*Picea orientalis* L.) altında, Fatih Eğitim Fakültesi Kişisel Fungaryumu 3664.

Lyophyllum rhopalopodium Clémençon, Mycotaxon 15: 86(1982) (Şekil 3).

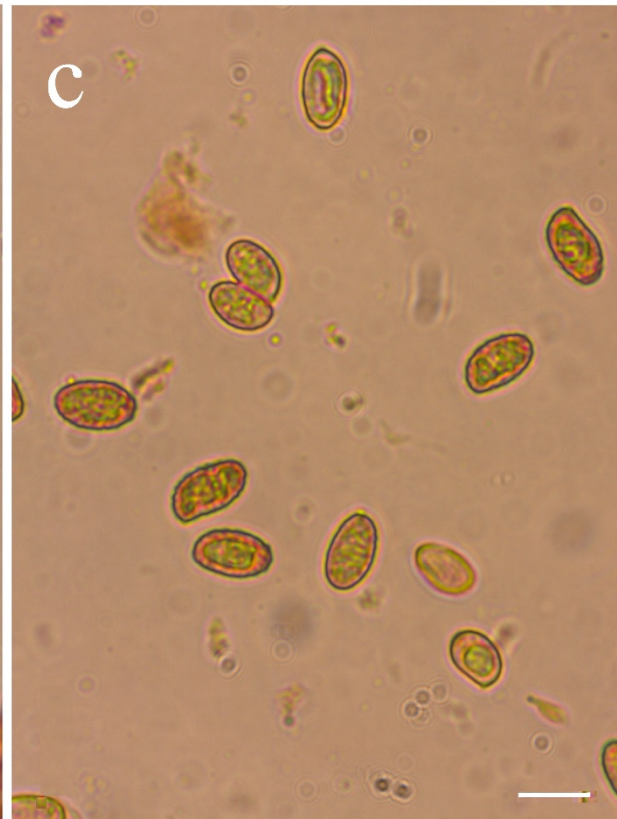
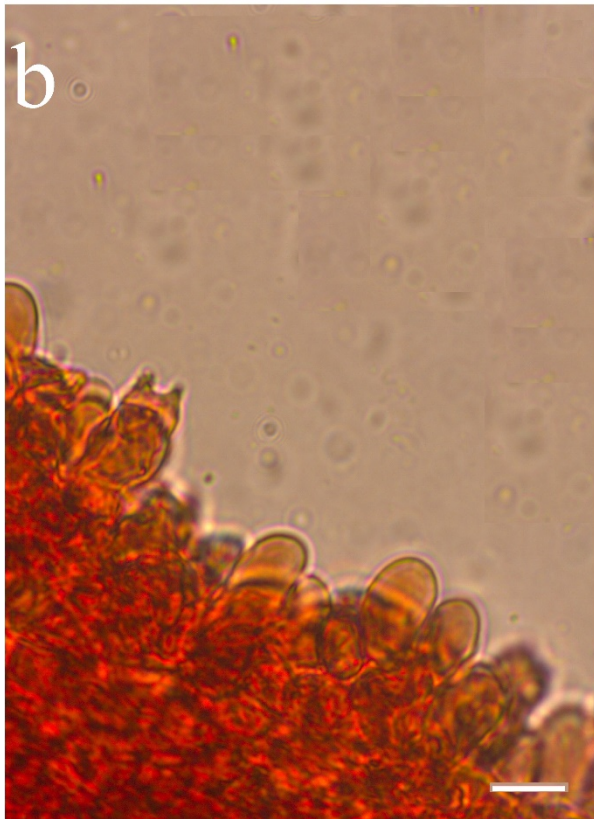
Şapka 40-70 mm, konveks, yüzeyi düz ve hafifçe parlak, bazen loblu, kenarı içeriye kıvrık, sarımsı kahverengi veya güderi rengindedir. **Lameller** grimsi beyaz ve hafifçe sap üzerine dökülmüştür. **Sap** yassılaştırmış silindir şeklinde, 40-60 x 10-20 mm, grimsi beyaz, tabanda genişlemiş ve daha koyudur. **Bazidiyosporlar** üçgenimsi, 7-9 x 4-7 mikrondur. **Bazidiyumlar** çomak şeklinde, 30-40 x 7-10 mikrondur.

İncelenen materyal: Trabzon, Hıdırnebi Yaylası, 40°57'43.71"K, 39°25'43.29"D, 1414 m, 01 Ekim 2016; gruplar halinde ladin (*Picea orientalis* L.) altında, Fatih Eğitim Fakültesi Kişisel Fungaryumu 3798.

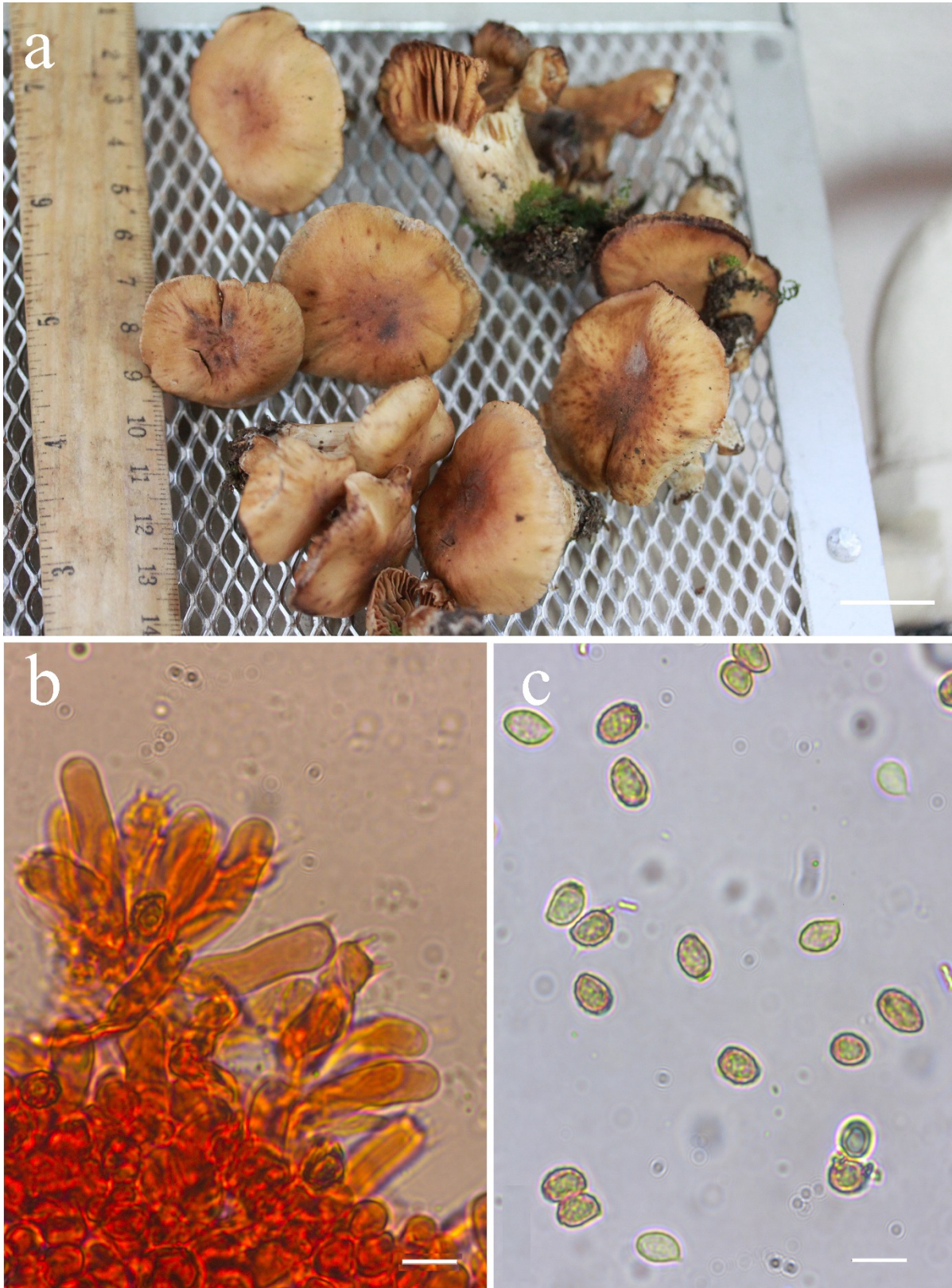
Tartışma

Cortinarius casimiri, *C. epipurrus* ve *Lyophyllum rhopalopodium* Türkiye mikotası için yeni kayıt olarak saptanmış (Sesli ve Denchev, 2008; Uzun ve ark., 2017), arazi ve mikroskopik resimlerle desteklenerek sunulmuştur. Çalışmanın materyali olan bazidiyokarpların diğer ülkelerden toplanarak yapılan tanımlamalarla karşılaştırılması sonucu, bazı küçük çevresel farklar dışında, benzerlik oranının oldukça yüksek olduğu saptanmıştır. Türkiye'den toplanan *C. casimiri* materyali biraz daha açık renklidir ve doğu ladinini altında yetişir (Breitenbach ve Kränzlin, 2000).

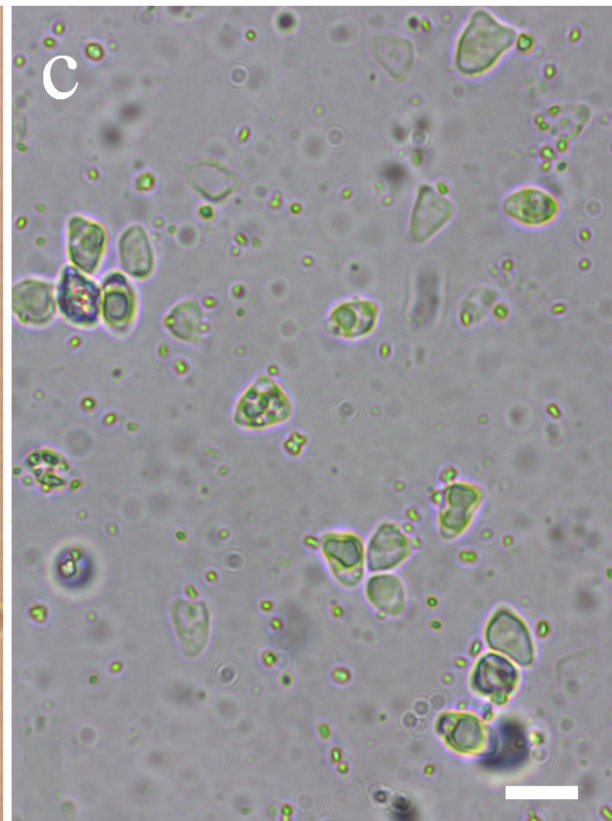
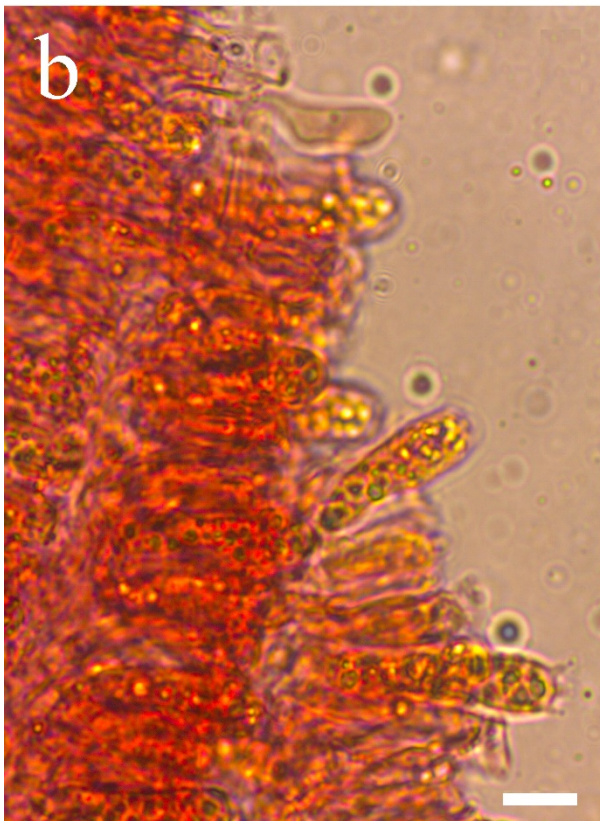
Lyophyllum rhopalopodium bazidiyokarplarının en tipik özelliği bazidiyosporlarının hiyalin, düz ve üçgen şekline benzer olmasıdır. Bu türe benzer başka bir tür (*L. transforme* (Britz.) Sing. = *Tricholoma trigonosporum* (Bres.) Rick.) daha önce Clémençon ve ark. (1986) tarafından tespit edilmiş olmasına rağmen, Türkiye örneğinin sapı daha kalın ve çomak şeklinde; lamelleri daha geniş ve yüzey yapısı daha farklıdır.



Şekil 1. *Cortinarius casimiri*: a. Bazidiyokarplar, b. Bazidiyumlar, C. Bazidiyosporlar (ölçek çubukları:a= 30 mm, b ve c= 10 mikron).



Şekil 2. *Cortinarius epipurpus*: a. Bazidiyokarplar, b. Bazidiyumlar, C. Bazidiyosporlar (ölçek çubukları: a= 25 mm, b ve c= 10 mikron).



Şekil 3. *Lyophyllum rhopalopodium*: a. Bazidiyokarplar, b. Bazidiyumlar, C. Bazidiyosporlar (ölçek çubukları: a= 30 mm, b ve c = 10 mikron).



Teşekkür

Bu araştırmanın finansmanı Karadeniz Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'nce (BAP

No: 11300) sağlanmıştır. Çalışmalarımıza moleküler yönden destek veren sayın Tuba Oyur Kurt'a (TRIOGEN) içtenlikle teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Akata I., *Macrofungus Diversity of Belgrad Forest (İstanbul)*, Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi, 17(1)150-164 (2017).
- Breitenbach J, Kränzlin F., *Fungi of Switzerland: A Contribution to the Knowledge of the Fungal Flora of Switzerland. Volume 5. Agarics Part 3. Cortinariaceae*, Edition Mykologia, Lucerne (2000).
- Clémençon H., *Schwärzende Lyophyllum-Arten Europas*, Z. Mykol., (52)61-84(1986).
- Consiglio, G., Antonini, D., Antonini, M., *Il genere Cortinarius in Italia*, Associazione Micologica Bresadola, Fondazione Centro Studi Micologici, Luglio (2006).
- Consiglio G., Contu, M., *Il genere Lyophyllum P.Karst. Emend. Kühner in Italia*, Riv. Micol., (45)99-181(2002).
- Doğan H.H., Kurt F., *New macrofungi records from Turkey and macrofungus diversity of Pozantı-Adana*, Turk J Bot, (40)209-217(2016).
- Kalamees K., *Palaearctic Lyophyllaceae (Tricholomatales) in Northern and Eastern Europe and Asia*, Scripta Mycologica, (18)1-135(2004).
- Kaşık G., Öztürk C., Aktaş S., Alkan S., Eroğlu G., *Kefe Yaylası (Denizli) yenen mantarları*, Mantar Dergisi, (4)19-27(2013).
- Niskanen T., Kytövuori I., Bendiksen E.K., Brandrud T.E., Frøslev T.G., Hoiland K., Jeppesen T.S., Liimatainen K., Lindström H., *Cortinarius (Pers.) Gray.*, Şu eserde: Knudsen H., Vesterholt J., (editors). *Funga Nordica*, Copenhagen, pp. 661-778(2008).
- 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>.
- Uzun Y., Acar İ., Akçay M.E., Kaya A., *Contributions to the macrofungi of Bingöl, Turkey*, Turk J Bot, (41) 516-534(2017).



Geliş(Received) :08/11/2017
Kabul(Accepted) :21/02/2018

Research Article
DOI:10.30708mantar.349957

***Marasmiellus vaillantii* (Pers.) Singer (Omphalotaceae), a New Record for the Turkish Mycota**

Yasin UZUN, Abdullah KAYA*

*Corresponding author: kayaabd@hotmail.com

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

Abstract: The marasmioid macrofungus species, *Marasmiellus vaillantii* (Pers.) Singer, was reported for the first time from Turkey. Short description of the taxon is provided together with its photographs related to macro and micromorphology.

Keywords: Macrofungi, new record, *Marasmiellus*, Turkey

***Marasmiellus vaillantii* (Pers.) Singer (Omphalotaceae), Türkiye Mikotası İçin Yeni Bir Kayıt**

Öz: Marasmioid bir makromantar türü olan *Marasmiellus vaillantii* (Pers.) Singer, Türkiye'den ilk kez rapor edilmiştir. Taksona ait kısa betim, türün makro ve mikromorfolojisine ilişkin fotoğrafları ile birlikte verilmiştir.

Anahtar kelimeler: Makromantarlar, yeni kayıt, *Marasmiellus*, Türkiye

Introduction

The genus *Marasmiellus* Murrill which was first established by Murrill (1915) is a widespread genus all over the world especially in tropics and subtropics, and plays important roles in ecosystem as a decomposer (Wilson and Desjardin, 2005; Takehashi et al., 2007). Though Kirk et al. (2008) mentions about the existence of 250 taxa, Wilson and Desjardin (2005) reports that it is currently been represented with more than 400 species. Until Moncalvo et al. (2002), the genus *Marasmiellus* has been positioned in *Tricholomataceae* Lotsy (Singer, 1973) and *Marasmiaceae* Roze ex Kuhner (Kirk et al., 2008) respectively. Members of the genus are mainly characterised by collybioid or omphalioid basidiocarps, white spore print, a cutis consisting of a pileipellis, sometimes with a transition to a trichoderm (Chun-Ying et al., 2011).

During routine field trips, carried out within the scope of a project aiming to determine the macrofungal diversity of Tonya (Trabzon) district, some *Marasmiellus* samples were collected and identified as *Marasmiellus vaillantii* (Pers.) Singer. Current checklists (Sesli and Denchev, 2014; Solak et al., 2015) and the latest contributions (Demirel et al., 2016; Akata and Sesli, 2017;

Akata and Uzun, 2017; Allı et al., 2017; Demirel et al., 2017; Işık and Türkekul, 2017; Kaşık et al., 2017; Öztürk et al., 2017; Sesli and Topçu Sesli, 2017; Sesli et al., 2017; Uzun and Demirel, 2017; Uzun and Kaya, 2017; Uzun et al., 2017a,b) indicated that, the taxon has not been reported from Turkey before.

The study aims to make a contribution to the mycobiota of Turkey.

Materials and Methods

Marasmiellus specimens used in this research were collected from Tonya district of Trabzon province in 2017. Necessary characteristics related to their morphology and ecology were recorded and they were photographed in their natural habitats. Then the collected specimens were transferred to the fungarium within paper bags. Micromorphologic investigations were carried out under Nikon Eclipse Ci trinocular light microscope. Identification were performed with the help of Noordeloos (1983), Breitenbach and Kränzlin (1991), Courtecuisse and Duhem (1995), Antonin and Noordeloos (2010). The samples are kept at Karamanoğlu Mehmetbey University, Kamil Özdağ Science Faculty, Department of Biology.



Results

The systematics of the taxon is given in accordance with Kirk et al. (2008) and the Index Fungorum (www.indexfungorum.org; accessed 1 October 2017). The taxon is presented with a brief description, habitat and locality.

Omphalotaceae Bresinsky

Marasmiellus Murrill

Marasmiellus vaillantii (Pers.) Singer

Syn: [*Agaricus angulatus* Batsch, *Agaricus ericetorum* f. *vaillantii* Pers., *Agaricus vaillantii* (Pers.) Fr., *Chamaeceras angulatus* (Batsch) Kuntze, *Chamaeceras vaillantii* (Pers.) Kuntze, *Marasmius angulatus* (Batsch) Berk. & Broome, *Marasmius vaillantii* (Pers.) Fr., *Psilocybe angulata* (Batsch) Singer]

Macroscopic features: Pileus 3-19 mm, convex when young, plano-convex or applanate when mature, some depressed at the center, surface dull, smooth to weakly or distinctly radially grooved, slightly wrinkled from margin halfway to the center, white to light or ochraceous-cream with a slightly darker center, margin thinner, acute, some slightly undulating. Flesh thin, taste and odor mushroomy. Lamellae distant, some forked or anastomosing, adnate to decurrent, sometimes adnexed to a pseudocollarium, concolorous with the pileus. Stipe 5-25 × 0.5-1.2 mm, cylindrical, slightly tapering towards the base, smooth to pruinose, concolorous with the lamellae at apex, increasingly reddish-brown to dark brown toward the base (Figure 1).

Microscopic features: Basidia 20-27 × 6-8 µm, clavate, four spored. Cheilocystidia 25-40 × 6-15 µm, clavate or coralloid with one or more finger or bladder like outgrowths (Figure 2a). Basidiospores 8-10 × 3.5-4.5 µm, cylindrical-elliptic to elliptic, smooth, hyaline, with one or two drops (Figure 2b).

Ecology: in moist or damp situations, on living and dead herbaceous plants especially monocotyledons, but also on leaves and woody litter of deciduous and coniferous trees (Breitenbach and Kranzlin, 1991; Courtecuisse and Duhem, 1995; Antonin and Noordeloos, 2010).

Specimen examined: Trabzon-Tonya, Kayacan village, mixed forest, on decaying *Rhododendron ponticum* L. twigs, 40°56'N-39°16'E, 870 m, 21.06.2017, Yuzun 5587.

Discussions

There isn't an independent study concerning the genus *Marasmiellus* in Turkey. So far four species have been recorded from Turkey. The first record, *Marasmiellus ramealis* (Bull.) Singer, was given by Sümer (1982) from western Black Sea Region. Pekşen et al. (2000) reported the second taxon, *Marasmiellus candidus* (Fr.) Singer, from Samsun province. The third and fourth *Marasmiellus* species to exist in Turkey were recorded from İzmir and İstanbul provinces by Solak et al. (1999) and Sesli et al. (2017) respectively.

Here we present *Marasmiellus vaillantii* (Pers.) Singer as the fifth member of the genus *Marasmiellus* in Turkey.

This species is well-characterized by its wrinkled pileus, usually with minute papilla, and pruinose stipe (Antonin and Noordeloos, 2010). It sometimes may occur in similar habitats with *M. ramealis*, but the above mentioned characters easily distinguish it from the latter species. Especially in terms of morphological characters, *M. radicolica* has similarities to *M. vaillantii*. However, *M. radicolica* has a non sulcate and non umbonate pileus, crowded and narrow lamellae, longer stipe, and grows on roots of *Picea* A.Dietrich. *M. vaillantii* also reminds *M. mesosporus*, but it clearly differs from *M. mesosporus* by the radial grooved, furrowed, or wrinkled pileus, somewhat smaller basidiospores (Takehashi et al., 2007; Breitenbach and Kranzlin, 1991; Antonin and Noordeloos, 1993).

Acknowledgement

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



Figure 1. Basidiocarps of *Marasmiellus vaillantii*

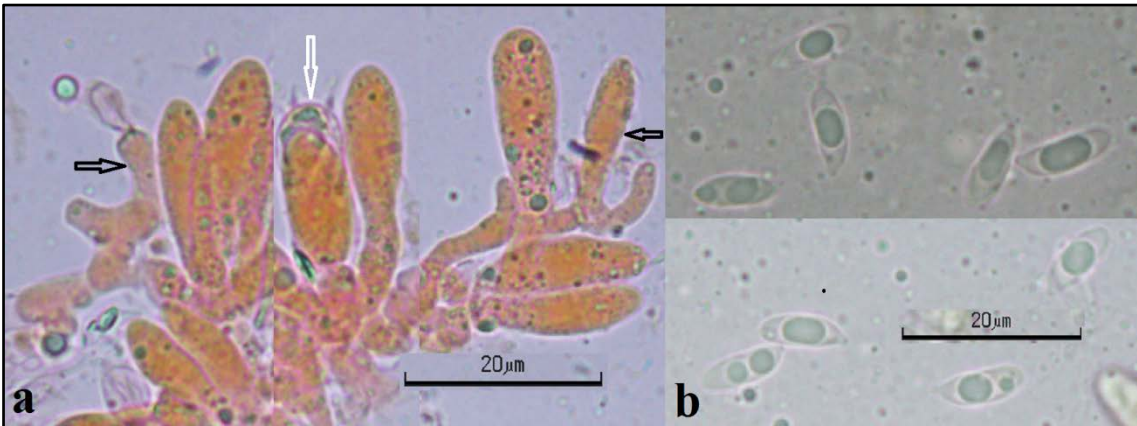


Figure 2. Basidia and cheilocystidia (a) and basidiospores (b) of *Marasmiellus vaillantii*

References

- Akata I., Sesli E. *Four New Records of Basidiomycota for the Turkish Mycota From Trabzon and İstanbul Provinces*. The Journal of Fungus, 8(2): 168-177 (2017).
- Akata I., Uzun Y. *Macrofungi Determined in Uzungöl Nature Park (Trabzon)*. Trakya University Journal of Natural Sciences, 18(1):15-24 (2017).
- Allı H., Candar S.S., Akata I. *Macrofungal Diversity of Yalova Province*. The Journal of Fungus, 8(2): 76-84(2017).
- Antonin V., Noordeloos M.E. *A monograph of marasmioid and collybioid fungi in Europe*. IHW Verlag Eching, Germany, 480 pp (2010).
- Antonin V., Noordeloos M.E. *A monograph of Marasmius, Collybia and related genera in Europe. Part 1: Marasmius, Setulipes, and Marasmiellus*. Lib Bot 8:157-163 (1993).



- Breitenbach J., Kränzlin F. *Fungi of Switzerland, Volume 3. Boletes and Agarics*, Switzerland: Verlag Mykologia (1991).
- Chun-Ying D., Tai-Hui L., Bin S. *A revised checklist of Marasmiellus for China Mainland*. Czech Mycology, 63(2): 203-214 (2011).
- Courtecuisse R., Duhem B. *Collins Field Guide. Mushrooms and Toadstools of Britain and Europe*. Harper Collins Publishers, London (1995).
- Demirel K., Acar İ., Ömeroğlu Boztepe G. *Macrofungi of Lice (Diyarbakır) District*. The Journal of Fungus, 7(1): 29-39 (2016).
- Demirel K., Uzun Y., Keleş A., Akçay M.E., Acar İ. *Macrofungi of Karagöl–Sahara National Park (Şavşat-Artvin/Turkey)*. Biological Diversity and Conservation, 10(2): 32-40 (2017).
- Işık H., Türkekul İ. *A new record for Turkish mycota from Akdağmadeni (Yozgat) province: Russula decolorans (Fr.) Fr.* Anatolian Journal of Botany, 1(1): 1-3 (2017).
- Kaşık G., Aktaş S., Alkan S., Öztürk C. *Additions to the Macrofungi of Selçuk University Alaeddin Keykubat Campus (Konya)*. The Journal of Fungus, 8(2): 129-136 (2017).
- Kirk P.M., Cannon P.F., Minter D.W., Stalpers J.A. *Dictionary of the Fungi*, 10th ed., CAB International Wallingford (2008).
- Moncalvo J.M., Vilgalys R., Redhead S.A., Johnson J.E., James T.Y., Aime C., Hofstetter V., Verduin S.J.W., Larsson E., Baroni T.J., Thorn R.G., Jacobsson S., Cléménçon H., Miller Jr. O.K. *One hundred and seventeen clades of euagarics*. Molecular Phylogenetics and Evolution, 23: 357-400 (2002).
- Murrill W.A. *Agaricaceae (pars)*. North American Flora 9(4): 237-296 (1915).
- Noordeloos M.E. *Notulae ad Floram Agaricinam Neerlandicam I-II, Marasmiellus, Macrocystidia and Rhodocybe*. Persoonia, 12(1): 31-49 (1983).
- Öztürk C., Pamukçu D., Aktaş S. *Macrofungi of Nallıhan (Ankara) District*. The Journal of Fungus, 8(1): 60-67 (2017).
- Pekşen A., Karaca G.H. *Macrofungi of Hacıosman forest (Samsun)*. The Herb Journal of Systematic Botany, 7(1): 211-218 (2000).
- Sesli E., Antonin V., Hughes KW. *Marasmiellus istanbulensis (Omphalotaceae), a new species from Belgrade Forest (Istanbul/Turkey)*. Plant Biosystems -An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology, DOI: 10.1080/11263504.2017.1317670. (2017).
- Sesli E., Topçu Sesli A. *Entoloma majaloides (Entolomataceae): A New Record for the Turkish Mycota*. The Journal of Fungus, 8(2): 85-89 (2017).
- 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).
- Singer R. *The genera Marasmiellus, Crepidotus and Symocybe in Neotropics*. Nova Hedwigia, 44:1-339 (1973).
- Solak M.H., Işiloğlu M., Gücin F. & Gökler I. *Macrofungi of İzmir Province*. Turkish Journal of Botany, 23(6): 383-390 (1999).
- Solak M.H., Işiloğlu M., Kalmış E., Allı H. *Macrofungi of Turkey, Checklist, Volume- II*. Üniversiteliler Ofset, Bornova, İzmir (2015).
- Sümer S. *Wood-decaying fungi in the western Black Sea Region of Turkey, especially in and around Bolu Province*. Journal of the Faculty of Forestry Istanbul University, İstanbul (1982).
- Takehashi S., Kasuya T., Kakishima M. *Marasmiellus mesosporus, a Marasmius-blight fungus newly recorded from sand dunes of the Japanese coast*. Mycoscience, 48: 407-410 (2007).
- Uzun Y., Kaya A. *A Hypogeous Lactarius sp., New to Turkish Mycobiota*. The Journal of Fungus, 8(2): 163-167 (2017).
- Uzun Y., Acar İ., Akçay M.E., Kaya A. *Contributions to the macrofungi of Bingöl, Turkey*. Turkish Journal of Botany, 41(5): 516-534 (2017a).
- Uzun Y., Demirel K. *A New Mycena Record for the Mycobiota of Turkey*. Anatolian Journal of Botany, 1(1): 9-11 (2017).
- Uzun Y., Kaya A., Karacan İ.H., Yakar S. *New additions to Turkish Agaricales*. Biological Diversity and Conservation, 10(2): 8-13 (2017b).
- Wilson A.W., Desjardin D.E. *Phylogenetic relationships in the gymnopoid and marasmioid fungi (Basidiomycetes, euagaric clade)*. Mycologia, 97: 667-679 (2005).



Geliş(Received) :07/02/2018
Kabul(Accepted) :13/03/2018

Research Article
DOI:10.30708/mantar.391682

High-Throughput Genomic Simple Sequence Repeat (SSR) Marker Development and Construction of a High Resolution Physical Map in Button Mushroom (*Agaricus bisporus*) Genome

Ali Tefvik UNCU*¹, Ayşe Özgür UNCU²

*Corresponding author: atuncu@konya.edu.tr

¹Necmettin Erbakan University, Department of Molecular Biology & Genetics, Meram, Konya, 42090, TURKEY

²Necmettin Erbakan University, Department of Biotechnology, Meram, Konya, 42090, TURKEY

Abstract: Button mushroom [*Agaricus bisporus* (J.E. Lange) Imbach], is both a model organism and a worldwide cultivated edible mushroom species. Despite its scientific and economic relevance, efforts to develop molecular markers in *A. bisporus* genome are scarce and relatively recent. The present research reports the development of 3943 novel simple sequence repeat (SSR) markers specific to the *A. bisporus* genome. The marker set is well-distributed among the 13 *A. bisporus* chromosomes, saturating the entire genome with sequence-specific markers. The large number of novel, *A. bisporus* specific DNA markers introduced in the present work constitute a valuable resource for molecular genetic research in button mushroom, including strain identification and protection, and gene/QTL (Quantitative Trait Locus) mapping.

Key words: Molecular genetics, Bioinformatics, Sequence-specific markers, DNA markers

Kültür Mantarı (*Agaricus bisporus*) Genomuna Özel Yüksek Miktarda Basit Dizi Tekrarı (SSR) Markörünün Geliştirilmesi ve Yüksek Çözünürlükte Fiziksel Genom Haritasının Oluşturulması

Öz: Kültür mantarı [*Agaricus bisporus* (J.E. Lange) Imbach], bir model organizma olmasının yanı sıra dünya genelinde yetiştirilen bir yenilebilir mantar türüdür. Bilimsel ve ekonomik önemine rağmen *A. bisporus* genomuna özel moleküler markör geliştirme çalışmaları ancak yakın zamanda gerçekleştirilmeye başlanmış olup, oldukça kısıtlı sayıdadır. Bu çalışma kapsamında *A. bisporus* genomuna özel 3943 adet yeni basit dizi tekrarı (SSR) markörü geliştirilmiştir. Geliştirilen markörler *A. bisporus* kromozomlarına dengeli şekilde dağılmakta olup, genomun sekans-spesifik markörler ile doyurulmasını sağlamaktadır. Çalışma kapsamında tanıtılmakta olan yüksek sayıdaki *A. bisporus*'a özel yeni DNA markörü, bu türde gerçekleştirilecek moleküler genetik çalışmalar için kıymetli bir kaynak teşkil edecektir.

Anahtar kelimeler: Moleküler genetik, Biyoinformatik, Sekans-spesifik markörler, DNA markörleri

Introduction

Button mushroom [*Agaricus bisporus* (J.E. Lange) Imbach], also referred to as common mushroom, is the most commonly cultivated edible mushroom species (Barroso et al., 2000; Foulongne-Oriol et al., 2012). In addition, it is the model fungus species for fungal adaptation, persistence and growth in humic-rich

environments (Morin et al., 2012; Heneghan et al., 2016). Despite its role as a model organism and economic value due to its widespread cultivation as the predominant edible mushroom in European countries and USA, molecular genetic research in *A. bisporus* has been quite limited. While gene and QTL (Quantitative Trait Loci) mapping became the standard approach in modern plant and



animal breeding, mapping traits in fungal genomes is a relatively recent research objective (Foulongne-Oriol et al., 2012). Molecular markers are unquestionably the indispensable tools of modern breeding (Jones et al., 2009). Thus, an abundance of molecular markers specific for plant and animal genomes were developed and have been utilized for the improvement of cultivated crops and livestock. On the other hand, DNA markers specific to the *A. bisporus* genome are limited. Because linkage drag is a prominent problem that impairs breeding of improved button mushroom cultivars (Gao et al., 2016), saturating *A. bisporus* chromosomes with molecular markers would be highly useful to monitor the segregation of linked loci in high resolution and determine the desired recombinants. Yet, molecular breeding of white button mushroom toward improved yield, resistance to bacterial and fungal diseases, and technological properties (e.g. amenability to mechanical harvest) has not been properly established. For example, bacterial and fungal diseases are among major causes of yield loss, shortened shelf life and decreased quality in button mushroom cultivation (Samuels et al., 2002; Sokovic and Van Griensven, 2006; Berendsen et al., 2010). Major pathogens of button mushroom are listed as the bacterium *Pseudomonas tolaasii* Paine; the fungal species *Lecanicillium fungicola* (Preuss) Zare and W. Gams, and *Trichoderma harzianum* Rifai. On the other hand, there is lack of molecular genetic research to identify genes/QTLs that confer resistance to the above listed pathogens. Similarly, work that identified yield related molecular markers is extremely scarce. In addition to traits related to disease resistance and yield, it has to be noted that button mushroom is reported as a source of health beneficial dietary fibers and antioxidants (Jeong et al., 2010; Liu et al., 2013), therefore, traits regarding nutritional quality are also potential targets of breeding. Thus, molecular genetic research to dissect the genetic basis of nutritionally important traits in button mushroom is also required.

With the recent advances in high throughput DNA sequencing technologies, vast amount of genomic data is continuously being generated and deposited in publicly available databases (Uncu et al., 2015a), enabling *in silico* design of genome-specific molecular markers using bioinformatic approaches. Entire genomes can be surveyed for the high-throughput identification of molecular markers that represent the genomes of the relevant species in high-resolution. A draft genome

assembly of *A. bisporus* is available since 2012 (Morin et al., 2012), and the latest assembly that correctly represents the 13 chromosomes was recently published (Sonnenberg et al., 2016). Thus, it is now feasible to develop sequence-specific molecular markers and saturate the *A. bisporus* genome, which will greatly contribute to studies on chromosomal recombination and segregation patterns, as well as strain selection, conservation and molecular breeding efforts.

According to the common definition, SSRs (Simple Sequence Repeats) are iterations of short DNA motifs (Jones et al., 2009), where motif size ranges from one to eight bases. SSRs found wide applications in molecular genetics since they are highly polymorphic, reproducible and provide extensive genome coverage (Uncu et al., 2015b). In the present work, SSR (Simple Sequence Repeat) markers specific to the *A. bisporus* genome were developed via bioinformatics, by mining the recently released genome assembly for tandem repeat sequences. As a result, 4138 SSR loci were identified within the *A. bisporus* genome. In order to convert the SSR loci to markers, primers were designed that flank the repeat sequences. e-PCR was performed to confirm the amplifiability of the marker loci *in silico*, and it was feasible to further verify the e-PCR results with wet-lab experiments.

Material and Method

Simple sequence repeat identification

Chromosome assemblies of *A. bisporus* var. *bisporus* strain H39 (GenBank: CP015470.1 - CP015482.1) were retrieved from NCBI Genome Database (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/>) as individual files in FASTA format. GMATA (Genome-wide Microsatellite Analyzing Tool Package) (Wang and Wang, 2016) software was utilized for mining the chromosome sequences for simple sequence repeats and, designing and mapping flanking amplification primers. Because GMATA requires Perl, R and Java running environments, the three programs were installed prior to running the software. For simple sequence repeat identification, FASTA files for individual chromosomes were imported to the 'SSR identification' module of the GMATA software. Parameters used for mining mononucleotide repeats were; Min-length (nt): 1, Max-length (nt): 1, Min. repeat-times: 8. Parameters for oligonucleotide repeat



identification were; Min-length (nt): 2, Max-length (nt): 8, Min. repeat-times: 5. SSR loci information files (.ssr) were generated individually for each chromosome that contained the SSR start & end positions, motifs and number of repeats.

Marker design and mapping

'Marker designing' module of GMATA was utilized in order to design PCR markers for the identified SSR loci. For each chromosome, assembly files in FASTA format and output files generated by the 'SSR identification' module (.ssr) were imported to the module as the 'Sequence file' and the 'SSR loci file', respectively. Marker design parameters were adjusted as: Min. amplicon size: 100 bp, Max amplicon size: 300 bp, Optimal annealing T_m: 60 °C, Flanking sequence length: 400 bp, Max template length: 2000 bp. Two output files with .mk and .sts extensions were generated for each chromosome, which contained left and right primer sequences, calculated melting temperatures, primer locations and anticipated product sizes. 'e-mapping' module of the GMATA software was utilized to run the e-PCR algorithm (Schuler, 1997). The algorithm conducted *in silico* PCR, generating the amplicons and mapping the markers. For each chromosome, the FASTA file that contains the entire chromosome sequence and the .sts file that contains primer sequences were imported as the 'Sequence file' and the 'Marker file', respectively. Default parameters of GMATA were used for e-mapping. Marker position information for each chromosome was obtained in .emap format. MapChart 2.3 computer program (Voorrips 2002) was used to visualize the physical map of the *A. bisporus* genome constructed based on the absolute positions of mapped simple sequence repeat loci.

DNA extraction, simple sequence repeat amplification and genotyping

Fresh fruiting bodies of *A. bisporus* were prepared for DNA extraction as described by Loftus et al. (1988), with minor modifications. DNA was extracted using a CTAB protocol. Briefly, fruiting bodies were cut into coarse pieces and ground in liquid nitrogen using a mortar and pestle. Ground tissue (200 mg) was taken to a 2 ml centrifuge tube, mixed with 800 µL of CTAB buffer [100 mM Tris-HCl (pH 8.0), 20 mM EDTA (pH 8.0), 1.4 M NaCl, 2% (w/v) CTAB, 1% PVP] and incubated at 65 °C for 1 h. Following incubation, 600 µL of chloroform:isoamyl alcohol

(24:1) was added and the samples were centrifuged at 14,000 rpm for 10 min at room temperature. DNA in the supernatant phase was precipitated by incubating at 4 °C for 60 min with 200 µL of isopropanol. DNA pellets were obtained by centrifugation at 4 °C for 10 min at 14,000 rpm. Pellets were washed with 100 µL of 70% ethanol, then dried, and suspended in 100 µL of Tris-EDTA buffer (pH 8.0).

SSR marker fragments were amplified in 20 µL reaction mixtures that contained 1× Colorless GoTaq Flexi PCR buffer (Promega Corp., Madison, WI, USA), 1.5 mM MgCl₂, 0.25 mM of each deoxyribonucleotide triphosphate (dNTP) (Promega Corp.), 1 U GoTaq G2 Flexi DNA Polymerase (Promega Corp.), 0.25 µM of each primer, and 10 ng of DNA as template. Thermal cycling conditions consisted of one cycle of initial denaturation for 30 s at 98 °C, followed by 40 cycles of 98 °C for 10 s, 58 °C for 20 s, 72 °C for 30 s, with a final extension step of 2 min at 72 °C.

Amplified marker fragments were subjected to capillary electrophoresis analysis. PCR amplicons were directly loaded to the Qiaxcel Advanced capillary electrophoresis system (Qiagen, Valencia, CA) and run using a Qiaxcel DNA High Resolution Kit (Qiagen). QX DNA Size Marker 25–500 bp, v2.0 (Qiagen), was used as the size standard, and QX Alignment Marker 15 bp/600 bp (Qiagen) was used for size standard alignment. The high-resolution run method OM800 was applied with a sample injection time of 10 s. Marker amplicons were visualized using the QIAxcel ScreenGel Software (Qiagen).

Results and Discussion

Simple sequence repeat identification

A. bisporus genome assembly is comprised of 30.8 megabases (Mb) of sequence distributed over the 13 chromosomes (Sonnenberg et al., 2016). In the present work, simple sequence repeat mining in the *A. bisporus* genome resulted in the identification of 4138 SSR loci, corresponding to an average marker density of 7.31 kilobases (kb) per marker interval (Table 1). The highest number of SSRs (439 SSRs) was identified in chromosome 1 whereas the lowest number of repeat loci (233 SSRs) was identified in chromosome 10. When individual chromosomes were evaluated for simple sequence repeat frequency, chromosome 13 displayed the highest SSR frequency of 5.16 kb/marker interval and chromosome 2 displayed the lowest SSR density of 9.13



kb between adjacent markers (Table 1). Physical map of the *A. bisporus* genome, constructed based on the absolute positions of the SSR loci along the 13 chromosomes, is displayed in Figure 1. Data regarding the physical map (simple sequence repeat motifs, amplification primers for each motif and absolute marker positions on each chromosome) are provided in Excel format as 'Electronic Supplementary Material'. Figure 1 displays the homogeneity of marker distribution along physical chromosomes.

There is a single report on genome wide simple sequence repeat identification in button mushroom, where the previous, unrepaired version of the *A. bisporus* genome assembly was surveyed for simple sequence repeat loci (Foulongne-Oriol et al., 2013). While some chromosomal segments were mislocated in the assembly and later corrected (Sonnenberg et al., 2016), the study provided valuable information regarding repeat abundance in the *A. bisporus* genome. On the other hand, SSR loci were not converted to PCR markers in the study. Foulongne-Oriol et al. (2013) reported an SSR density of 7.4 kb/marker interval with 4062 microsatellite loci, which indicate similar overall SSR abundance values with the present study. In addition, in concordance with the findings of the present research, Foulongne-Oriol et al. (2013) reported the highest and lowest SSR densities for chromosomes 13 and 2, respectively.

In the present research, among the 4138 SSR loci identified in the *A. bisporus* genome, mononucleotide repeats were predominant and represented 49.78% of the total number of SSRs (Table 2). Because mononucleotide repeats do not exert a functional constraint on most genomic sequences (introns and intergenic sequences), it is likely that SSR searches in genomes will yield mononucleotide SSRs as the most abundant motif type (Gu et al., 2010). In contrast, when SSR searches are restricted to coding sequences, it is reasonable to anticipate trinucleotide repeats as the predominant SSR type, since repeats that cause frameshift mutations are likely to get eliminated (Celik et al., 2014). According to the results of our SSR survey, dinucleotide motifs constituted the second most abundant simple sequence repeat type in the *A. bisporus* genome, corresponding to 30.52% of the identified SSRs (Table 2). The sum of mono-, di- and

trinucleotide SSRs was 4071, representing 98.38% of the total number of SSRs. Thus, simple sequence repeats in the *A. bisporus* genome were mainly iterations of one to three nucleotides and repeats of motifs longer than trinucleotide represented only 1.62% of the identified SSRs (Table 2). Our results were in agreement with Foulongne-Oriol et al. (2013), who reported a similar pattern of SSR motif abundance in the *A. bisporus* genome. In agreement with the relevant literature regarding genome wide SSR surveys (Uncu et al. 2015b), majority of the mononucleotide repeats were stretches of A/T nucleotides and constituted 46.45% of the identified SSRs. The second most abundant repeat motif was TC/GA with a relative abundance of 8.72% among *A. bisporus* genomic SSRs (Table 3).

Marker design and experimental validation

Marker design through GMATA software was performed on the 4138 recently identified SSR loci. Simple sequence repeats that were located on chromosomal ends were not suitable for primer design, therefore eliminated by the marker design algorithm. As a result, a total of 3943 primer pairs that amplify SSR fragments from the *A. bisporus* genome were generated. Marker distribution over the 13 *A. bisporus* chromosomes is displayed in Table 1. Amplifiability of the newly developed markers was verified *in silico* by e-mapping. Primer sequences, repeat motifs and genomic locations of the entire set of markers (3943 markers) are provided in Excel format as 'Electronic Supplementary Material'. Amplifiability of a total of 39 randomly selected marker loci (three SSR markers per chromosome) was experimentally evaluated in order to confirm the results obtained by e-mapping. SSR fragments were visualized in high resolution with a capillary electrophoresis system. Capillary electropherograms displaying a representative set of six SSR markers is provided in Figure 2. As a result, the entire set of tested SSR markers yielded amplification products, as expected. In addition, the experimentally obtained product sizes matched those calculated by the e-mapping algorithm. Thus, it was valuable to experimentally evaluate the newly designed markers and confirm the results obtained by primer design and e-mapping.

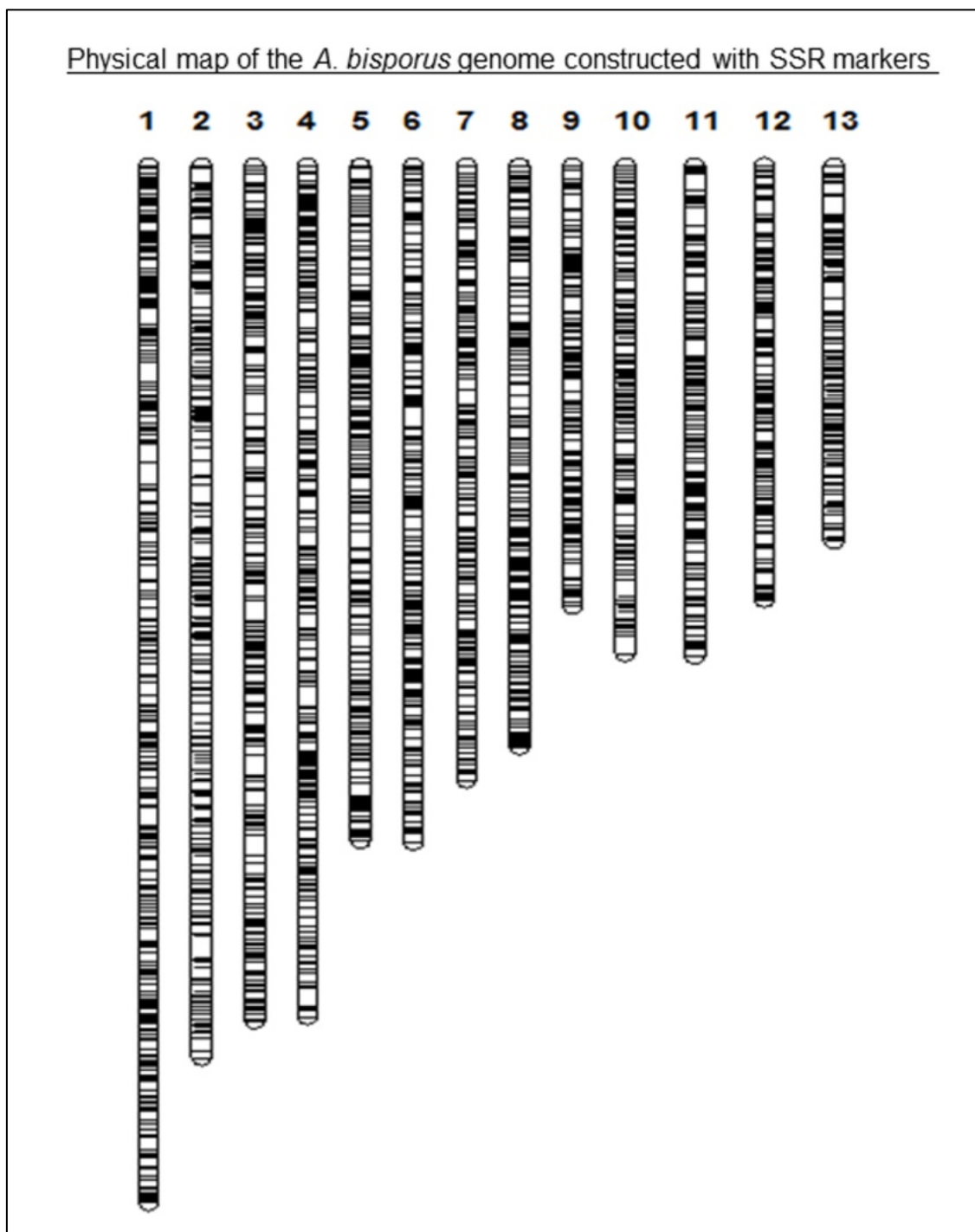


Figure 1. Physical map of the *A. bisporus* genome constructed with SSR markers. Numbers refer to *A. bisporus* chromosomes. Black bars represent simple sequence repeat loci. Primer and genomic location information for each SSR locus is provided in 'Electronic Supplementary Material'.

Table 1. Simple sequence repeat (SSR) identification statistics in *A. bisporus* genome.



Chromosome	Located SSRs	SSR density (kb)	SSR marker ^a
1	439	8.61047836	422
2	355	9.126760563	346
3	387	8.087855297	370
4	393	7.938931298	377
5	310	8	299
6	332	7.469879518	317
7	285	7.824561404	270
8	328	6.585365854	311
9	268	6.044776119	249
10	233	7.682403433	222
11	274	6.496350365	260
12	262	6.030534351	253
13	273	5.164835165	247

^aNumber of SSR markers designed per chromosome.

Table 2. Simple sequence repeat (SSR) types in *A. bisporus* genome.

Motif length	Number of occurrences	Frequency (%)
Mononucleotide	2060	49.78
Dinucleotide	1263	30.52
Trinucleotide	748	18.08
Tetranucleotide	21	0.51
Pentanucleotide	7	0.17
Hexanucleotide	25	0.6
Heptanucleotide	3	0.07
Octanucleotide	11	0.27
Total	4138	100

Table 3. Most abundant SSR motifs.

SSR motif	Number of SSRs	Motif frequency ^a (%)
A/T	1922	46.45
TC/GA	361	8.72
CT/AG	233	5.63
AT	209	5.05

^aOnly motifs with a frequency ≥ 0.05 are listed.



The first tandem repeat sequence was cloned from the *A. bisporus* genome in 2000 (Barroso et al., 2000), followed by the development of a set of 33 SSR markers (Foulongne-Oriol et al 2009). The high abundance of simple sequence repeats in the *A. bisporus* genome was displayed later by Foulongne-Oriol et al. (2013), yet, the work did not involve marker design but introduced repeat bearing loci as candidates for future marker development. Thus, a database of *A. bisporus* specific markers with high

genome coverage has not been reported before the present study. As a result of the present work, it was feasible to develop a total of 3943 novel, sequence-specific SSR markers that provide a high-resolution coverage of the *A. bisporus* genome. Absolute genomic positions and primer sequences of the 3943 novel SSR markers are available for researchers who conduct molecular genetic research in the important mushroom species.

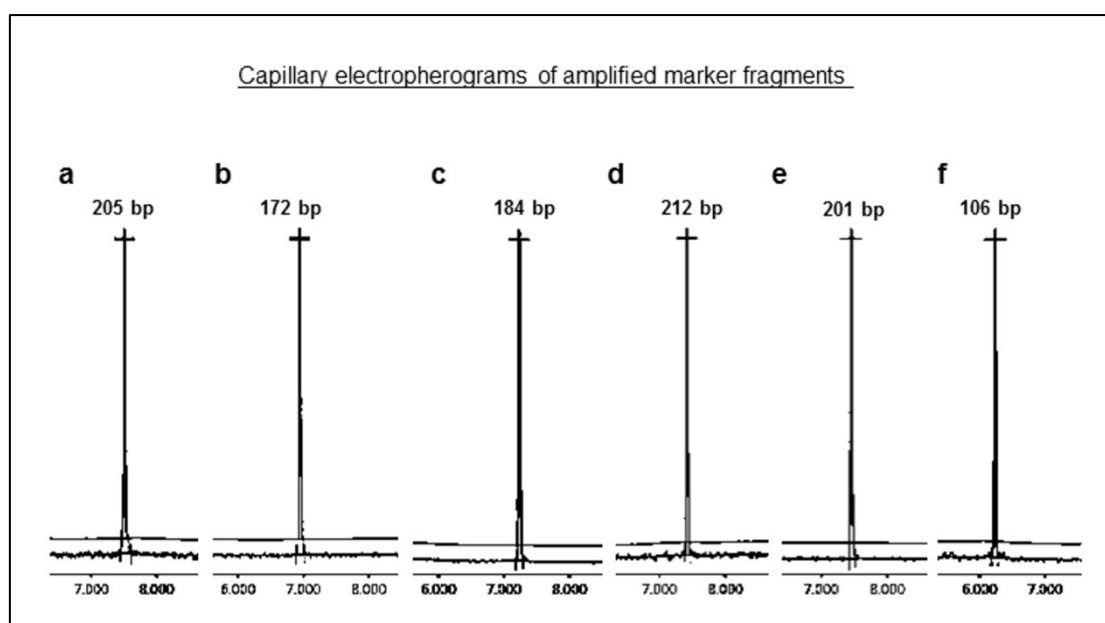


Figure 2. Capillary electropherograms displaying the amplification profiles of six *A. bisporus* SSR markers. Marker information is as follows: a, Chromosome 1, MK111, mononucleotide SSR (A/T); b, Chromosome 1, MK193, dinucleotide SSR (AT); c, Chromosome 5, MK139, mononucleotide SSR (A/T); d, Chromosome 5, MK72, mononucleotide SSR (A/T); e, Chromosome 5, MK50, trinucleotide SSR (ATG/CAT); f, Chromosome 12, MK14, dinucleotide SSR (TG/CA).

References

- Celik I, Gultekin V., Allmer J., Doganlar S., Frary A., Development of genomic simple sequence repeat markers in opium poppy by next-generation sequencing, *Molecular Breeding*, 34(2), 323-334 (2014).
- Barroso G., Sonnenberg A. S. M., Van Griensven L. J. L. D., Labarère J., *Molecular cloning of a widely distributed microsatellite core sequence from the cultivated mushroom Agaricus bisporus*, *Fungal Genetics and Biology*, 31, 115-123 (2000).
- Berendsen R. L., Baars J. J. P., Kalkhove S. I. C., Lugones L. G., Wösten H. A. B., Bakker P. A. H. M., *Pathogen profile Lecanicillium fungicola: causal agent of dry bubble disease in white-button mushroom*, *Molecular Plant Pathology*, 11(5), 585-595 (2010).
- Foulongne-Oriol M., Spataro C., Savoie J. M., *Novel microsatellite markers suitable for genetic studies in the white button mushroom Agaricus bisporus*, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 84, 1125-1135 (2009).
- Foulongne-Oriol M., Rodier A., Rousseau T., Savoie J. M., *QTL mapping of yield-related components and oligogenic control of the cap colour in the button mushroom Agaricus bisporus*, *Applied and Environmental Microbiology*, 78(7), 2422-2434 (2012).
- Foulongne-Oriol M., Murat C., Castanera R., Ramírez L., Sonnenberg A. S. M., *Genome-wide survey of repetitive DNA elements in the button mushroom Agaricus bisporus*, *Fungal Genetics and Biology*, 55, 6-21 (2013).
- Gao W., Baars J. J. P., Maliepaard C., Visser R. G. F., Zhang J., Sonnenberg A. S. M., *Multi-trait QTL analysis for agronomic and quality characters of Agaricus bisporus (button mushrooms)*, *AMB Express*, 6(1), 67 (2016).



- Gu T., Tan S., Gou X., Araki H., Tian D., Avoidance of long mononucleotide repeats in codon pair usage, *Genetics*, 186, 1077-1084 (2010).
- Heneghan M. N., Burns C., Costa A. M. S. B., Burton K. S., Challen M. P., Bailey M., Foster G. D., *Functional analysis of Agaricus bisporus serine proteinase 1 reveals roles in utilization of humic rich substrates and adaptation to the leaf-litter ecological niche*, *Environmental Microbiology*, 18(12), 4687-4696 (2016).
- Jeong S. C., Jeong Y. T., Yang B. K., Islam R., Koyyalamudi S. R., Pang G., Cho K. Y., Song C. H., *White button mushroom (Agaricus bisporus) lowers blood glucose and cholesterol levels in diabetic and hypercholesterolemic rats*, *Nutrition Research*, 30, 49-56 (2010).
- Jones, N., Ougham H., Thomas H., Pasakinskiene I., *Markers and mapping revisited: Finding your gene*, *New Phytologist*, 183, 935-966 (2009).
- Liu J., Jia L., Kan J., Jin C. H., *In vitro and in vivo antioxidant activity of ethanolic extract of white button mushroom (Agaricus bisporus)*, *Food and Chemical Toxicology*, 51, 310-316 (2013).
- Loftus M.G., Moore D., Elliott T. J., *DNA polymorphisms in commercial and wild strains of the cultivated mushroom, Agaricus bisporus*, *Theoretical and Applied Genetics*, 76, 712-718 (1988).
- Morin E., Kohler A., Baker A. R., Foulongne-Oriol M., Lombard V., Nagy L. G., et al. *Genome sequence of the button mushroom Agaricus bisporus reveals mechanisms governing adaptation to a humic-rich ecological niche*, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(43), 17501-17506 (2012).
- Samuels G. J., Dodd S. L., Gams W., Castlebury L. A., Petrini O., *Trichoderma species associated with the green mold epidemic of commercially grown Agaricus bisporus*, *Mycologia*, 94(1), 146-170 (2002).
- Schuler G. D., *Sequence mapping by electronic PCR*, *Genome Research*, 7, 541-550 (1997).
- Sokovic M., Van Griensven L. J. L. D., *Antimicrobial activity of essential oils and their components against the three major pathogens of the cultivated button mushroom, Agaricus bisporus*, *European Journal of Plant Pathology*, 116, 211-224 (2006).
- Sonnenberg A. S. M., Gao W., Lavrijssen B., Hendrickx P., Sedaghat-Tellgerd N., Foulongne-Oriol M., et al. *A detailed analysis of the recombination landscape of the button mushroom Agaricus bisporus var. bisporus*, *Fungal Genetics and Biology*, 93, 35-45 (2016).
- Uncu A. O., Uncu A. T., Celik, İ., Doganlar S., Frary A., *A primer to molecular phylogenetic analysis in plants*, *Critical Reviews in Plant Sciences*, 34, 454-468 (2015a).
- Uncu A. O., Gultekin V., Allmer J., Frary A., Doganlar S., *Genomic simple sequence repeat markers reveal patterns of genetic relatedness and diversity in sesame*, *The Plant Genome*, 8, doi: 10.3835/plantgenome2014.11.0087 (2015b).
- Voorrips R. E., *MapChart: software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs*, *Journal of Heredity*, 93, 77-78 (2002).
- Wang X., Wang L., *GMATA: An integrated software package for genome-scale SSR mining, marker development and viewing*, *Frontiers in Plant Science*, 7, 1350 (2016).



Geliş(Received) :03/02/2018
Kabul(Accepted) :14/03/2018

Research Article
DOI:10.307/mantar.389777

A New Genus Record For Turkish Clathroid Fungi

Ilgaz AKATA*¹, Cem Tolga GÜRKANLI²

*Corresponding author: akata@science.ankara.edu.tr

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

²Ordu University, Fatsa Faculty of Marine Sciences, Department of Fisheries Technology Engineering, Ordu, Turkey

Abstract: This study is based on the clathroid fungi samples collected from Edirne province in November 2017. As a result of field and laboratory studies, *Colus hirudinosus* Cavalier & Séchier belonging to the family *Phallaceae* Corda was reported as a new record at genus level for Turkish clathroid fungi. Short description of the newly reported species was given together with its photographs related to macro and micromorphologies and discussed briefly.

Key words: *Colus hirudinosus*, clathroid fungi, new record, Turkey

Türkiye Clathroid Mantarları İçin Yeni Bir Cins Kaydı

Öz: Bu çalışma Edirne yöresinden Kasım 2017'de toplanan clathroid mantar örneklerine dayanmaktadır. Arazi ve laboratuvar çalışmaları sonucunda, *Phallaceae* Corda familyasına mensup *Colus hirudinosus* Cavalier & Séchier Türkiye clathroid mantarları için cins düzeyinde yeni kayıt olarak rapor edilmiştir. Yeni kayıt türün kısa betimlemesi, makro ve mikro morfolojilerine ilişkin fotoğrafları ile birlikte verilmiş ve kısaca tartışılmıştır.

Anahtar kelimeler: *Colus hirudinosus*, clathroid mantarlar, yeni kayıt, Türkiye

Introduction

Clathroid fungi, commonly known as cage fungi, is a group of the family *Phallaceae*, members of which possess an interesting strategy to disperse their spores by several kinds of insects as dispersal agents, especially via *Diptera* species. They have wide geographical distribution, however, they can be recognized in temperate as well as tropical regions (Gaona et al., 2017; Baseia et al., 2006). The Family *Phallaceae* is consisted of clathroid and phalloid members due to their branched and unbranched basidiomata (Cabral et al., 2012). While phalloid fungi have unbranched basidiomata with a cylindrical, hollow pseudostipe and mucilaginous gleba covering external surface of the receptacle, clathroid fungi have branched basidiomata with globose to star like receptacle whose internal surface is covered by mucilaginous gleba (Calonge, 1998; Gaona et al., 2017).

Colus is a genus of clathroid fungi and it includes 7 (*Colus giganteus* Dörfelt & Bumžaa, *C. hirudinosus* Cavalier & Séchier, *C. muelleri* E. Fisch., *C. pusillus*

(Berk.) Reichert, *C. stahelii* (E. Fisch.) Reichert, *C. subpusillus* Dring, *C. treubii* (C. Bernard) Reichert) currently existing species (Url1). The genus is primarily characterized by branched basidiomata with ovoid to pyriform receptacle, rudimentary pseudostipe with whitish to greyish volva, olive to olive brown, mucilaginous gleba covering internal surface of the arched reticulum, hyaline, smooth and ellipsoid spores (Calonge, 1998).

According to the literature (Akata, 2017; Akata and Doğan, 2011; Akata and Uzun, 2017; Allı et al., 2007; 2017; Baydar and Sesli, 1994; Selik and Sümer 1982; Sesli and Denchev 2008) 3 clathroid fungi members (*Anthurus muellerianus* Kalchbr, *Clathrus ruber* P. Micheli ex Pers. and *Pseudocolus fusiformis* (E. Fisch.) Lloyd) have thus far been reported from Turkey, but there is not any record related to the genus *Colus* Cavalier & Séchier in Turkey.

The purpose of the present study is to make a contribution to the Turkish mycobiota.



Materials and Methods

Fungal samples were collected from Edirne province (Turkey) on 24 November 2017. Relevant macroscopic and ecological properties of the samples were noted and they were photographed in the field. Afterwards, the samples were taken to the herbarium for further investigation. Microstructural data was obtained and micrographs of basidiospores were taken with "Leica DM 1000" bright field light microscope. The identification of the species was performed according to Calonge (1998). The identified samples were prepared as herbarium materials and kept at Ankara University Herbarium (ANK).

Results

Phallaceae Corda

Colus Cavalier & Séchie

Colus hirudinosus Cavalier & Séchier (Fig. 1).

Immature basidiomata 15-25mm broad, globose to ovoid, resembling egg shaped, exoperidium membranous, whitish to pinkish, smooth, endoperidium mucilaginous. Mature basidiomata 40-60 × 20-30mm, receptacle pyriform, with an apical arched bright red reticulum, the meshes are polygonal, 6-7 pinkish to pale orange columnar elements fusing at the base to form the pseudostipe within the volva. Gleba olive to brownish olive, mucilaginous covering internal surface of the reticulum with repellent odour. Flesh spongy. Basidia not observed. Basidiospores 4.5-6 × 1-2µm, cylindrical to ellipsoid, smooth, hyaline.



Figure 1. *Colus hirudinosus*: a. immature basidiomata, b-e. mature basidiomata, f. basidiospores.



Ecology: Autumn, solitary or scattered, on soil, gardens, pathways, open forest and woodland (Calonge 1998).

Specimen examined: TURKEY- Edirne, Musabeyli village, in pastureland, near pine, on soil, among grasses, 41°42'3.85" N - 26°40'48.30" E, 123m, 24 November 2017, leg. Akata & Gürkanlı, Akata 7017.

Discussion

Colus hirudinosus is characterized by branched, pyriform basidiomata with an apical arched reticulum, carrying the gleba on the internal surface, sustained by 4-8 column-like elements. *Colus pusillus* (Berk.) Reichert macroscopically resembles *C. hirudinosus* due to their similar size, structure and coloration but the mesh-like structure at the apex of the former species is much larger and more open (Calonge 1998). *Clathrus ruber* P. Micheli

ex Pers. can also be confused with *C. hirudinosus* in terms of their morphology and ecology but *C. ruber* has larger basidiomata with a different receptacle (Pegler et al., 1995).

With this study, *Colus hirudinosus* Cavalier & Séchier was recorded for the first time from Turkey at the genus level and it will be the 4th member of Turkish clathroid fungi.

Acknowledgements

We would like to thank Belkıs Göçmen and Gürkan Göçmen for their valuable help in field study and taking macroscopic photos of the fresh samples in their natural habitat. We are also thankful to Naim Güleç for his contribution to the preparation of the collected samples as herbarium materials.

References

- Akata I., *Macrofungi Diversity of Belgrad Forest (İstanbul)*, Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi, 17(1)150-164(2017).
- Akata I., Doğan H.H., *Pseudocolus fusiformis, an uncommon stinkhorn new to Turkish mycobiota*. Mycotaxon, 115: 259-262(2011).
- Akata I., Uzun Y., *Macrofungi determined in Uzungöl Nature Park (Trabzon)*, Trakya University Journal of Natural Sciences, 18(1):15-24(2017).
- Allı H., Işıloğlu M., Solak H., *Macrofungi of Aydın Province, Turkey*. Mycotaxon, 99:163-165(2007).
- Allı H., Candar S.S., Akata I., *Macrofungi Diversity of Yalova Province*. Mantar Dergisi, 8(2)76-84(2017).
- Baseia I.G., Maia L.C., Calonge F.D., *Notes on Phallales in the Neotropics*. Boletín de la Sociedad Micológica de Madrid, 30: 87-93(2006).
- Baydar S., Sesli E., *The macromycetes determined in Akçaabat District of Trabzon Province*. Turkish Journal of Botany, 18: 99-101(1994).
- Cabral T.S., Marinho P., Goto B.T., Baseia I.G., *Abrachium, a new genus in the Clathraceae, and Itajahya reassessed*. Mycotaxon, 119: 419-429(2012).
- Calonge F.D., *Gasteromycetes, I. Lycoperdales, Nidulariales, Phallales, Sclerodermatales, Tulostomatales*. Volume 3., Real Jardín Botánico. Stuttgart(1998).
- Gaona M.G.C., Trierweiler-Pereira L., Cano Y.E.M., *New records of Phallales from Paraguay*. Mycotaxon, 132: 361-372(2017).
- Pegler D.N., Læssøe T., Spooner B.M., *British puffballs, earthstars and stinkhorns. An account of the British gasteroid fungi*. Kew, England, U.K.: Royal Botanic Gardens(1995).
- Selik M., Sümer S., *Some new additions to Turkey fungus flora*. İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi, seri A, 32(2): 28-32(1982).
- Sesli E., Denchev C.M., *Checklists of the myxomycetes, larger ascomycetes, and larger basidiomycetes in Turkey*. Mycotaxon, 106: 65-67(2008).
- Url. 1: <http://www.indexfungorum.org>. (accessed: 1 January 2018).



Geliş(Received) :19/07/2017
Kabul(Accepted) :21/03/2018

Research Article
DOI:10.30708/mantar.329605

Lichenized and Lichenicolous Fungi Records From Kazdağı (Balıkesir, Turkey)

Seyhan ORAN*¹, Gülşah ÖZYİĞİTOĞLU², Şule ÖZTÜRK¹

*Corresponding author: seyhana@uludag.edu.tr

¹Uludağ University, Faculty of Arts & Science, Department of Biology, Bursa, Turkey

²Marmara University, Faculty of Arts & Science, Department of Biology, Istanbul, Turkey

Abstract: 184 infrageneric (183 lichenized and 1 lichenicolous fungi) taxa belonging to 79 genera were determined from Kazdağı in Balıkesir, Turkey. 73 of 184 taxa are new records for the province of Balıkesir.

Key words: Biodiversity, Lichen, Kaz Mountain, Turkey

Kazdağı'ndan (Balıkesir, Türkiye) Likenleşmiş ve Likenikol Mantar Kayıtları

Öz: Edremit-Kazdağı (Balıkesir, Türkiye)'nden 79 cinse ait 183 likenleşmiş mantar ile 1 likenikol mantar olmak üzere toplam 184 takson belirlenmiştir. 184 taksondan 73 tanesi Balıkesir ili için yeni kayıttır.

Anahtar kelimeler: Biyoçeşitlilik, Liken, Kazdağı, Türkiye

Introduction

There is no detailed study about lichen biodiversity of Kazdağı. Karamanoğlu (1964, 1971), was published seven taxa from Kazdağı. Culberson and Culberson (1968) and Schindler (1975), were recorded one taxon from Kazdağı. These papers were first lichen records from Kazdağı. Then, John (1992) was reported 2 taxa from Edremit-Kazdağı, Şenkardeşler (2009), was recorded 4 taxa from Evciler-Kazdağı. Oran and Öztürk (2010), were published 1 new record for Turkey from Kazdağı, Bayramiç, Çanakkale. Beside these papers, Çobanoğlu and Sevgi (2006) were published 75 taxa from Gürgen Dağı where is the north-east of Kazdağı range.

In addition, several lichen papers published from Balıkesir province where the Kazdağı is located are as follows; Pişüt, 1970; Güner, 1986; Güner and Özdemir, 1986 a; 1986b; John, 1992; 1995; 1996; 1999; 2007; Çetin and Tümen, 1994; Güvenç et al., 1996; Öztürk et al., 1998; Schindler, 1998; Pişüt and Guttová, 2008; 2009; Vondrák 2010; Çobanoğlu et al., 2011; Oran and Öztürk, 2011; 2012; Oran, 2011; Özdemir Türk et. al., 2015.

Kazdağı is an important natural area and is situated in northwestern Anatolia, in the vicinity of the Gulf of Edremit, forming a natural border between the provinces of Çanakkale and Balıkesir on the southeast part of the Biga Peninsula. Kazdağı is a mountain range of 60 km which is lying between 39° 42' N and 26° 51' E and also is a natural border between the Marmara and Aegean regions of Turkey. The highest places of Kazdağı are Karataş Peak (1774 m), Baba Peak (1765 m) and Sarıkız Peak (1726 m). Kazdağı is the second highest mountain in the Marmara Region. A part of Kazdağı (21,300 ha) was declared a National Park on 17.04.1994. At the same time, in order to preserve the endemic Kazdağı fir, 240 ha area was declared as a Natural Protection Area on 15.06.1988 (Özhatay et al., 2005; Dirmenci et al., 2007).

Different climate features dominate the study area. Due to its proximity to the Aegean Sea, the characteristic Mediterranean climate is dominant on the southern slopes of Kazdağı, while cooler and more humid terrestrial climates are observed on the northern slopes. It has a range of forest communities that reflect height, aspect and



climate changes. Red pine (*Pinus brutia* Ten.), larch (*Pinus nigra* Arn.) and oak forests (*Quercus cerris* L. var. *cerris* L., *Q. Frainetto* Ten., *Q. petraea* (Mattuschka) Liebl. subsp. *iberica* (Steven ex Bieb.) Krassilin.) and endemic Kazdağı fir (*Abies nordmanniana* (Steven) Spach subsp. *equi-trojani* (Asch. & Sint. ex Boiss.) Coode & Cullen) occupy a large area. In addition to these, different heights and aspects (*Fagus orientalis* Lipsky), hornbeam (*Carpinus betulus* L.), chestnut (*Castanea sativa* Mill.) and olive (*Olea europaea* L.) trees are encountered (Özhatay et al., 2005).

The mean annual temperature (1938-2016) is 14.6 °C and the mean annual rainfall (1938-2016) is 583.7 mm at Balıkesir province (Anonim 2016).

In this study, we aimed to contribute to the knowledge of the lichenized and lichenicolous fungi of Edremit-Kazdağı.

Materials and Methods

Samples were collected from a total of 36 localities (Figure 1, Table 1) on Kazdağı in 2001. They were examined with a stereomicroscope (Leica EZ4 model), and a light microscope (Olympus CX21) for morphology and anatomical observations. The sections of the specimens were examined in water, 10 % potassium hydroxide (KOH) or Lugol's-iodine (I). Identifications were determined with various lichen literatures (Brodo et al., 2001; Smith et al., 2009; Wirth, 1995; Giralt, 2001). Vouchers are stored in the Herbarium of Faculty of Arts & Sciences, Uludağ University, Bursa, Turkey (BULU).

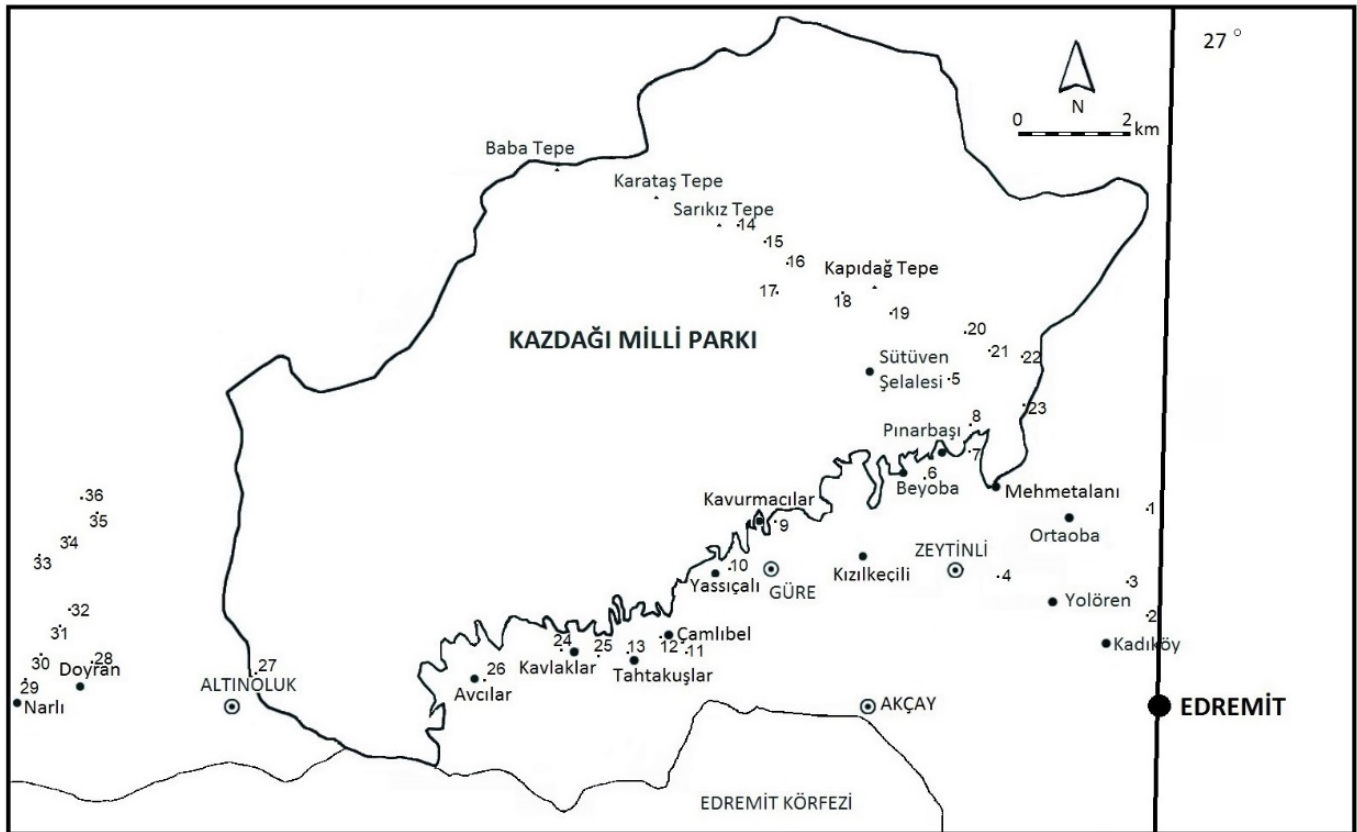


Figure 1. Map of collecting localities, Kazdağı, Balıkesir.



Table 1. The collected localities in Kazdağı, Balıkesir.

Number	Locality	Altitude	Coordinates	Date
1	Edremit; entrance of Ortaoba, olive area	340 m	39° 37' N 26° 59' E	16.08.2001
2	Edremit - Ortaoba road, exit of Kadıköy, pine area	160 m	39° 36' N 26° 59' E	16.08.2001
3	Edremit; Yolören village, Değirmen place, olive area	85 m	39° 36' N 26° 58' E	16.08.2001
4	Edremit; Yolören - Zeytinli road, entrance of Zeytinli	80 m	39° 37' N 26° 57' E	16.08.2001
5	Edremit; Zeytinli, Sütüven Waterfall, Hasanboğuldu picnic area	270 m	39° 38' N 26° 55' E	17.08.2001
6	Edremit; Beyoba - Pınarbaşı road, exit of Beyoba, pine forest	260 m	39° 38' N 26° 55' E	17.08.2001
7	Edremit; Beyoba - Pınarbaşı road, entrance of Pınarbaşı, olive area	290 m	39° 38' N 26° 56' E	17.08.2001
8	Edremit; Pınarbaşı - Zeytinli road, exit of Pınarbaşı, riverside	170 m	39° 38' N 26° 56' E	17.08.2001
9	Edremit; Güre, around of Kavurmacılar district	240 m	39° 37' N 26° 53' E	18.08.2001
10	Edremit; Güre, around of Yassıçalı, pine forest	110 m	39° 37' N 26° 53' E	18.08.2001
11	Edremit; Edremit - Çamlıbel road, entrance of Çamlıbel, roadside	170 m	39° 35' N 26° 51' E	18.08.2001
12	Edremit; Edremit - Çamlıbel road, 1. km, pine forest	90 m	39° 35' N 26° 51' E	18.08.2001
13	Edremit; around of Tahtakuşlar, pine forest	175 m	39° 35' N 26° 51' E	18.08.2001
14	Edremit; Sarıkız Hill, open rocky area	1720 m	39° 42' N 26° 49' E	19.08.2001
15	Edremit; Sarıkız Hill - Zeytinli road, 5. km, pine forest	1600 m	39° 42' N 26° 53' E	19.08.2001
16	Edremit; Sarıkız Hill - Zeytinli road, 8. km, pine forest	1430 m	39° 42' N 26° 53' E	19.08.2001
17	Edremit; Sarıkız Hill - Zeytinli road, 9. km, around of Mermerli	1330 m	39° 41' N 26° 54' E	19.08.2001
18	Edremit; Sarıkız Hill - Zeytinli road, 11. km, rocky area	1305 m	39° 40' N 26° 55' E	19.08.2001
19	Edremit; Sarıkız Hill - Zeytinli road, 12. km, mixed forest	1235 m	39° 40' N 26° 55' E	19.08.2001
20	Edremit; Sarıkız Hill - Zeytinli road, 15. km, mixed forest	1000 m	39° 40' N 26° 55' E	19.08.2001
21	Edremit; Sarıkız Hill - Zeytinli road, 18. km, mixed forest	850 m	39° 39' N 26° 56' E	19.08.2001
22	Edremit; Sarıkız Hill - Zeytinli road, 22. km, oak area	505 m	39° 39' N 26° 57' E	19.08.2001
23	Edremit; Mehmetalanı - Zeytinli road, 3. km	295 m	39° 38' N 26° 57' E	19.08.2001



Table 1. continued

Number	Locality	Altitude	Coordinates	Date
24	Edremit; exit of Kavlaklar, ridgeway, 2. km, redpine forest	295 m	39° 36' N 26° 50' E	20.08.2001
25	Edremit; entrance of Kavlaklar, olive area	85 m	39° 34' N 26° 50' E	20.08.2001
26	Edremit; Akçay - Altınoluk road, Avcılar village ridgeway, sunny rocky slopes	255 m	39° 35' N 26° 48' E	20.08.2001
27	Edremit; Altınoluk, ridgeway, around of Sefa Hill	280 m	39° 35' N 26° 44' E	20.08.2001
28	Edremit; Altınoluk, Doyran village, ridgeway, 2. km, pine forest	315 m	39° 35' N 26° 42' E	21.08.2001
29	Edremit; Narlı village, ridgeway, 1. km, pine forest	265 m	39° 34' N 26° 40' E	21.08.2001
30	Edremit; Narlı village, ridgeway, 2. km, mixed forest	330 m	39° 35' N 26° 40' E	21.08.2001
31	Edremit; Narlı village, ridgeway, 5. km, mixed forest	480 m	39° 36' N 26° 41' E	22.08.2001
32	Edremit; Narlı village, ridgeway, 8. km, rocky area	680 m	39° 37' N 26° 41' E	22.08.2001
33	Edremit; Narlı village, ridgeway, 10. km, around of Daridere nursery, fruit garden	600 m	39° 36' N 26° 40' E	22.08.2001
34	Edremit; Narlı village, ridgeway, 11. km, exit of Daridere nursery, mixed forest	610 m	39° 36' N 26° 40' E	22.08.2001
35	Edremit; Narlı village, ridgeway, 13. km, oak area	690 m	39° 37' N 26° 41' E	22.08.2001
36	Edremit; Narlı village, ridgeway, Domuz çukuru place, mixed forest	900 m	39° 40' N 26° 41' E	22.08.2001

Results

The list of taxa is arranged in alphabetical order with locality numbers and substrates. A herbarium number for specimens (BULU) are indicated in the parenthesis. Lichen taxa new to Balıkesir province are indicated by an asterisk (*).

***Acarospora fuscata* (Nyl.) Th. Fr.:** 14, 18, 27, 31, on siliceous rocks (18153, 18202, 18322, 18425)

* ***Acarospora sinopica* (Wahlenb.) Körb.:** 14, on siliceous rocks (18154)

***Alectoria sarmentosa* (Ach.) Ach.:** 36, on *Pinus nigra* (18549)

***Amandinea punctata* (Hoffm.) Coppins & Scheid.:** 5, 9, 33, on siliceous rocks (18033, 18079, 18467)

* ***Arthonia punctiformis* Ach.:** 33, on *Juglans* sp. (18447)

* ***Arthonia radiata* (Pers.) Ach.:** 34, on *Juglans* sp. (18497)

***Aspicilia cinerea* (L.) Körb.:** 5, 15, 24, 28, 31, 36, on siliceous rocks (18039, 18168, 18294, 18345, 18426, 18282)

***Aspicilia epiglypta* (Norrl. ex Nyl.) Hue:** 36, on siliceous rocks (18559)

***Aspicilia intermutans* (Nyl.) Arnold:** 5, 14, on siliceous rocks (18035, 18160)

***Athallia holocarpa* (Hoffm.) Arup, Frödén & Søchting:** 1, 6, on *Ficus* sp. (17983, 18049), on *Olea* sp. (17977, 18053), 5, on *Styrax officinalis* (18031), 10, on *Olea* sp. (18094), 21, on *Crataegus* sp., on *Styrax officinalis* (18243, 18263), 24, 28, on siliceous rocks (18297, 18337), 33, on *Cydonia oblonga* (18450), 36, on *Alnus* sp. (18547)

* ***Bagliettoa parmigera* (J. Steiner) Gams:** 7, 10, 28, on calcareous rocks (18061, 18105, 18335)



- * **Bagliettoa marmorea** (Scop.) Gueidan & Cl.Roux: 7, on calcareous rocks (18057)
- Biatora globulosa** (Flörke) Fr.: 31, on *Pinus brutia* (18418)
- Blastenia crenularia** (With.) Arup, Søchting & Frödén: 1, on siliceous rocks with limestone (17994), 4, 5, 9, 10, 12, 23, 24, 27, 28, 31, 33, on siliceous rocks (18023, 18042, 18077, 18100, 18125, 18278, 18291, 18324, 18341, 18423, 18458)
- Blastenia ferruginea** (Huds.) A. Massal.: 3, 13, 25, on *Olea* sp. (18014, 18143, 18308), 28, on *Celtis* sp., on *Ficus* sp., on *Olea* sp. (18355, 18347, 18349), 29, on *Pinus* sp. (18366), 30, on *Pistacia* sp., on *Styrax officinalis* (18391, 18397), 31, on *Pinus brutia* (18414), 34, on *Abies* sp. (18502), 35, on *Quercus frainetto* (18525), 36, on *Coryllus* sp. (18534)
- * **Blastenia herbidella** (Hue) Servit: 17, on *Celtis* sp. (18185)
- * **Blennothallia crispa** (Huds.) Otálora, P.M. Jørg. & Wedin: 1, 12, on calcareous rocks (17990, 18120), 10, on siliceous rocks (18104)
- Bryoria capillaris** (Ach.) Brodo & D. Hawksw.: 15, 17, on *Pinus* sp. (18162, 18200), 36, on *Pinus nigra* (18551)
- Bryoria fuscescens** (Gyeln.) Brodo & D. Hawksw.: 36, on *Pinus nigra* (18552)
- Buellia erubescens** Arnold: 17, on *Pinus* sp. (18183), 19, 20, on *Quercus* sp. (18215, 18223), 33, on *Cydonia oblonga* (18449), 34, on *Alnus* sp. (18489)
- Buellia griseovirens** (Turner & Borrer ex Sm.) Almb.: 17, on *Pinus* sp. (18184), 19, on *Quercus* sp. (18214), 21, on *Crataegus* sp. (18241), 33, on *Cydonia oblonga* (18451), 34, on *Abies* sp., *Castanea* sp. (18501, 18507), 35, on *Quercus frainetto* (18523)
- * **Caloplaca albopruinosa** (Arnold) H. Olivier: 1, on calcareous rocks (17986)
- * **Caloplaca atroflava** (Turner) Mong.: 1, on calcareous rocks (17991), 33, on siliceous rocks (18459)
- Caloplaca cerina** (Ehrh. ex Hedw.) Th. Fr.: 1, on *Ficus* sp. (17984), 10, on *Olea* sp. (18092), 34, on *Juglans* sp. (18496)
- * **Caloplaca erythrocarpa** (Pers.) Zwackh: 26, 28, on calcareous rocks (18309, 18332)
- Caloplaca haematites** (Chaub. ex St.-Amans) Zwackh: 28, on *Celtis* sp. (18356), 30, on *Pistacia* sp. (18408)
- * **Caloplaca irrubescens** (Arnold) Zahlbr.: 1, 4, 5, 12, 24, 27, 28, on siliceous rocks (17995, 18027, 18043, 18127, 18283, 18321, 18340)
- Candelariella vitellina** (Hoffm.) Müll. Arg.: 1, 27, on *Ficus* sp. (17985, 18318), 1, 4, 9, 14, 24, 27, 28, 29, 31, 32, 33, on siliceous rocks (18002, 18021, 18078, 18150, 18295, 18316, 18342, 18381, 18428, 18445, 18465), 3, 11, 13, on *Olea* sp. (18012, 18114, 18142), 28, on *Celtis* sp. (18359), 30, on *Pistacia* sp., on *Quercus* sp., on *Styrax officinalis* (18396, 18404, 18400)
- Candelariella xanthostigma** (Pers. ex Ach.) Lettau: 1, on *Pyrus* sp. (17980), 11, 25, on *Olea* sp. (18113, 18304), 20, on *Quercus* sp. (18216)
- * **Catillaria atomarioides** (Müll. Arg.) H. Kiliyas: 5, on siliceous rocks (18047)
- * **Catillaria chalybeia** A. Massal.: 4, 5, 10, 32, 33, on siliceous rocks (18024, 18045, 18109, 18440, 18468), 26, on calcareous rocks (18310)
- Circinaria caesiocinerea** (Nyl. ex Malbr.) A.Nordin et al.: 1, 9, 14, 27, 28, 31, 32, on siliceous rocks (18003, 18083, 18159, 18320, 18344, 18424, 18444), 12, on siliceous rocks with limestone (18129)
- Circinaria calcarea** (L.) A. Nordin, Savić & Tibell: 1, 17, 26, 28, on calcareous rocks (17987, 18190, 18314, 18334)
- Cladonia coniocraea** (Flörke) Spreng.: 34, on *Pinus nigra* (18480)
- Cladonia fimbriata** (L.) Fr.: 33, on siliceous soil (18478)
- * **Cladonia parasitica** (Hoffm.) Hoffm.: 21, on *Pinus* sp. (18267)
- Cladonia pyxidata** (L.) Hoffm.: 16, 31, on siliceous rocks (18179, 18422), 33, 36, on siliceous soil (18477, 18563)
- Collema furfuraceum** Du Rietz: 10, 11, on *Olea* sp. (18097, 18112)
- Collema nigrescens** (Huds.) DC.: 8, 25, on *Olea* sp. (18064, 18299), 13, 22, on *Quercus* sp. (18135, 18277), 21, on *Crataegus* sp. (18234), 31, on *Pyrus elaeagnifolia* (18413)
- Collema subflaccidum** Degel.: 6, on *Pyrus* sp. (18054)
- * **Collema subnigrescens** Degel.: 1, 5, 9, 28, 32, on siliceous rocks (17993, 18038, 18081, 18346, 18443), 10, on *Olea* sp. (18096)
- * **Dermatocarpon miniatum** (L.) W. Mann: 32, on siliceous rocks (18442)
- Diploschistes scruposus** (Schreb.) Norman: 4, 9, 24, on siliceous rocks (18028, 18086, 18284)
- * **Diplotomma chlorophaeum** (Hepp ex Leight.) Szatala: 4, 10, on siliceous rocks (18025, 18102)
- * **Diplotomma hedinii** (H. Magn.) P. Clerc & Cl. Roux: 7, on calcareous rocks (18059)



* *Enchylium polycarpon* (Hoffm.) Otálora, P.M. Jørg. & Wedin: 22, 28, on calcareous rocks (18274, 18330)

Enchylium tenax (Sw.) Gray: 12, on calcareous rocks (18121)

Evernia prunastri (L.) Ach.: 20, on *Quercus* sp. (18217), 21, on *Crataegus* sp., on *Pinus* sp., on *Quercus* sp., on *Styrax officinalis* (18247, 18268, 18269, 18254), 29, on *Pinus* sp. (18363), 31, on *Pinus brutia*, on *Pyrus elaeagnifolia* (18421, 18409), 35, on *Quercus frainetto* (18531), 36, on *Alnus* sp. (18537)

* *Flavoplaca citrina* (Hoffm.) Arup, Frödén & Søchting: 10, on siliceous rocks (18101)

* *Flavoplaca flavocitrina* (Nyl.) Arup, Frödén & Søchting: 12, on siliceous rocks (18126)

Gyalolechia flavorubescens (Huds.) Søchting, Frödén & Arup: 8, 34, on *Juglans* sp. (18068, 18495), 30, on *Quercus* sp. (18403)

Hafellia disciformis (Fr.) Marbach & H. Mayrhofer: 21, on *Crataegus* sp. (18231), 35, on *Quercus frainetto* (18528)

Hypocenomyce scalaris (Ach. ex Lilj.) M. Choisy: 17, 21, on *Pinus* sp. (18186, 18265)

Hypogymnia farinacea Zopf: 17, 20, on *Pinus* sp. (18187, 18226), 19, on *Quercus* sp. (18208), 31, on *Pinus brutia* (18414), 36, on *Pinus nigra* (18553)

Hypogymnia physodes (L.) Nyl.: 21, on *Crataegus* sp. (18248), 34, on *Pinus nigra* (18483), 35, on *Quercus frainetto* (18512)

Hypogymnia tubulosa (Schaer.) Hav.: 15, 16, 20, on *Pinus* sp. (18174, 18176, 18227), 21, on *Crataegus* sp., on *Styrax officinalis* (18253, 18255), 34, on *Pinus nigra* (18482), 35, on *Quercus frainetto* (18511)

* *Lathagrium cristatum* (L.) Otálora, P.M. Jørg. & Wedin: 7, 12, 17, 24, on calcareous rocks (18058, 18119, 18190, 18296)

* *Lathagrium fuscovirens* (With.) Otálora, P.M. Jørg. & Wedin: 1, on calcareous rocks (18001)

* *Lecania erysibe* (Ach.) Mudd: 29, on siliceous rocks (18388)

* *Lecania inundata* (Hepp ex Körb.) M. Mayrhofer: 28, on calcareous rocks (18325)

* *Lecania naegelii* (Hepp) Diederich & van den Boom: 34, on *Juglans* sp. (18498)

* *Lecanora argentata* (Ach.) Röhl.: 8, on *Juglans* sp. (18070)

Lecanora bolcana (Pollini) Poelt: 14, 24, 27, 28, 32, 36, on siliceous rocks (18156, 18285, 18319, 18343, 18433, 18566)

Lecanora campestris (Schaer.) Hue: 1, 4, 10, 31, on siliceous rocks (17999, 18019, 18099, 18427)

Lecanora carpinea (L.) Vain.: 21, on *Crataegus* sp., on *Styrax officinalis* (18232, 18261), 33, on *Malus* sp. (18455), 34, on *Juglans* sp. (18493), 35, on *Quercus frainetto* (18526), 36, on *Coryllus* sp. (18533)

Lecanora chlarotera Nyl.: 1, on *Ficus* sp., on *Olea* sp. (17981, 17976), 3, 10, on *Olea* sp. (18013, 18091), 6, on *Ficus* sp. (18050), 8, on *Juglans* sp. (18069), 15, 17, on *Pinus* sp. (18163, 18201), 20, on *Quercus* sp. (18221), 21, on *Crataegus* sp., on *Styrax officinalis* (18250, 18262), 30, on *Quercus* sp., on *Styrax officinalis* (18405, 18398), 33, on *Malus* sp. (18456), 34, on *Castanea* sp., *Juglans* sp. (18508, 18492), 35, on *Quercus frainetto* (18524), 36, on *Alnus* sp., on *Coryllus* sp. (18542, 18535)

Lecanora expallens Ach.: 31, on *Pinus brutia* (18419), 34, on *Abies* sp., on *Juglans* sp. (18505, 18490)

* *Lecanora frustulosa* (Dicks.) Ach.: 28, on siliceous rocks (18327)

Lecanora intumescens (Rebent.) Rabenh.: 35, on *Quercus frainetto* (18520)

* *Lecanora polytropa* (Ehrh. ex Hoffm.) Rabenh.: 15, on siliceous rocks (18170)

* *Lecanora rupicola* subsp. *subplanata* (Nyl.) Leuckert & Poelt: 14, 32, on siliceous rocks (18157, 18435)

Lecanora saligna (Schrad.) Zahlbr.: 17, 29, on *Pinus* sp. (18188, 18368)

* *Lecanora subcarpinea* Szatala: 20, on *Quercus* sp. (18222)

* *Lecanora symmicta* (Ach.) Ach.: 24, on *Pinus brutia* (18289)

Lecidea fuscoatra (L.) Ach.: 9, 14, 15, 23, 24, 29, 36, on siliceous rocks (18071, 18149, 18175, 18279, 18293, 18384, 18562)

* *Lecidea lactea* Flörke ex Schaer.: 14, 15, 16, 36, on siliceous rocks, (18158, 18171, 18181, 18565)

* *Lecidea lapicida* (Ach.) Ach.: 18, on siliceous rocks (18204)

Lecidea sarcogynoides Körb.: 14, on siliceous rocks (18151)

* *Lecidea silacea* (Hoffm.) Ach.: 28, on siliceous rocks (18328)

Lecidella carpathica Körb.: 4, 5, 10, 15, 33, on siliceous rocks (18020, 18041, 18103, 18167, 18463)



Lecidella elaeochroma (Ach.) M. Choisy: 1, on *Ficus* sp. (17982), 3, 10, 13, 25, on *Olea* sp. (18008, 18090, 18144, 18303), 5, on *Styrax officinalis* (18032), 6, on *Ficus* sp., on *Olea* sp. (18048, 18052), 8, on *Juglans* sp. (18067), 20, on *Quercus* sp. (18229), 21, on *Crataegus* sp., on *Styrax officinalis* (18233, 18260), 28, on *Celtis* sp., on *Olea* sp. (18354, 18352), 30, on *Pistacia* sp., on *Quercus* sp. (18392, 18406), 31, on *Pyrus elaeagnifolia* (18411), 33, on *Cydonia oblonga*, on *Malus* sp., *Prunus avium* (18448, 18454, 18479), 34, on *Abies* sp., on *Alnus* sp., on *Castanea* sp., on *Juglans* sp. (18499, 18488, 18506, 18491), 35, on *Quercus frainetto* (18527), 36, on *Alnus* sp., on *Coryllus* sp. (18541, 18532)

* **Lecidella stigmata (Ach.) Hertel & Leuckert:** 17, on calcareous rocks (18192), 31, 33, on siliceous rocks (18429, 18462)

* **Lepraria finkii (B. de Lesd.) R.C.Harris:** 20, 21, on *Pinus* sp. (18228, 18240)

* **Lichenostigma cosmopolites Hafellner & Calat.:** 9, on *Xanthoparmelia* sp. (18087)

Lobothallia radiosa (Hoffm.) Hafellner: 1, on siliceous rocks with limestone (18005), 12, 28, on calcareous rocks (18115, 18326), 32, on siliceous rocks (18441)

Melanelixia glabra (Schaer.) O. Blanco et al.: 31, on *Pyrus elaeagnifolia* (18410)

Melanelixia glabratula (Lamy) Sandler & Arup: 20, on *Quercus* sp. (18218), 36, on *Alnus* sp. (18546)

Melanelixia subargentifera (Nyl.) O. Blanco et al.: 13, on *Olea* sp. (18140)

Melanelixia subaurifera (Nyl.) O. Blanco et al.: 29, on *Pinus* sp. (18390), 35, on *Quercus frainetto* (18517)

Melanohalea elegantula (Zahlbr.) O. Blanco et al.: 5, 29, on *Pinus* sp. (18029, 18362), 35, on *Quercus frainetto* (18518)

Melanohalea exasperata (De Not.) O. Blanco et al.: 13, 25, on *Olea* sp. (18139, 18306), 21, on *Crataegus* sp., on *Styrax officinalis* (18252, 18264), 35, on *Quercus frainetto* (18519), 36, on *Coryllus* sp. (18536)

Melanohalea exasperatula (Nyl.) O. Blanco et al.: 19, on *Quercus* sp. (18205)

* **Micarea denigrata (Fr.) Hedl.:** 34, on *Pinus nigra* (18485)

Monerolechia badia (Fr.) Kalb: 9, on *Xanthoparmelia pulla* (18075), 32, on siliceous rocks with moss (18437)

Myriolecis dispersa (Pers.) Šliva, Zhao Xin & Lumbsch: 33, on siliceous rocks (18461)

Myriolecis hagenii (Ach.) Šliva, Zhao Xin & Lumbsch: 33, on *Juglans* sp. (18446)

* **Nephroma tangeriense (Maheu & A.Gillet) Zahlbr.:** 5, on siliceous rocks with moss (18040)

Ochrolechia androgyna (Hoffm.) Arnold: 10, on siliceous rocks (18107)

Ochrolechia arborea (Kreyer) Almb.: 8, on *Olea* sp. (18063)

* **Ochrolechia microstictoides Räsänen:** 34, 36, on *Pinus nigra* (18484, 18548)

Ochrolechia parella (L.) A. Massal.: 5, on siliceous rocks (18037)

Parmelia saxatilis (L.) Ach.: 5, 17, 20, 21, on *Pinus* sp. (18030, 18189, 18720, 18266), 19, on *Quercus* sp. (18213), 24, on *Pinus brutia* (18290), 34, on *Pinus nigra* (18510), 35, on *Quercus frainetto* (18513), 36, on *Alnus* sp., on siliceous rocks (18539, 18555)

Parmelia submontana Nádv.: 35, on *Quercus frainetto* (18522)

Parmelia sulcata Taylor: 34, on *Alnus* sp. (18486), 35, on *Quercus frainetto* (18514), 36, on *Alnus* sp., on *Coryllus* sp. (18545, 18271)

* **Parmelina carporrhizans (Taylor) Hale:** 3, 10, on *Olea* sp. (18010, 18088)

Parmelina quercina (Wild.) Hale: 19, on *Quercus* sp. (18206), 35, on *Quercus frainetto* (18516)

Parmelina tiliacea (Hoffm.) Hale: 2, 29, on *Pinus* sp. (18006, 18361), 4, on siliceous rocks (18026), 8, 10, 13, 25, on *Olea* sp. (18062, 18089, 18136, 18302), 20, on *Quercus* sp. (18219), 21, on *Crataegus* sp. (18249), 31, on *Pinus brutia* (18415)

Parmeliopsis ambigua (Wulfen) Nyl.: 15, on *Pinus* sp. (18164)

* **Peltula euploca (Ach.) Poelt ex Pišút:** 29, on siliceous rocks (18387)

Pertusaria albescens (Huds.) M. Choisy & Werner: 3, 10, 25, on *Olea* sp. (18015, 18093, 18300), 21, on *Quercus* sp. (18230), 36, on siliceous rocks (18564)

Pertusaria amara (Ach.) Nyl.: 36, on siliceous rocks (18557)

* **Pertusaria flavicans Lamy:** 29, on siliceous rocks (18382)

Pertusaria leioplaca DC.: 34, on *Abies* sp., on *Castanea* sp., on *Juglans* sp. (18500, 18509, 18494)

Pertusaria leucosora Nyl.: 32, on siliceous rocks (18434)



- Pertusaria pertusa* (L.) Tuck.:** 20, on *Quercus* sp. (18220), 35, on *Quercus frainetto* (18521), 36, on *Alnus* sp. (18540)
- * ***Phaeophyscia ciliata* (Hoffm.) Moberg:** 8, on *Juglans* sp. (18065), 22, on *Quercus* sp. (18272)
- Phaeophyscia orbicularis* (Neck.) Moberg:** 13, on *Quercus* sp. (18134)
- Phlyctis argena* (Ach.) Flot.:** 21, on *Quercus* sp., on *Styrax officinalis* (18270, 18259), 34, on *Abies* sp., on *Alnus* sp. (18503, 18487), 36, on *Alnus* sp. (18544)
- Physcia adscendens* H. Olivier:** 25, on *Olea* sp. (18307), 28, on *Celtis* sp. (18353)
- Physcia aipolia* (Ehrh. ex Humb.) Fűrnr.:** 13, on *Olea* sp., on *Quercus* sp. (18137, 18133)
- * ***Physcia caesia* (Hoffm.) Hampe ex Fűrnr.:** 9, on siliceous rocks (18080), 29, on *Pinus* sp. (18364)
- Physcia leptalea* (Ach.) DC.:** 21, on *Styrax officinalis* (18239), 22, on *Quercus* sp. (18275), 28, on *Celtis* sp. (18358), 30, on *Pistacia* sp. (18393), 31, on *Pyrus elaeagnifolia* (18412)
- Physcia stellaris* (L.) Nyl.:** 3, 10, 11, 25, on *Olea* sp. (18009, 18095, 18111, 18301), 13, on *Olea* sp., on *Quercus* sp. (18138, 18132), 29, on siliceous rocks (18369)
- Physconia distorta* (With.) J.R. Laundon:** 3, on *Olea* sp. (18011)
- Physconia enteroxantha* (Nyl.) Poelt:** 13, on *Olea* sp. (18141)
- Physconia servitii* (Nádv.) Poelt:** 13, on *Quercus* sp. (18131), 25, on *Olea* sp. (18305)
- * ***Placynthium nigrum* (Huds.) Gray:** 17, 26, 28, on calcareous rocks (18193, 18313, 18333)
- Platismatia glauca* (L.) W.L. Culb. & C.F. Culb.:** 15, 16, 17, 20, on *Pinus* sp. (18165, 18182, 18199, 18224), 19, on *Pinus* sp., *Quercus* sp. (18212, 18211), 21, on *Styrax officinalis* (18257), 31, on *Pinus brutia* (18416), 34, 36, on *Pinus nigra* (18481, 18550)
- Pleurosticta acetabulum* (Neck.) Elix & Lumbsch:** 21, on *Crataegus* sp. (18235)
- Polysporina simplex* (Taylor) Vězda:** 9, 29, 32, 33, on siliceous rocks (18076, 18386, 18439, 18473)
- Porpidia albocaerulescens* (Wulfen) Hertel & Knoph:** 33, on siliceous rocks (18464)
- * ***Porpidia crustulata* (Ach.) Hertel & Knoph:** 9, 23, 33, on siliceous rocks (18082, 18280, 18470)
- * ***Porpidia macrocarpa* (DC.) Hertel & A.J. Schwab:** 33, 36, on siliceous rocks (18471, 18558)
- * ***Protoblastenia rupestris* (Scop.) J. Steiner:** 17, on calcareous rocks (18194)
- Pseudevernia furfuracea* var. *furfuracea* (L.) Zopf:** 15, on *Pinus* sp. (18166), 19, on *Pinus* sp., on *Quercus* sp. (18209, 18210), 21, on *Styrax officinalis* (18258), 35, on *Quercus frainetto* (18515), 36, on *Pinus nigra* (18554)
- Pseudosagedia aenea* (Wallr.) Hafellner & Kalb:** 34, on *Abies* sp. (18504)
- * ***Pyrenodesmia alociza* (A.Massal.) Arnold:** 1, on calcareous rocks (17988)
- Pyrenodesmia variabilis* (Pers.) A.Massal.:** 7, 12, on calcareous rocks (18060, 18122)
- Ramalina farinacea* (L.) Ach.:** 21, on *Crataegus* sp. (18236), 36, on *Alnus* sp. (18538)
- Ramalina fastigiata* (Pers.) Ach.:** 21, on *Crataegus* sp., on *Styrax officinalis* (18246, 18256)
- Ramalina fraxinea* (L.) Ach.:** 21, on *Crataegus* sp. (18237)
- * ***Ramalina subfarinacea* (Nyl. ex Cromb.) Nyl.:** 33, on siliceous rocks (18476)
- * ***Rhizocarpon badioatrum* (Flörke ex Spreng.):** 9, on siliceous rocks (18084)
- Rhizocarpon geminatum* Körb.:** 32, on siliceous rocks (18436)
- Rhizocarpon geographicum* (L.) DC.:** 1, 5, 14, 15, 16, 32, 33, 36, on siliceous rocks (18004, 18034, 18155, 18172, 18180, 18431, 18469, 18556)
- Rhizocarpon lecanorinum* Anders:** 15, on siliceous rocks (18173)
- * ***Rhizocarpon polycarpum* (Hepp) Th. Fr.:** 36, on siliceous rocks (18561)
- * ***Rhizocarpon reductum* Th. Fr.:** 18, 29, 33, on siliceous rocks (18203, 18385, 18472)
- * ***Rinodina capensis* Hampe:** 29, on *Pinus* sp. (18367), 30, on *Pistacia* sp., on *Styrax officinalis* (18394, 18399), 35, on *Quercus frainetto* (18529)
- Rinodina exigua* (Ach.) Gray:** 1, 13, on *Olea* sp. (17978, 18145), 19, 22, on *Quercus* sp. (18207, 18276), 21, on *Crataegus* sp. (18251), 30, on *Pistacia* sp., on *Quercus* sp., on *Styrax officinalis* (18395, 18407, 18401), 31, on *Pinus brutia* (18420)
- * ***Rinodina immersa* (Körb.) J. Steiner:** 1, on calcareous rocks (17989)
- * ***Rinodina occulta* (Körb.) Sheard:** 33, on siliceous rocks (18460)



* *Rinodina oxydata* (A. Massal.) A. Massal.: 5, 10, 12, 27, 28, on siliceous rocks (18046, 18108, 18128, 18323, 18336)

Rinodina sophodes (Ach.) A. Massal.: 1, on *Olea* sp. (17979), 6, 27, on *Ficus* sp. (18051, 18317), 28, on *Celtis* sp., *Ficus* sp., on *Olea* sp. (18357, 18348, 18351), 33, on *Cydonia oblonga* (18453)

* *Rinodina teichophila* (Nyl.) Arnold: 24, on siliceous rocks (18298)

* *Rinodina trachytica* (A. Massal.) Bagl. & Carestia: 14, 24, 28, on siliceous rocks (18161, 18288, 18329)

Rufoplaca arenaria (Pers.) Arup, Söchting & Frödén: 15, on siliceous rocks (18169)

* *Rufoplaca subpallida* (H. Magn.) Arup, Söchting & Frödén: 10, on siliceous rocks (18098)

* *Sarcogyne regularis* Körb.: 12, 26, on calcareous rocks (18118, 18311)

Scoliciosporum umbrinum (Ach.) Arnold: 21, on *Crataegus* sp. (18242), 33, on *Cydonia* sp. on *Malus* sp., (18452, 18457), 35, on *Quercus frainetto* (18530)

* *Scytinium lichenoides* (L.) Otálora, P.M. Jørg. & Wedin: 6, on *Pyrus* sp. (18055)

Squamarina cartilaginea (With.) P. James: 1, 12, on calcareous rocks (18000, 18116), 17, on soil (18197), 29, on siliceous rocks (18380)

Tephromela atra (Huds.) Hafellner: 1, 4, 5, 14, on siliceous rocks (17992, 18022, 18044, 18152), 36, on *Alnus* sp. (18543)

Toninia sedifolia (Scop.) Timdal: 12, 28, on calcareous rocks (18117, 18331), 17, on soil (18198)

* *Umbilicaria cylindrica* (L.) Delise: 14, 16, on siliceous rocks (18147, 18177)

* *Umbilicaria deusta* (L.) Baumg.: 16, on siliceous rocks (18178)

* *Umbilicaria nylanderiana* (Zahlbr.) H. Magn.: 14, on siliceous rocks (18148)

Usnea filipendula Stirt.: 21, on *Crataegus* sp. (18238)

* *Usnochroma carphinea* Arup, Söchting & Frödén: 29, on siliceous rocks (18370)

* *Variospora aurantia* (Pers.) Arup, Frödén & Söchting: 7, 12, on calcareous rocks (18056, 18123)

Variospora flavescens (Huds.) Arup, Söchting & Frödén: 28, on calcareous rocks (18360)

* *Verrucaria macrostoma* Dufour ex DC.: 26, on calcareous rocks (18312)

Verrucaria muralis Ach.: 17, 21, 26, on calcareous rocks (18196, 18244, 18315)

Verrucaria nigrescens Pers.: 10, 17, 21, on calcareous rocks (18106, 18195, 18245), 12, 28, on siliceous rocks (18124, 18339)

Xanthocarpia lactea (A. Massal.) A. Massal.: 33, on concrete (18474)

* *Xanthocarpia ochracea* (Schaer.) A. Massal. & De Not.: 28, on calcareous rocks (18338)

Xanthoparmelia conspersa (Ehrh. ex Ach.) Hale: 4, 9, on siliceous rocks (18018, 18072)

* *Xanthoparmelia delisei* (Duby) O. Blanco et al.: 24, on siliceous rocks (18287)

* *Xanthoparmelia protomatrae* (Gyeln.) Hale: 1, 4, 5, 29, on siliceous rocks (17997, 18016, 18036, 18383)

Xanthoparmelia pulla (Ach.) O. Blanco et al.: 1, 9, 24, 32, 33, on siliceous rocks (17998, 18074, 18292, 18438, 18466)

Xanthoparmelia stenophylla (Ach.) Ahti & D. Hawksw.: 4, 9, 14, 23, 36, on siliceous rocks (18017, 18073, 18146, 18281, 18560)

Xanthoparmelia tinctina (Maheu & A. Gillet) Hale: 1, 24, 32, 33, on siliceous rocks (17996, 18286, 18432, 18475), 29, on *Pinus* sp., on siliceous rocks (18365, 18389)

* *Xanthoparmelia verruculifera* (Nyl.) O. Blanco et al.: 9, on siliceous rocks (18085)

Xanthoria parietina (L.) Th. Fr.: 3, 11, 28, on *Olea* sp. (18007, 18110, 18350), 8, on *Juglans* sp. (18066), 13, 22, 30, on *Quercus* sp. (18130, 18273, 18402), 31, on *Pyrus elaeagnifolia* (18430)

Discussion

It has been determined 184 infrageneric taxa belonging to 79 genera from Edremit-Kazdağı. Among these taxa, 1 lichenicolous fungus, *Lichenostigma cosmopolites* was found on the *Xanthoparmelia* sp. thallus which growing on siliceous rocks. According to the literature, 73 taxa are reported for the first time from Balıkesir province with this study.

First lichen records from Kazdağı published in 1964 by Karamanoğlu (*Cladonia pyxidata*, *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm., *Rhizocarpon geographicum*, and *Usnea florida* (L.) F. H. Wigg.). Then, *Platismatia glauca* is recorded by Culberson and Culberson in 1968. Also, in the year of 1971, Karamanoğlu was reported 3 taxa (*Hypogymnia physodes*, *Ramalina calicaris* (L.) Röhl., and *Ramalina fraxinea* var. *caliciformis* Nyl.). Additionally, *Parmelina submontana* was recorded as *Parmelia contorta* (Hoffm.)



Spreng. by Schindler in 1975. 6 of these 9 taxa were found in the present study. Özdemir Türk et. al. (2015), were recorded some *Peltigera* species (*P. canina* (L.) Willd., *P. monticola* Vitik., *P. neckeri* Hepp ex Müll. Arg., *P. polydactylon* (Neck.) Hoffm., *P. praetextata* (Flörke ex Sommerf.) Zopf) from Kazdağı.

Lichen samples were collected on 28 different substrates from 36 localities. Of the determined lichen taxa, were found to be 104 saxicolous, 86 epiphytic and 4 terricolous. When the morphological structure of the lichen genera determined from the study area are evaluated, it is seen that 48 of them crustose, 23 are foliose, and 7 are fruticose.

The percentage of the saxicolous lichen species growing on siliceous rocks is 71 %, growing on calcareous rocks is 22 % and growing in two different rock types is 7 %, approximately. For the epiphytic lichen species, the percentage of the growing on broad-leaved trees is 58 %, on pin-leaved trees is 20 %, and both of two different substrate types is 22 %.

Edremit district is an intensive settlement and an important place in terms of tourism. It is suggested that the number of

lichen species on soil (4 taxa) and moss (2 taxa) is very low due to anthropogenic effects.

The 36th locality (900 m) was the richest with 33 taxa. Also, 28th (31 taxa, 360 m), 33th (31 taxa, 600 m), the other rich localities were determined in our study. These localities have rather moist, different substrates types and protected forest features.

Genera with the highest number of taxon are *Caloplaca* (6 taxa), *Lecanora* (13 taxa), *Pertusaria* (6 taxa), *Rhizocarpon* (6 taxa), *Rinodina* (8 taxa), and *Xanthoparmelia* (7 taxa). Also, *Athallia holocarpa*, *Blastenia ferruginea*, *Candelariella vitellina*, *Lecanora chlorotera*, *Lecidella elaeochroma*, *Parmelina tiliacea* and *Xanthoria parietina* are the most common species in the study area.

In this study, lichen and lichenicolous specimens which were collected from western and southwestern parts of Kazdağı were evaluated and lichen biodiversity was revealed. However, considering the size, topographic structure, substrate and habitat variety of Kazdağı, it is a fact that the lichen diversity will be very rich. Therefore, further studies are needed to determine the lichen diversity the whole of Kazdağı.

References

- Anonim, *Balıkesir İli İklim Verileri*, T.C. Orman ve Su İşleri Bakanlığı Meteoroloji Genel Müdürlüğü, Ankara(2016).
- Brodo I.M., Sharnoff S.D., Sharnoff S., *Lichens of North America*, Yale University Press, New Haven and London(2001).
- Culberson W.L., Culberson C.F., *The Lichen Genera *Cetrelia* and *Platismatia* (Parmeliaceae)*, Contr. U.S. Nat. Herb., 34(7)449-558(1968).
- Çetin G., Tümen G., *Balıkesir Dursunbey Yöresine Ait Bazı Epifitik Liken Türleri-I*, XII. Ulusal Biyoloji Kongresi, 6-8 Temmuz 1994, Trakya Üniversitesi Yayınları, Botanik Seksiyonu, Cilt 2, s. 177-183, Edirne(1994).
- Çobanoğlu G., Sevgi O., *Contribution to the Lichen Flora of Gürgen Dağı (Çanakkale)*, Turk J Bot, 30:47-54(2006).
- Çobanoğlu G., Sevgi E., Sevgi O., Tecimen H.B., Yılmaz O.Y., Açıkgöz B., *Alaçam Dağları Karaçam Ormanlarının epifitik likenleri (Balıkesir-Kütahya)*, Journal of Faculty of Forestry Istanbul University, 61(1)31-37(2011).
- Dirmenci T., Satıl F., Tümen G., *Kazdağı Milli Parkı Çiçekli Bitkileri*, Dileksan Kağıtçılık Tic. San. Ltd. Şti., Balıkesir(2007).
- Giralt M., *The Lichen Genera *Rinodina* and *Rinodinella* (Lichenized Ascomycetes, Physciaceae) in the Iberian Peninsula*, Bibliotheca Lichenologica, 79:1-160(2001).
- Güner H., *Likenlerin Biyolojisi ve Ege Bölgesinde Bulunan Bazı Türleri*, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınevi, İzmir(1986).
- Güner H., Özdemir A., *A new record for Turkey, *Umbilicaria crustulosa* (Ach.) Frey.*, Ege Üniversitesi Journal of Science Faculty, Ser. B, 8(1)35-37(1986).
- Güner H., Özdemir A., *Likenlerin Genel Özellikleri ve Batı Anadolu'dan Bazı Liken Türleri*, VIII. Ulusal Biyoloji Kongresi, 3-5 Eylül 1986, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi, s. 371-383, İzmir(1986).
- Güvenç Ş., Aslan A., Öztürk Ş., *The lichen flora of Kapıdağ Peninsula*, Plant Life in Southwest and Central Asia, 21-28 May 1995, Ege Univ. Press, p. 472-478, İzmir(1996).
- John V., *Flechten der Türkei. III. Die Flechten der Pilotkartierung für Europa in der Türkei*, Pollicia, Bad Dürkheim(1992).
- John V., *Ergänzungen zum die Türkei betreffenden lichenologischen Schrifttum, Türkei likenleri ile ilgili literatüre ilaveler*, Pfalzmuseum für Naturkunde, Bad Dürkheim, 1-8(1995).
- John V., *Preliminary catalogue of lichenized and lichenicolous fungi of Mediterranean Turkey*, Bocconea, 6:173-216(1996).
- John V., *Lichenes Anatolici Exsiccati, Fasc. 1-3 (no. 1-75)*, Arnoldia, 16:1-41(1999).



- John V., *Lichenes Anatolici Exsiccati, Fasc. 8 (no. 176-200)*, Arnoldia, 26:1-16(2007).
- Karamanoğlu K., *Edremit Kazdağı Bitkileri*, Ormancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi, 10(1)3-35(1964).
- Karamanoğlu K., *Türkiye'nin Önemli Liken Türleri*, Ankara Ecz. Fak. Mec., 1:53-75(1971).
- Oran S., Öztürk Ş., *Three lichenized fungi new to Turkey*, Mycotaxon, 112:389-392(2010).
- Oran S., Öztürk Ş., *The diversity of lichen and lichenicolous fungi on Quercus taxa found in the Marmara region (Turkey)*, Biological Diversity and Conservation, 4(2):204-223(2011).
- Oran S., *Epiphytic lichen diversity on Fagus orientalis Lipsky and Fagus sylvatica L. in the Marmara region (Turkey)*, Biological Diversity and Conservation, 4(1):134-143(2011).
- Oran S., Öztürk Ş., *Epiphytic lichen diversity on Quercus cerris and Q. frainetto in the Marmara region (Turkey)*, Turk J Bot, 36:175-190(2012).
- Özhatay N., Byfield A., Atay S., *Türkiye'nin 122 Önemli Bitki Alanı*, WWF, İstanbul(2005).
- Özdemir Türk A., Halıcı M.G., Candan M., Yavuz Y., *The lichenized fungus genus Peltigera in Turkey*, Biological Diversity and Conservation, 8(2)146-156(2015).
- Öztürk Ş., Kaynak G., Güvenç Ş., *New floristic records for the various grid squares from the lichen flora of Turkey*, OT Sistematik Botanik Dergisi, 5(2)93-98(1998).
- Pišút I., *Interessante Flechtenfunde aus der Türkei*, Preslia, Praha, 42:370-383(1970).
- Pišút I., Guttová A., *Contribution to the lichen flora of Anatolia, Turkey*, Sauteria, 15:403-415(2008).
- Schindler H., *Über Die Flechte Parmelia contorta Bory und Ihre Bisher Bekannte Verbreitung*, Herzogia, 3:347-364(1975).
- Schindler H., *Beitrag zur Flechtenflora von Westanatolien, Türkei*, Herzogia, 13:234-237(1998).
- Smith C.W., Aptroot A., Coppins B.J., Fletcher A., Gilbert O.L., James P.W., Wolseley P.A., *The Lichens of Great Britain and Ireland*, British Lichen Society, London(2009).
- Şenkardeşler, A., *Lichens from Turkey collected by V. Vašák*, Acta Botanica Hungarica, 51(3-4)427-436(2009).
- Vondrák J., *Selected exsiccates of Caloplaca, Fasc. 2 (Nos 26-50)*, Fritschiana, 67:1-10(2010).
- Wirth V., *Die Flechten-Baden Württembergs, Teil 1-2*, Ulmer, Stuttgart(1995).



Geliş(Received) :01/08/2017
Kabul(Accepted) :22/03/2017

Araştırma Makalesi
DOI:10.30708/mantar.332100

Yenilebilir Bir Tür Olan *Lycoperdon utriformis* Bull.'in Yağ Asit Kompozisyonlarının Gaz Kromatografisi(GC)'de Tayin Edilmesi

Fatih DURMAZ¹, Ela Nur ŞİMŞEK SEZER², Sinan AKTAŞ²

Sorumlu yazar: fdurmaz@selcuk.edu.tr

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

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

Öz: Afyon, Ladik (Samsun) ve Manavgat (Antalya) bölgelerinden toplanan mantar örnekleri kurutulup, teşhisleri yapıldıktan sonra birleştirilerek tek bir numune halinde sürekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktının esterleşme reaksiyonları yapılarak yağ asit kompozisyonları tayin edilmiştir. *Lycoperdon utriformis* Bull. türünün tayin edilen yağ asiti kompozisyonları kromatogram ve tablo halinde verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, *Lycoperdon utriformis*'te oleik asit (%7.75), stearik asit (%7.63) ve α -linolenik asit (%6) yüzdelерinin en yüksek düzeylerde olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Lycoperdon utriformis*, Yağ asiti kompozisyonu, Sürekli Ekstraksiyon, GC.

Determination of the Fatty Acid Compositions in Edible Species *Lycoperdon utriformis* Bull. by Gas Chromatography (GC)

Abstract: Fungal samples collected from Afyon, Ladik (Samsun) and Manavgat (Antalya) regions were dried and combined with each other after their diagnosis. Fatty acid compositions were determined by performing esterification reactions of the extract obtained by continuous extraction as a single sample *lycoperdon utriformis* Bull. The fatty acid compositions determined for the test are given in chromatography and tabular form. According to the results obtained, the highest levels of oleic acid (7.75%), stearic acid (7.63%) and α -linolenic acid (6%) were found in *Lycoperdon utriformis*.

Key words: *Lycoperdon utriformis*, Fatty Acid composition, Continuous Extraction, GC

Giriş

Mantarlardaki yağ asitlerinin tayini genellikle elde edilen ekstraktın türevlendirilmesiyle GC (Gaz Kromatografisi) ile yapılır. En yaygın olarak kullanılan türevlendirme yöntemi, yağ asitlerinin metanol ile metil esterlerine dayalı reaksiyonlardır (Barros ve Ark. 2007; Heleno ve Ark. 2009; Kavishree ve Ark. 2008; Pedneault ve Ark. 2006; Ribeiro ve Ark. 2009; Yılmaz ve Ark. 2006).

Besinlerdeki yağlar ve onların yağ asitleri genel olarak doymuş, tekli doymamış ve çoklu doymamış olarak üç grupta ele alınabilir. Doymuş yağ asitleri temel yapısında çift bağ içermez ve karbona bağlı hidrojen atomu içerirler. Bu tür yağ asitleri kandaki kolesterol miktarını artırır ve kalp hastalıklarında önemli etkiye

sahiptir. Bu yağların başlıca kaynağını hayvansal yağlar oluşturmaktadır. Yağ asitlerinin yapısında bir çift hidrojen atomu eksik ise (bir çift bağ varsa), yağ asidi tekli doymamış olarak adlandırılır. Kolesterolü düzenleyici ve iyi yönde etkileri vardır. Başlıca kaynakları zeytinyağı ve kolza tohumu yağıdır. Yağ asitlerinin yapısında bir çift hidrojen atomundan daha fazlası eksilmişse, bu tür yağ asidine çoklu doymamış yağ asidi olarak sınıflandırılır. Bazı bitki yağlarında çok miktarlarda bulunurlar. Bazı balık türlerinde ve balık yağında çoklukla rastlanırlar. Doymamış yağ asitleri özellikle C18:3 ve türevleri vücut tarafından sentezlenemediği için dışardan ek besinlerle almamız gerekir. Omega 3 ve Omega 6 yağ asitleri, diğer hayvansal ve bitkisel yağlara göre hiç bir yan etkisi ve



zararı olmayan, aksine kalp damar sağlığı açısından tüketilmesi gereken diyet ve sağlık için yararlı bir yağ asididir. Özellikle çocukların zeka ve bedensel gelişimi için oldukça faydalıdır. Omega yağ asitleri birçok yiyecekte bulunmaktadır. Bu yiyeceklerin başında balık-balık yağları, ceviz, fındık, soya fasulyesi, lahana, ıspanak, brokoli, marul, kanola bitkisi gelmektedir. Ayrıca yapılan çalışmalarda mantarlarda da önemli oranlarda kalp sağlığında etkili ve kolesterol düzenleyici yağ asitlerini içerdikleri ortaya konulmuştur (Guillamón ve Ark. 2010; Diez ve Alvarez 2001; Barros ve Ark. 2007; Kavishree ve Ark. 2008; Pereira ve Ark. 2012; Pedneault ve Ark. 2006; Pedneault ve Ark. 2007; Valverde ve Ark. 2015; Liu ve Ark. 2010; Doğan ve Akbaş 2013; Ayaz ve Ark. 2011; Ergönül ve Ark. 2013). Yapılan bu çalışma ile *Lycoperdon utriformis* Bull.'un yağ asidi bileşiminin belirlenmesi ve insan sağlığı açısından oldukça faydalı yağ asitlerini içeren mantarlara bir türün daha ilavesi yapılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Analize tabi tutulacak mantar örnekleri 2015-2017 yılları arasında Afyon, Ladik (Samsun) ve Manavgat (Antalya) bölgelerinden toplanmıştır. Toplanan örnekler laboratuvara getirildikten sonra, mantar kurutma dolabı içerisinde 60°C'de suyunu kaybedinceye kadar tutularak kurutulmuş, makroskobik-mikroskobik özellikleri çıkarılarak ve arazide elde edilen verilerle birleştirilerek teşhis kitapları 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 (1996), Winkler (1996). Teşhisi yapılan mantar örnekleri birleştirilerek tek bir numune halinde sürekli ekstraksiyon yöntemine tabi tutulmak üzere toz haline getirilmiştir.

Sürekli Ekstraksiyon metodu

Sürekli ekstraksiyon, kaynama noktası sıcaklığında bir ekstraksiyon sıvısı buharının yoğunlaştırılarak ekstrakte edilecek toz haline getirilmiş örnek üzerine gönderilmesiyle elde edilir. Bu yöntem için Soxhlet cihazı kullanılmış ve kurulumu yapılarak yoğunlaştırıcı su giriş-çıkışı ayarlanmıştır. Cihaz içerisine (100 mL'lik ekstraksiyon kartuşu) öğütülmüş mantar numuneleri yerleştirilmiştir. Cihaza bağlı 250 mL'lik balon jöje içerisine saf hekzan (Merck) konularak ayarlanabilir ısıtıcının

üzerine sistem sabitlenmiştir. Ayarlanabilir ısıtıcının sıcaklığı saf hekzanın kaynama noktasına (68°C) getirilmiş ve sıcaklık sabitlenmiştir. Sürekli ekstraksiyon işlemleri 6 saat süreyle uygulanmıştır. Elde edilen mantar ekstraktı Gaz Kromatografisi (GC)'deki yağ asit tayinleri için ön hazırlık yöntemi olan esterleşmeye tabi tutulmuştur. Hazırlanan mantar numunelerine ait ekstrakt, filtreden geçirilerek GC'de üç tekrarlı yağ asiti analizleri yapılmıştır.

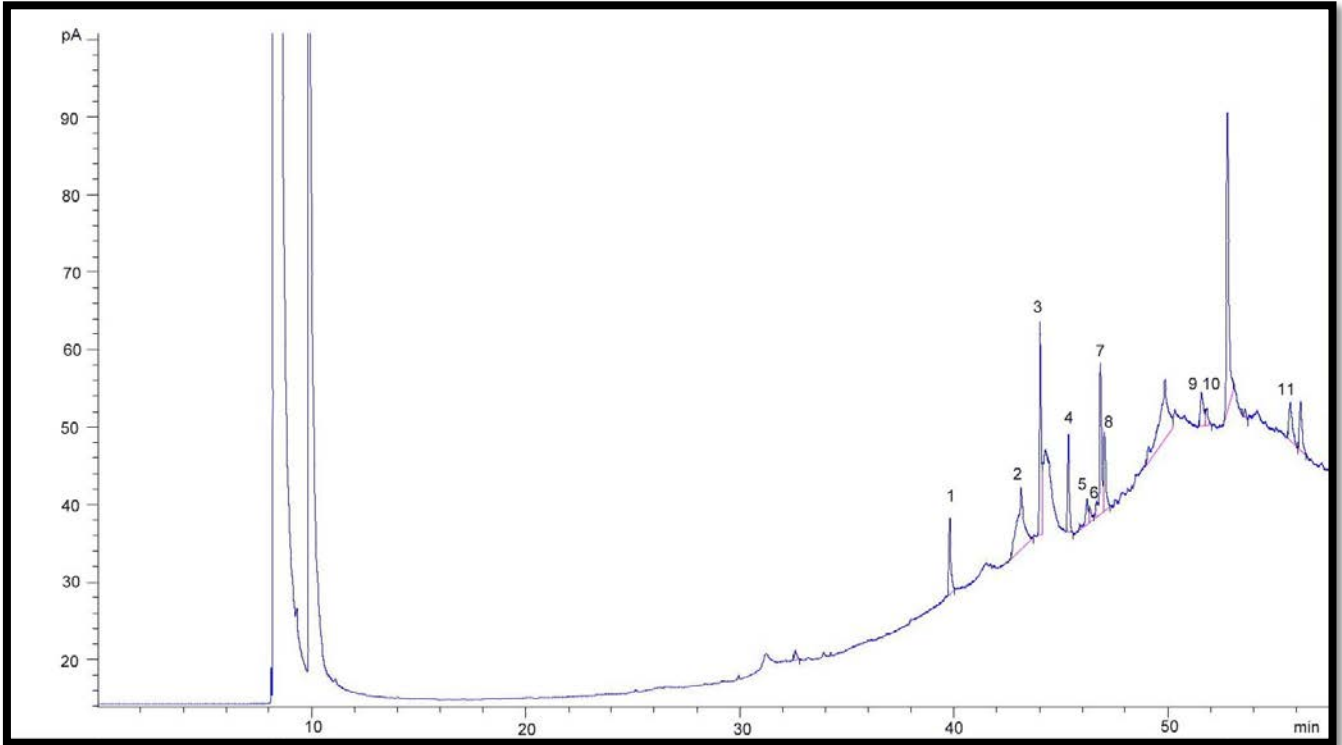
Yağ asit kompozisyon analizleri

Agilent 6890 GC'nin otomatik enjektör kısmına 1000 µL'lik vialler halinde analizi yapılacak olan numuneler yerleştirilmiştir ve enjeksiyon kısmından splitless olarak 10 µL enjeksiyon yapılmıştır. GC'nin analiz kolonu HP-88 Capillary 100 m x 250 µm x 0.25dir. Sistemin taşıyıcı hareketli gaz fazı He (1,3 mL/dk), sıcaklık programı 0-50 °C'ye 4 dakika ve 50-250 °C'ye kademeli olarak artırılmış ve bu sıcaklık değerinde 58 dakika analiz yapılmıştır ve FID dedektörle sinyaller alınmıştır. Kalibrasyon için standart yağ asit (FAME, Food Industry FAME Mix, Restek Company) örneklerinin analizi yapılmıştır. Mantar numunesinden elde edilen analiz sonuçları, kalibrasyon değerleriyle karşılaştırılarak yağ asit türü ve yüzdeleri tespit edilmiştir.

Bulgular ve Tartışma

Afyon, Ladik (Samsun) ve Manavgat (Antalya) yörelerinden toplanan *Lycoperdon utriformis* örnekleri, kurutulup birleştirilerek değirmende çekildikten sonra elde edilen toz halindeki numunenin sürekli ekstraksiyon yöntemiyle ekstraktı çıkartılıp GC'de tayin edilen yağ asiti kompozisyonları Şekil 1 ve Tablo 1'de verilmiştir.

GC'de yağ asit kompozisyon tayini yapılan *Lycoperdon utriformis*'e ait yüzde oranları; C18:1c (Oleik asit) %7.75, C18:0 (Stearik asit) %7.63, C18:3 ω3 (α Linolenik asit) %6, C20:1 (Eikosenoik asit) % 3.30, C18:2c (Linoleik asit) %3.30, C16:0 (Palmitik asit) %2.77, C22:6 (Dokosaheksaenoik asit) %2.60, C24:1 (Nervonik asit) %2.10, C18:3ω6 (γ Linolenik asit) %1.24, C24:0 (Lignoserik asit) %0.85, C20:0 (Araşidik asit) %0.67 ve Doymuş yağ asidi (saturated fatty acid) %11.92, Tekli doymamış yağ asidi (Mono Unsaturated Fatty Acid; MUFA) %13,12, Çoklu doymamış yağ asidi (Poly Unsaturated Fatty Acid; PUFA) %13,11 şeklindedir (Şekil 1 ve Tablo 1).



Şekil 1. *Lycoperdon utriformis*'e ait yağ asit kompozisyon analizi GC kromatoğramı

(1. C16:0, 2. C18:0, 3. C18:1c, 4. C18:2c, 5. C18:3n6, 6. C20:0, 7. C18:3n3, 8. C20:1, 9. C24:1, 10. C24:0, 11. C22:6)

Tablo 1. *Lycoperdon utriformis*'in yağ asidi kompozisyonları

Pik	Alıkonma zamanı (dk)	Yüzde alan	Yağ asidi
1	39.819	2.76904	C16:0
2	43.161	7.63201	C18:0
3	44.041	7.74754	C18:1cis
4	45.356	3.27359	C18:2cis
5	46.230	1.23990	C18:3 ω 6
6	46.373	0.67266	C20:0
7	46.862	5.99909	C18:3 ω 3
8	47.053	3.28947	C20:1
9	51.578	2.08292	C24:1
10	51.825	0.84659	C24:0
11	55.725	2.59984	C22:6

Lycoperdon utriformis'te Oleik asit (%7.75), Stearik asit (%7.63) ve α Linolenik asit(%6) miktarlarının en yüksek düzeylerde olduğunu görmekteyiz. Genel olarak bakıldığında, makrofungus örnekleri üzerine yapılan çalışmalarda, yüksek oranda bulunan yağ asitleri Linoleik

asit, Oleik asit ve Palmitik asittir (Üstün 2011). Dolayısıyla çalışılan örneğin de makrofungusların genelinin yağ asit kompozisyon oranlarıyla benzerliği olduğu ortaya konulmuştur.



Analizi yapılan türde doymuş ve doymamış yağ asitleri türleri ve miktarlarına bakıldığında; doymamış yağ asitleri (C18:1c, C18:2c, C18:3w3, C18:3w6, C20:1, C24:1) miktarlarının, doymuş yağ asitleri (C16:0, C18:0, C20:0, C24:0) miktarlarına oranı yaklaşık olarak 2 kat fazla olduğu görülmüştür. Dolayısıyla üzerinde çalışma yapılan türün, doymamış yağ oranının fazla olması oldukça

sağlıklı ve yararlı alternatif bir besin kaynağı olduğu görülmektedir.

Sonuç olarak, yapısında doymuş ve doymamış yağ asitleri ihtiva eden *Lycoperdon utriformis*'in, özellikle hem doymamış yağ asiti kaynağı olması hem de doğal olarak yetişmesi ve kolay elde edilebilir (Sesli ve Denchev 2014, Yılmaz ve Ark. 2016) dolayısıyla halk açısından ekonomik, sağlıklı bir besin ögesi olduğu görülmüştür.

Kaynaklar

- Ayaz F.A., Chuang L.T., Torun H.L., Çolak A., Sesli E., Presley J., Smith B.R., Glew R.H., *Fatty acid and amino acid compositions of selected wild-edible mushrooms consumed in Turkey*, International Journal of Food Sciences and Nutrition, 62(4): 328–335 (2011).
- Barros L., Baptista P., Correia D.M., Casal S., Oliveira B., Ferreira I.C.F.R., *Fatty acid and sugar compositions, and nutritional value of five wild edible mushrooms from North east Portugal*, Food Chemistry, 105:140-145 (2007).
- Breitenbach J., Kränzlin F., *Fungi of Switzerland*, Volume 1-5. Verlag Mykologia CH-6000 Luzern 9, Switzerland (1983-2005).
- Dähncke R.M., *1200 Pilze*, AT Verlag Aarau, Stuttgart (1993).
- Diez V.A., Alvarez A., *Compositional and nutritional studies on two wild edible mushrooms from North West Spain*, Food Chemistry, 75:417–422 (2001).
- Doğan H.H., Akbaş G., *Biological activity and fatty acid composition of Caesar's mushroom*, Pharm Biol, 51(7): 863–871 (2013).
- Ergönül G., Akata I., Kalyoncu F., Ergönül B., *Fatty Acid Compositions of Six Wild Edible Mushroom Species*, Scientific World Journal, Jun 6;2013:163964 (2013).
- Ellis M.B., Ellis J.P., *Fungi Without Gills (Hymenomycetes and Gasteromycetes)*, Chapman and Hill, London (1990).
- Guillamón E., García-Lafuente A., Lozano M., D'Arrigo M., Rostagno M.A., Villares A., Martínez J.A., *Edible mushrooms: Role in the prevention of cardiovascular diseases*, Fitoterapia, 81:715–723 (2010).
- Heleno S.A., Barros L., Sousa M.J., Martins A., Ferreira I.C.F.R., *Study and characterization of selected nutrients in wild mushrooms from Portugal by gas chromatography and high performance liquid chromatography*, Microchemical Journal, 93:195-199 (2009)
- Jordan K., *The New Guide to Mushrooms*, Anness Publishing Ltd., Singapore (1996).
- Kavishree S., Hemavathy J., Lokesh B.R., Shashirekha M.N., Rajarathnam S., *Fat and fatty acids of Indian edible mushrooms*, Food Chemistry, 106:597-602 (2008)
- Liu G., Wang H., Zhou B., Guo X., Hu X., *Compositional analysis and nutritional studies of Tricholoma matsutake collected from Southwest China*, Journal of Medicinal Plants Research, 4(12):1222-1227 (2010).
- Moser M., *Keys to Agarics and Boleti*, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart (1983).
- Pedneault K., Angers P., Gosselin A., Tweddell R.J., *Fatty acid composition of lipids from mushrooms belonging to the family Boletaceae*, Mycological Research, 110:1179-1183 (2006).
- Pedneault K., Angers P., Avis T.J., Gosselin A., Tweddell R.J., *Fatty acid profiles of polar and non-polar lipids of Pleurotus ostreatus and P. cornucopiae var. 'citrino-pileatus' grown at different temperatures*, Mycological Research, 111:1228-1234 (2007).
- Pereira E., Barros L., Martins A., Ferreira I.C.F.R., *Towards chemical and nutritional inventory of Portuguese wild edible mushrooms in different habitats*, Food Chemistry, 130: 394–403 (2012).
- 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).
- 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/checklists/sesli-v106-checklist.pdf>): 1–136.
- Üstün O., *Makrofungusların besin değeri ve biyolojik etkileri*, Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, 68(4): 223-240 (2011).
- Valverde M.E., Hernández-Pérez T., Paredes-López O., *Edible Mushrooms: Improving Human Health and Promoting Quality Life*, International Journal of Microbiology, 2015:376387 (2015).
- 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., Türkel 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).



Geliş(Received) :01/06/2017
Kabul(Accepted) :26/03/2018

Research Article
DOI:10.30708/mantar.318148

A New Record for Turkish Mycota from Tokat Province: *Arachnopeziza aurelia* (Pers.) Fuckel

Hakan IŞIK¹, İbrahim TÜRKEKUL²

Corresponding author: hakanbiyoloji@gmail.com

¹ Tokat Science and Art Center, 60200, Tokat, Turkey
² Gaziosmanpaşa University, Faculty of Arts and Science,
Department of Biology, 60200, Tokat, Turkey

Abstract: In this study, fungal samples collected in Tokat province were identified as *Arachnopeziza aurelia* (Pers.) Fuckel and recorded for the first time for the Turkish mycota. Short description, photographs, locality, collection date and ecological features of the newly reported species was provided.

Key words: *Arachnopeziza aurelia*, biodiversity, macrofungi, new record, Tokat, Turkey

Türkiye Mikotası İçin Tokat Yöresinden Yeni Bir Kayıt: *Arachnopeziza aurelia* (Pers.) Fuckel

Öz: Bu çalışmada, Tokat yöresinden toplanan mantar örnekleri *Arachnopeziza aurelia* (Pers.) Fuckel olarak teşhis edildi ve Türkiye mikotası için ilk kez kaydedildi. Yeni rapor edilen türün kısa tanımı, fotoğrafları, lokalitesi, koleksiyon numarası ve ekolojik özellikleri verildi.

Anahtar kelimeler: *Arachnopeziza aurelia*, biyoçeşitlilik, makrofunguslar, yeni kayıt, Tokat, Türkiye

Introduction

Arachnopeziza is a genus of family *Arachnopezizaceae* and it has approximately 39 species worldwide (Kirk, 2011). This genus is characterized by sessile apothecia seated on well-developed subicular mat. It is minute to medium large, cupulate to patellate, white to some shade of orange or buff. Moreover it has septate excipular hairs. The asci are 8-spored, small to fairly large, clavate to cylindrical. The ascospores are hyaline, ellipsoid to fusoid to filiform, usually tapering below, 1- to 7-septate. Paraphyses hyaline, simple or branched, filiform, usually septate, with an obtuse apex (Whitton et al., 2012; Korf 1951).

According to Sesli and Denchev (2014), 2158 macrofungi species were recorded for Turkish mycota. Of these, 215 are *Ascomycota*. With recent studies such as; Uzun et al., 2015a, 2015b; Kaya, 2015; Akata and Doğan,

2015; Kaya and Uzun, 2015; Kaya et al., 2016; Taşkın et al., 2015; Akçay and Uzun, 2016; Taşkın et al., 2016; Öztürk et al., 2016; Doğan and Kurt, 2016; Doğan et al., 2016; Acar and Uzun, 2016; Akata et al., 2016a, 2016b, 2016c; Uzun et al., 2017a, 2017b; Türkekul, 2017; this number has increased even more. The aim of this study is to contribute for Turkish mycota.

The area where samples were collected is about 8 km away from Tokat city center and surrounded by mixed forest. It has a transition climate between the Black Sea climate and the continental climate. Some of the common plants in the region are *Pinus sylvestris* L., *Rosa canina* L. and members of the genera *Juniperus*, *Salix*, *Quercus*, *Crataegus*.



Materials and Methods

Fungal samples were collected in Tokat province in spring 2017. Morphological and ecological characteristics of the samples were recorded and they were photographed in their natural habitats. Then, they were brought to the laboratory and dried. Microscopic descriptions were carried out predominantly on dried specimens by using a light microscope. Some chemical reagents (5% KOH solution, congo red; cotton blue etc.) were used for the examination of macroscopic and microscopic structures. Measurements of anatomical features (spores, asci, paraphyse, hairs) were presented based on at least 20 measurements. Amyloid reactions were tested by using Melzer's reagent. Identification of the samples was performed by measuring macroscopic and microscopic features of the specimens. The following literature were used for identification; Korf (1951), Breitenbach and Kränzlin (1984), Wang (2009), Whitton et al. (2012), Beug et al. (2014), Park et al. (1985), Gamundi and Gaiotti (1994). The identified samples were deposited in Fungarium of Biology Department of Gaziosmanpaşa University.

Results

Short description of newly reported species, photograph of apothecia, microphotographs of asci, paraphyses and spores are provided below. The systematic of newly reported species are accordance with Index Fungorum (www.speciesfungorum.org; accessed 16 December 2017).

Fungi

Ascomycota

Arachnopezizaceae

Arachnopeziza aurelia (Pers.) Fuckel (1870) [1869-70].

Synonymy: *Arachnopeziza fulgens* (Hazsl.) Boud.; *Belonidium aurelia* (Pers.) De Not.; *Belonidium fulgens* (Hazsl.) Sacc.; *Cryptomyces wauchii* Grev.; *Lachnella aurelia* (Pers.) Quél.; *Peziza aurelia* Pers.; *Peziza aurelia* Pers. f. *aurelia*; *Peziza wauchii* Grev.; *Stictis wauchii* (Grev.) Berk.; *Tapesia aurelia* (Pers.) W. Phillips; *Tapesia fulgens* Hazsl.

Apothecia 0,3 - 2 mm, gregarious or scattered, sessile, rounded and cup-shaped when young, becoming

shallowly cup-shaped at maturity, stalkless, attached to the substrate by yellowish mycelium; hymenium smooth, pale yellow to golden yellow; outer surface and margin covered with yellow-orange to orange hairs (Figure 1a). **Hairs** with hyaline to orange walls and contents, often cohering to form short teeth, flexuous, 3.5–4.1 μm wide below, tapering to an apex 1.5–3 μm wide, usually pointed, fairly thick-walled below, tending to be thin-walled toward the apex, smooth, multiseptate, 100–500 \times 5 μm long (Figure 1c). **Asci** biseriata, 8 spored, clavate, (88)102-115 \times (7.2)7.7-9.2(11.5) μm (Figure 1b). **Ascospores** hyaline, smooth, fusoid-cylindric, attenuate below and often also above, obliquely uniseriate to irregularly biseriata, 1–3 septate when mature, 12–22 \times 3.5–5 μm (Figure 1b). **Paraphyses** hyaline, simple, filiform, not or only slightly enlarged at the apex, 1–2 μm wide; septa few (Figure 1b).

On the undersides of decaying fallen logs, acorn cups, branches, or leaves and especially on fruits and involucre of members of the genera *Quercus*, *Fagus*. Season spring, summer, and fall (Korf 1951).

Tokat center, Çamdere village, on dead branches of *Quercus* sp, 20. 05. 2017, 40° 23' 32" N, 36° 33' 145" E, 1335 m, ISIK 700.

Discussion

With this study, *Arachnopeziza aurelia* (Pers.) Fuckel was reported for the first time from Turkey. *Arachnopeziza aurata* was previously reported at genus level for first time from Turkey by Sümer (1989) has similar morphological characters with *A. aurelia*. Although their macroscopic properties are similar, these two species can easily be distinguished from each other by differences in the spore structure (Breitenbach and Kränzlin, 1984). Multiseptate spores of *A. aurata* are filiform to slightly clavate and its sizes are different from *A. aurelia* (60-75 \times 1.5-3 μm). Other similar species are *A. delicatula* Fuckel, *A. arctostaphyli* Cash, *A. candidofulva* (Schwein.) Korf. *A. delicatula* has larger clavate spores (24-48 \times 2–4 μm). Fruiting body of *A. arctostaphyli* is cream-colored and its 7-septate spores are filiform. *A. candidofulva* can be distinguished from *A. aurelia* by its 1-septate spores at maturity (Korf, 1951; Breitenbach and Kränzlin, 1984; Beug et al. 2014).

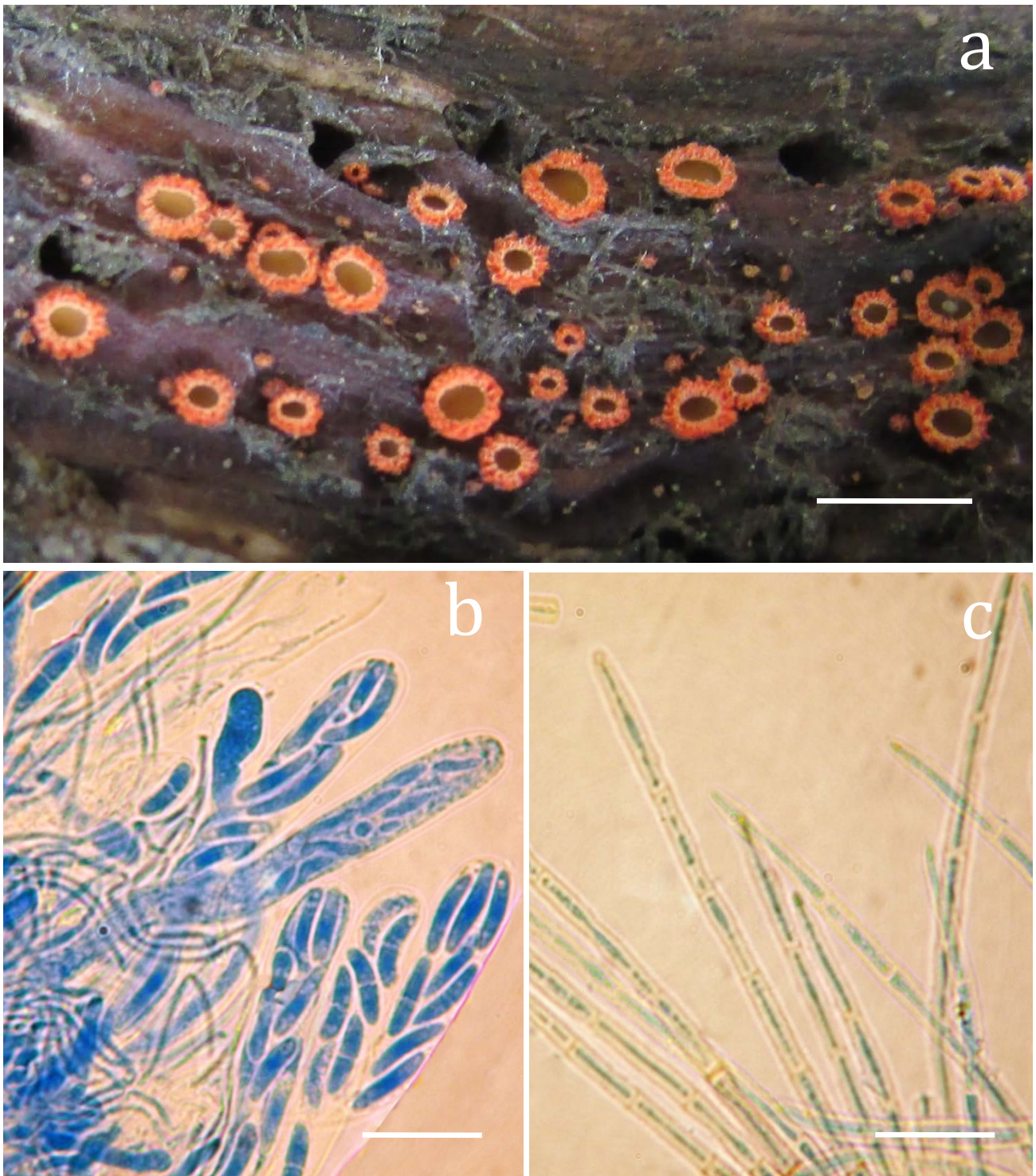


Figure 1. *Arachnopeziza aurelia*: a- ascocarps, b- asci with spores and paraphyses (in lactophenol cotton blue), c- hairs (in lactophenol cotton blue+KOH) (scale bars: a = 4 mm; b and c = 15 µm)



References

- Acar, İ., Uzun, Y., *Peziza granularis* Donadini Türkiye Mikotası 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 J. Bot, 44(1), 91-95(2015).
- Akata, I., Kabaktepe, Ş., Akgül, H., *Cordyceps militaris*, The First Record From Family Cordycipitaceae in Turkey. Kastamonu Uni., Orman Fakültesi Dergisi, 16 (1), 280-284(2016a).
- Akata, I., Kaya, A., Uzun Y., Two New Genus Records for Turkish Helotiales. Kastamonu Univ., Journal of Forestry Faculty, 16(1), 131-134(2016b).
- Akata, I., Uzun Y., Kaya, A., Macrofungual diversity of Zigana Mountain (Gümüşhane/Turkey). Biological Diversity and Conservation, 9(2), 57-69(2016c).
- Akçay, M.E., Uzun, Y., *Belonidium mollissimum* (Lachnaceae): Türkiye Mikotası için Yeni Bir Tür. The Journal of Fungus, 7(2), 118-121(2016).
- Beug, M.W., Bessette, A.E., Bessette, A.R., Ascomycete Fungi of North America. Austin, TX, University of Texas Press, USA(2014).
- Breitenbach, J., Kränzlin, F., Fungi of Switzerland, Volumes 1. Verlag Mykologia, Luzern(1984).
- Doğan, H.H., Kurt, F., New macrofungi records from Turkey and macrofungual diversity of Pozantı-Adana. Turkish Journal of Botany, 40, 209-217(2016).
- Doğan, H.H., Bozok, F., Taşkın, H., Büyükalaca, S., Türkiye İçin Beş Yeni Morchella Kaydı. Alatarım, 15(1), 1-11(2016).
- Gamundi, I.J., Gaiotti, A.L., Notas Sobre Discomycetes Andino-Patagonicos I. *Arachnopeziza* Fuckel y *Parachnopeziza* Korf. Sydowia, 46(1), 12-22(1994).
- Kaya, A., Contributions to the macrofungual diversity of Atatürk Dam Lake basin. Turkish Journal of Botany, 39, 162-172(2015).
- Kaya, A., Uzun, Y., Six new genus records for Turkish Pezizales from Gaziantep Province. Turkish Journal of Botany, 39, 506-511(2015).
- Kaya, A., Uzun, Y., Karacan, İ.H., Yakar, S., Contributions to Turkish Pyronemataceae from Gaziantep Province. Turkish Journal of Botany, 40: 298-307(2016)
- Kirk, P., Index Fungorum. Website: [http:// www.speciesfungorum.org](http://www.speciesfungorum.org); accessed 16 December 2017 (2011).
- Korf, R.P., A monograph of the *Arachnopezizeae*. Lloydia, 14(3), 129–180(1951).
- 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).
- Park, P.J., Lee, J.Y., Otani, Y., Taxonomical Studies on Discomycetes in Korea(I). Kor. J. Mycol., 13(1), 27-40(1985).
- Sesli, E., Denchev, C.M., Checklists of the myxomycetes, larger ascomycetes, and larger basidiomycetes in Turkey. 6 th. Mycotaxon Checklists Online: 1–136(2014).
- Sümer, S., Some new records for the fungus flora of Turkey. University of Marmara Journal of Sciences and Technology, 6, 1-22(1989).
- Taşkın, H., Doğan, H.H., Büyükalaca, S., *Morchella galilaea*, an autumn species from Turkey. Mycotaxon, 130: 215-221 (2015).
- Taşkın, H., Doğan, H.H., Büyükalaca, S., Clowez, P., Moreau, P.A., O'Donnell, K., Four new morel (*Morchella*) species in the elata subclade (M. sect. Distantes) from Turkey. Mycotaxon, 131: 462-482(2016).
- Türkekul, İ., New Calbovista, Mycena, Rhizopogon, Stictis, and Symphyosirinia records from Turkey. Mycotaxon, 132, 503-512(2017).
- Wang, Y.Z., A new species of *Arachnopeziza* from Taiwan. Mycotaxon, 108, 485–489(2009).
- Whitton, S.R., McKenzie, E.H.C., Hyde, K.D., Fungi associated with Pandanaceae. Springer, Netherlands(2012).
- Uzun, Y., Kaya A., Karacan, İ.H., Kaya, Ö.F., Yakar, S., Macromycetes determined in İslahiye (Gaziantep/Turkey) district. Biological Diversity and Conservation, 8(3), 209-217(2015a).
- Uzun, Y., Kaya A., Karacan, İ.H., Kaya, Ö.F., Yakar, S., *Neobulgaria* Petr. and *Trichopeziza* Fuckel, Two New Genus Record for Turkish Lachnaceae. Mantar Dergisi, 6(2), 58-61(2015b).
- Uzun, Y., Karacan, İ.H., Yakar, S., Kaya A., *Octospora* Hedw., A New Genus Record for Turkish Pyronemataceae. Anatolian Journal of Botany, 1(1), 18-20(2017a).
- Uzun, Y., Kaya A., Karacan, İ.H., Yakar, S., New additions to Turkish Hyaloscyphaceae. Mantar Dergisi, 8(1), 13-19(2017b).



Geliş(Received) :03/02/2018
Kabul(Accepted) :30/03/2018

Araştırma Makalesi
DOI:10.30708/mantar.390809

CCl₄ İle Oksidatif Stres Oluşturulan Sıçanlarda *Pholiota aurivella* Liyofilize Ekstrenin Bazı Biyokimyasal ve Hematolojik Parametrelere Etkisi

Abdulahad DOĞAN^{1*}

* Sorumlu yazar:abdulahadog@yyu.edu.tr

¹Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi,
Eczacılık Temel Bilimler Bölümü, Biyokimya Anabilim Dalı, Van, Türkiye

Öz: Mantarlar, organizmaları bazı zararlı bileşiklerin toksik etkilerinden korumak için önemli işlev görürler. Bu çalışmada, karbon tetraklorür (CCl₄) ile oksidatif stres oluşturulan sıçanlarda *P.aurivella* liyofilize ekstrenin kan parametreleri üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Ratlar, toksisite testi sonrası dört deney grubuna ayrıldı; Kontrol, CCl₄, CCl₄+*P.aurivella* (100 mg/kg ekstre) ve CCl₄+*P.aurivella* (500 mg/kg ekstre) grupları. 4 haftalık muamele sonunda, CCl₄'ün oksidatif stresine karşı *P.aurivella* ekstraktının oral alımının hematolojik parametrelere, eritrosit fragilitesine ve sıçanların eritrositlerinde antioksidan savunma unsurlarından redukte glutatyon (GSH), glutatyon redüktaz (GR), glutatyon S-transferaz (GST), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx), süperoksid dismutaz (SOD) aktiviteleri ve malondialdehit (MDA) içeriği tespit edilerek değerlendirilmiştir. Sonuçlara göre, CCl₄ ve CCl₄+*P.aurivella* ekstresi uygulanan gruplarda GSH düzeyi Kontrol grubuna göre önemli düşüş gösterdi. Diğer yandan, CCl₄ grubundaki GPx aktivitesi Kontrol ve CCl₄+*P.aurivella* gruplarına göre önemli düşüş gösterdi. Ayrıca, CCl₄ ve CCl₄+*P.aurivella* gruplarında eritrosit fragilitesi (özellikle % 0.6 NaCl konsantrasyonunda) Kontrol grubuna göre önemli artış gözlemlendi. CCl₄ grubunda RBC, HGB, HCT, WBC, PLT and PCT gibi bazı hematolojik parametrelerde önemli azalma gösterirken RDWs de ise önemli artma belirlendi. Bakılan parametreler üzerinde CCl₄'ün zararlı etkileri olmasına rağmen bunu *P.aurivella* için söylemek zordur. Fakat, *P.aurivella* eritrosit hemolizine katkı sunduğu için zararlı olabilir. Bu yüzden insanların bu mantarı tüketiminde dikkatli davranması gerektiği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: CCl₄, *Pholiota aurivella*, antioksidan enzimler, hematolojik parametreler, eritrosit fragilite, sıçan.

Effect of *Pholiota aurivella* Lyophilized Extract On Some Biochemical and Hematological Parameters Against CCl₄-Induced Oxidative Stress In Rats

Abstract: Mushrooms play an important function to protect organisms from the toxic effects of some harmful compounds. In this study, it was aimed to evaluate the effects of *Pholiota aurivella* lyophilized extract on blood parameters against carbon tetrachloride (CCl₄)-induced oxidative stress in rats. After the toxicity test, rats were divided into four experimental groups: Control, CCl₄, CCl₄+*P.aurivella* (100 mg/kg, extract) and CCl₄+*P.aurivella* (500 mg/kg, extract) groups. At the end of 4 weeks experiment, the roles of the orally administrated *P.aurivella* extract oral administration against CCl₄-induced oxidative stress were evaluated by measuring hematological parameters, erythrocyte fragility, antioxidant defence system such as reducte glutathione (GSH), glutathione reductase (GR), glutathione S-transferase (GST), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), superoxide dismutase (SOD) activities and malondialdehyde



(MDA) content in erythrocyte of rats. According to the results, CCl_4 and $CCl_4+P.aurivella$ groups caused significantly decrease in GSH level according to Control group. On the other hand, in CCl_4 group GPx enzyme activity significantly decreased according to Control and $CCl_4+P.aurivella$ groups. Also, erythrocyte fragility (especially 0.6 % NaCl concentration) significantly increased in the CCl_4 and $CCl_4+P.aurivella$ groups according to Control group. Significant decrease in some hematological parameters (RBC, HGB, HCT, WBC, PLT and PCT) and markedly increase in RDWs were observed in CCl_4 group. Although CCl_4 had clear harmful effects on the parameters examined, it was difficult to say this for *P.aurivella*. However, *P.aurivella* might be harmful because of its contribution to the hemolysis of erythrocytes. Therefore, people should be careful consumption of this mushroom.

Key words: CCl_4 , *Pholiota aurivella*, antioxidant enzymes, hematological parameters, erythrocyte fragility, rat.

Giriş

Dünyada hızla artan nüfus insanları yeni besin kaynaklarına yönlendirmiştir. Ancak bu besin kaynakların varlığı kadar kalitesi ve insan sağlığı üzerindeki etkileri de bir o kadar önemlidir. Günümüzde koruyucu tıp ve gıda endüstrileri başta olmak üzere, yiyeceklerde kısıtlı oranda bulunan sentetik antioksidanlar yerine doğal antioksidanlara yoğun bir ilgi oluşmuştur (Sanchez, 2017). Bu doğal kaynaklardan biri olan mantarlar içermiş oldukları riboflavin, B vitaminleri, selenyum, bakır, potasyum, diyet lifi, kitin, b-glukanlar, steroller, alkaloidler, laktonlar, terpeneler, seramitler, D2 vitamini, fenolik bileşikler ve kükürt içeren amino asit (ergotiyonin) yapıları sayesinde güçlü antioksidan etkiye sahip gıdalardır (Regula ve Siwulski, 2007; Kalaras ve ark., 2012; Roupas ve ark., 2012; Feeney ve ark., 2014). Antioksidan etkileri nedeniyle, serbest radikallerden hidroksil radikali (OH \cdot) ve süperoksit radikali (O $_2^{\cdot-}$) veya süperoksit kaynaklarından hidrojen peroksit'i (H $_2$ O $_2$) ortadan kaldırma ve lipid peroksidasyonunu engelleyerek hücre membranlarını koruma potansiyeline sahiptirler. Mantarların antiinflamatuvar, anti-tümör, antibakteriyel, antioksidan, antiviral, antialerjik, antiaterojenik, hipoglisemik, immünomodülatör ve çeşitli hematolojik parametreler üzerinde olumlu etkileri vardır (Chen ve ark., 2009; Guillamón ve ark., 2010). Ancak genel anlamda koruyucu etkileri bilinen mantarların istenmeyen ve ölümlü sonuçlanabilen ciddi toksik etkileride bulunmaktadır. *Agrocybe cylindracea* veya *Agrocybe aegerita* olarak bilinen ve halk arasında yenilebilir olarak geçen mantarın deney hayvanlarında ciddi karaciğer toksisitesine sebep olduğu bildirilmiştir (Jin ve ark., 2014). Araştırmacılar aynı çalışmada,

Volvariella volvacea, *Flammulina velutipes*, *Agaricus bisporus* and *Lyophyllum shimeji* mantarları veya bunlardan elde edilen bazı maddelerin nörotoksik, kardiyovasküler hastalıklar, embriyo gelişiminin durması, hiperkalemi ve miyokardiyal iskemi gibi hastalıklara sebep olduğunu bildirmiştir.

Pholiota aurivella (Batsch) P. Kumm. mantarı yaz sonu ve sonbahar aylarında *Fagus*, *Fraxinus*, *Salix* ve *Alnus* sp. gibi canlı ağaçların gövdeleri üzerinde ve genellikle kümeler halinde yetişen bir mantar türüdür. Baharatımsı bir kokusu ve sütümsü bir tadı olan bu mantar hem yenilebilir hem de yenilmez olarak rapor edilmiştir (Solak ve Gücin, 1992; Breitenbach ve ark., 1995). Türkiye'de Yukarı Sakarya Bölümü; Erzurum-Kars Bölümü, Yukarı Murat-Van Bölümü; Adana Bölümü; Orta Fırat Bölümü olmak üzere; Çin, Japonya, Uzak Doğu, Rusya, Avrupa, Kuzey Amerika, Fas gibi dünyanın pek çok ülkesinde bulunan bir mantar türüdür (Imazeki ve Hongo, 1987).

Bu çalışmada, CCl_4 ile oksidatif stres oluşturulan sıçanlarda *P.aurivella* mantarından elde edilen liyofilize ekstrenin 100 ve 500 mg/kg dozlarında oral yolla verilerek eritrositlerde çeşitli antioksidan savunma sistemi enzim düzeylerine, lipid peroksidasyona, eritrosit frajilitesine ve çeşitli hematolojik parametrelere etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Sıçan (rat)

Çalışmada Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Deney Hayvanları Ünitesinden temin edilen 2-6 aylık, 200-350 gr ağırlığındaki 24 adet erkek sıçan (*Wistar albino*) kullanıldı. Sıçanlar 25 ± 1 °C oda sıcaklığında 12 saat



aydınlık/12 saat karanlık ışık periyodunda standart plastik kaplarda *ad libitum* olarak beslenmeleri sağlandı. Yapılan çalışmada parametrelere olumsuz etki edecek faktörlerin en aza indirilmesi için gerekli bütün önlemler alındı.

Mantar

Çalışmamda kullanılan *Pholiota aurivella* (Batsch) P. Kumm mantarı Salix ağacı üzerinden Van'nın Gürpınar ilçe merkezinde, Ekim 2016'da Cemil Sadullahoğlu ve Prof. Dr. Yusuf Uzun tarafından 38° 19'534"K, 43°23'867"D, koordinatlarından toplanmıştır. Prof. Dr. Kenan Demirel tarafından teşhis edilen mantar örnekleri (Numune no: 7488) Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü Mikoloji Araştırma Laboratuvarında (VANF) saklanmaktadır.

Kimyasallar

Karbon Tetraklorür (CCl₄), Süperoksit dismutaz (SOD) enzim kiti (Ransod, SD125), Glutasyon peroksidad (GSH-Px) enzim kiti (Ransel, RS504), Redükte glutasyon (GSH), Okside glutasyon (GSSG), Bütilenmiş hidroksitolüen (BHT), Tiyobarbitürik asit (TBA), 1.1.3.3.tetraethoksiopropan (MDA), 5-5'-Ditiobis 2-nitrobenzoik asit (DTNB), Hidroksi metil amino metan (Tris), Hidroklorik asit (HCl), Sodyum sülfat (Na₂SO₄), Beta Nikotinamid Adeninükleotit fosfat (NADPH), Metafosforik asit (HPO₃), Triklor asetik asit (TCA), Sodyum klorür (NaCl), Sodyum hidroksit (NaOH), Disodyum hidrojen fosfat (Na₂HPO₄), Sodyum dihidrojen fosfat (NaH₂PO₄), Etilen diamin tetra asetik asit (EDTA), Sodyum sitrat (Na₃C₆H₅O₇), Sulfosalisilik asit (SSA), disodyum karbonat (Na₂CO₃), Etanol, Ketamin (% 10 luk).

Ekstraksiyonun hazırlanması

Öğütülmüş mantar numunesinden 100 gr tartılarak, bir cam behere konuldu ve 1 lt (% 80 etanol + % 20 saf su) ile ekstre edilerek, beherin üzeri alüminyum folyo ile kapatıldı. +22 °C'de, 2 saat süreyle çalkalayıcıda homojenize edilen karışım, daha sonra santrifüj cihazına yerleştirildi. Homojenize karışım 20 dk. boyunca (15320 g) +4 °C'de (Sorvall RC-5B; DuPont, Wilmington, DE, USA; rotor Beckman JA14 (137 mm) seri No. 02U8152, USA) santrifüj edildi. Supernatanttan arta kalan çökelti etanol kullanılarak aynı ekstraksiyon işlemleri tekrarlandı. Elde edilen supernatant +40 °C'de

evaporatör yardımıyla çözücülerden arındırıldı. Elde edilen yoğunlaştırılmış fraksiyonlar, -85 °C sıcaklık ve 50 millitor basınç altında liyofilizatör cihazında kuruyana kadar bekletildi. Elde edilen *Pholiota aurivella* liyofilize ekstraktları -20 °C'de saklandı.

Toksisite testi ve deney uygulaması

Deneye başlamadan önce kullanılan mantarların olası toksik etkilerinin belirlenmesi için *P.aurivella* mantar türü için 3 adet sıçan toksisite testinde kullanıldı. 3 adet hayvana *P.aurivella* mantar ekstresi düşük dozdan yüksek doza doğru (20, 100, 250, 500, 1000 ve 2000 mg/kg) gavaj ile verilerek (OECD, 2001) 0.5, 2, 4, 8, 24, 48 ve 72 saat sonra ki muhtemel klinik ve toksikolojik semptomları gözlemlendi. Toksisite testi sonrası uygulanacak dozlar belirlendi. 24 adet sıçan aşağıdaki gibi her grupta 6 sıçan olacak şekilde gruplandırıldı.

Kontrol grubu (n=6): Normal sıçan yemi ve musluk suyu,

CCl₄ grubu (n=6): [0.5 mL CCl₄+0.5 mL zetin yağı= 1 mL/kg/haftada 2 kez (intraperitoneal, *i.p*) (Suzek ve ark., 2016).

CCl₄+*P.aurivella* (100 mg/kg, ekstre) grubu (n=6): 100 mg/kg *P.aurivella* ekstresi gavaj ile günde birkez 4 hafta boyunca verildi ve ayrıca (0.5 mL CCl₄+0.5 mL zetin yağı=1 mL/kg/haftada 2 kez, *i.p* uygulaması yapıldı.

CCl₄+*P.aurivella* (500 mg/kg, ekstre) grubu (n=6): 500 mg/kg *P.aurivella* ekstresi gavaj ile günde bir kez 4 hafta boyunca verildi ve ayrıca (0.5 mL CCl₄+0.5 mL zetin yağı=1 mL/kg/haftada 2 kez, *i.p* uygulaması yapıldı. Ayrıca tüm gruplarda yem ve su tüketimi *ad libitum* olarak sağlandı.

Kan örneklerinin alınması ve eritrosit paketinin hazırlanması

Deney sonunda sıçanlar % 10'luk ketamin ile anesteziye tabi tutularak enjektörler yardımıyla kalplerinden kan alındı. Kanlar EDTA'lı tüplere alındı. Bu kandan eritrosit paketi, eritrosit frajilitesi ve hematolojik parametreler çalışıldı. EDTA'lı cam tüplere alınan kandan 1mL alınarak 3000 rpm'de +4 °C'de soğutmalı santrifüjde 15 dakika santrifüj edildi. Oluşan plazma atıldı. Altta kalan hacme eşit oranda soğuk serum fizyolojik (% 0.9 NaCl) eklenerek eritrositlerin yıkanma işlemi gerçekleştirildi. Serum fizyolojik eklenen tüpler 2000 rpm'de +4 °C'de 8 dakika santrifüj edildi. Her



seferinde yukardaki işlem tekrarlanarak eritrosit yıkama işlemi üç kez tekrarlandı. En sonunda elde edilen eritrosit paketi (-80°C) difirize konularak muhafaza edildi. Eritrositteki malondialdehit (MDA) içerikleri ve redükte glutasyon (GSH) seviyeleri tayinleri aynı gün gerçekleştirilirken, süperoksit dismutaz (SOD), glutasyon peroksidaz (GPx), glutasyon S-transferaz (GST), glutasyon redüktaz (GR) ve katalaz (CAT) enzim aktiviteleri hazırlanan eritrosit paketinde çalışıldı.

Biyokimyasal analizler

Eritrositteki lipid peroksidasyon ürünü olan malondialdehid (MDA) içeriği, indirgenmiş glutasyon (GSH) seviyesi, glutasyon s-transferaz (GST), glutasyon redüktaz (GR), glutasyon peroksidaz (GPx), superoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) enzim aktivitelerine bakıldı (Dogan ve ark., 2015).

Eritrosit fragilitesi

EDTA'lı kan numuneleri oda sıcaklığında 24 saat inkübe edildi. pH 7.4'te fosfat tamponu ile % 0.9 NaCl stok solüsyonu hazırlandı. Daha sonra stok solüsyondan % 0.9 NaCl'dan % 0.1'den % 0.9'e değişen farklı konsantrasyonlar hazırlandı. Hazırlanan farklı konsantrasyondan 5 mL alınarak ayrı tüplere konuldu devamında inkübasyona bırakılan kandan 30 uL alınarak bu tüplere boşaltıldı. Tüpler oda sıcaklığında 30 dakika bekletildikten sonra, 3000 rpm'de 5 dakika boyunca santrifüje edildi. Tüplerdeki süpernatantlar 540 nm'de spektrofotometrik olarak okundu (Singh ve ark., 2016).

Hematolojik parametrelerin okunması

Deney sonunda EDTA'lı tüplere alınan kan örnekleri hematolojik analizatör cihazında (Coulter LH 780 Analyzer, ABD) okunmak üzere Eritrosit (RBC), Hemoglobin (HGB), Hematokrit (HCT), Ortalama eritrosit hacmi (MCV), Eritrositteki ortalama hemoglobin miktarı (MCH), Eritrositteki ortalama hemoglobin konsantrasyonu (MCHC), Eritrosit dağılım genişliği (RDW), Beyaz kan hücresi=Lokosit (WBC), Trombosit sayısı (PLT), Trombositcrit (PCT) ve Trombosit dağılım genişliği (PDW) parametrelerine bakıldı.

İstatistik analiz

Çalışmada elde edilen verilerin istatistik analizinde Minitab 14 paket programı kullanılmıştır. Gruplar arası farklılıkların belirlenmesinde tek yönlü varyans analizi

(ANOVA) kullanıldı. Gruplar birbiriyle karşılaştırıldıktan sonra, gruplar arasındaki farklılıklar Tukey ikili karşılaştırma testinden yararlanılarak yapılmıştır.

Bulgular

***P. aurivella* liyofilize ekstrenin MDA ve GSH düzeylerine etkisi**

Şekil 1'de görüldüğü gibi, MDA içeriği gruplar arası kıyaslamada istatistiksel açıdan önemli bir fark bulunmazken, GSH düzeyi ise CCl₄, CCl₄+*P.aurivella* (100 mg/kg) ve CCl₄+*P.aurivella* (500 mg/kg) gruplarda Kontrol grubuna göre önemli azalma gösterdi.

***P.aurivella* liyofilize ekstrenin antioksidan enzim aktivitelerine etkisi**

Tablo 1'de görüldüğü gibi GST, GR, GPX, CAT ve SOD enzim aktivitelerine bakıldı. Bu parametrelerden GPx aktivitesi CCl₄ grubunda hem Kontrol hem de CCl₄+*P.aurivella* (100 ve 500 mg/kg) gruplarına göre önemli azalma gösterdi. Diğer antioksidan enzim aktivitelerinde ise belirlenen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı değişiklik gözlenmedi.

***P.aurivella* liyofilize ekstrenin eritrosit fragilitesine etkisi**

Şekil 2'de görüldüğü gibi eritrosit membranının NaCl'un farklı konsantrasyonlardaki hemoliz olma durumunu göstermektedir. Hemoliz olayının % 0.6 NaCl konsantrasyonundan başlayarak % 0.1 NaCl ise hemoliz olayının % 100'e yakın gerçekleştiğini göstermektedir. Özellikle % 0.6 konsantrasyonundaki hemoliz olayında CCl₄ ve CCl₄+*P.aurivella* (100 ve 500 mg/kg) gruplarının Kontrol grubuna göre önemli artış gösterdiği görülmektedir.

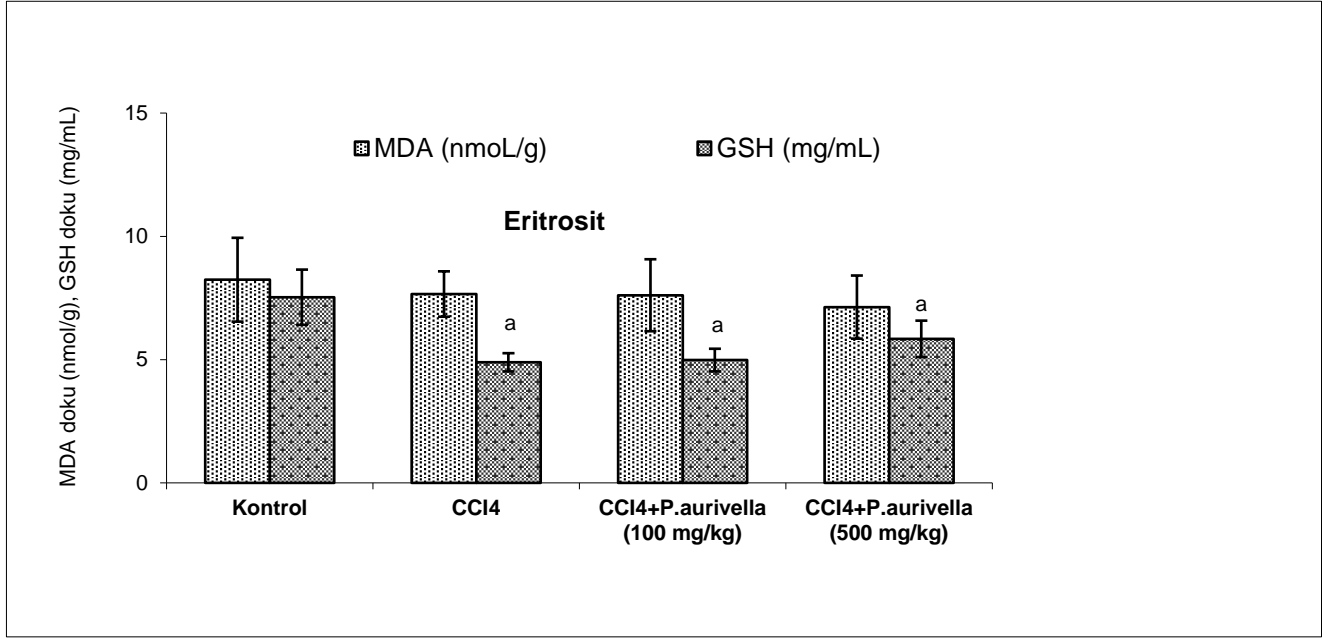
***P.aurivella* liyofilize ekstrenin hematolojik parametrelere etkisi**

Tablo 2'de görüldüğü gibi, CCl₄ grubunda hematolojik parametrelerden RBC, HGB ve HCT düzeyleri Kontrol grubuna göre önemli düşüş gösterdi. Ayrıca, HCT parametre %'si CCl₄+*P.aurivella* (100 mg/kg) grubu Kontrol grubuna ve CCl₄+*P.aurivella* (500 mg/kg) grubuna göre önemli düşüş gösterdi. MCV parametresi ise CCl₄ grubunda hem Kontrol hem de CCl₄+*P.aurivella* (100 ve 500 mg/kg) gruplarına göre önemli artış gösterdi. Diğer yandan, Kontrol grubu RDW (%) ve RDW-SD (fL), değerleri tüm gruplara göre önemli



düşüş gösterirken, Kontrol grubu WBC ve PLT değerleri tüm gruplara göre önemli artış gösterdi. Trombosit parametrelerinden PCT hem CCl₄ hem de CCl₄+*P.aurivella* (100 mg/kg) grubunda Kontrol grubuna göre önemli düşüş gösterdi. Diğer yandan PDW değeri

ise CCl₄+*P.aurivella* (100 ve 500 mg/kg) gruplarda Kontrol grubuna göre önemli artış gösterdi.



Şekil 1. CCl₄ ile oksidatif stres oluşturulan sıçanlarda *P.aurivella* mantar ekstresinin eritrosit MDA ve GSH düzeyine etkisi. Önem derecesi bütün testler için (p < 0.05) olarak kabul edildi.

^a:Kontrol grubuna göre farklı (p < 0.05).

CCl₄:karbon tetraklorür, *P.aurivella*: *Pholiota aurivella*, GSH: redükte glutatyon, MDA: malondialdehit

Tablo 1. CCl₄ ile oksidatif stres oluşturulan Rat'larda *P.aurivella* liyofilize ekstrenin eritrosit antioksidan enzim aktivitelerine etkisi

Enzimler	Kontrol	CCl ₄	CCl ₄ + <i>P. aurivella</i> (100 mg/kg)	CCl ₄ + <i>P. aurivella</i> (500 mg/kg)
GST U/ml	0.85±0.19	0.69±0.21	0.88±0.17	0.88±0.05
GR U/ml	0.75±0.20	0.52±0.14	0.70±0.16	0.73±0.17
CAT U/ml	992.74±249.62	801.94±190.58	843.61±209.00	854.17±73.25
GPx U/ml	753.79±95.85	286.21±74.00 ^a	505.60±116.31 ^{ab}	508.53±104.91 ^{ab}
SOD U/ml	2024.06±115.09	2042.85±95.41	1998.68±109.39	2100.24±83.05

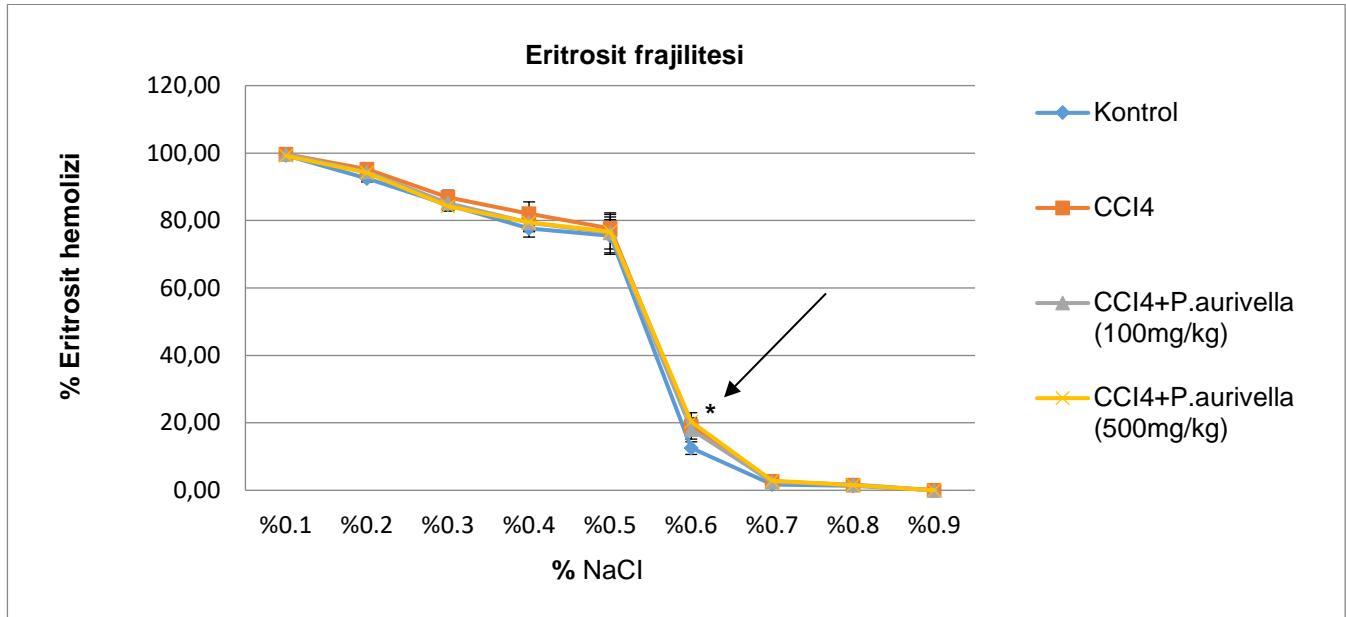
Önem derecesi bütün testler için (p < 0.05) olarak kabul edildi.

^aKontrol grubuna göre farklı (p < 0.05)

^bCCl₄ grubuna göre farklı (p < 0.05)

^cCCl₄+*P.aurivella* (100 mg/kg, ekstre) grubu CCl₄+ *P.aurivella* (500 mg/kg, ekstre) grubuna göre farklı (p < 0.05)

CCl₄:karbon tetraklorür, *P.aurivella*: *Pholiota aurivella*, GST: glutatyon S-transferaz, GR: glutatyon redüktaz, CAT: katalaz, GPx: glutatyon peroksidaz, SOD: süperoksid dismutaz



Şekil 2. CCl₄ ile oksidatif stres oluşturulan sıçanlarda *P.aurivella* mantar ekstresinin eritrosit frajilitesine etkisi. Önem derecesi bütün testler için (p < 0.05) olarak kabul edildi.

*: Aynı konsantrasyon noktadaki ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p < 0.05).

CCl₄: karbon tetraklorür, *P.aurivella*: *Pholiota aurivella*, % NaCl: yüzde sodyum klorür

Tablo 2. CCl₄ ile oksidatif stres oluşturulan Rat'larda *P.aurivella* liyofilize ekstrenin hematolojik parametrelere etkisi

Hematolojik parametreler	Kontrol	CCl ₄	CCl ₄ + <i>P.aurivella</i> (100 mg/kg)	CCl ₄ + <i>P.aurivella</i> (500 mg/kg)
RBC (×10 ⁶ /uL)	8.13±0.43	7.16±0.65 ^a	7.83±0.70	7.75±0.27
HGB (g/dL)	14.78±0.52	12.94±1.76 ^a	13.78±0.94	14.88±0.39
HCT (%)	45.72±1.56	40.80±3.48 ^a	41.48±1.89 ^a	44.88±1.62 ^c
MCV (fL)	55.14±3.01	63.40±7.61 ^a	53.06±2.54 ^b	52.05±0.79 ^b
MCH (pg)	18.20±0.82	19.20±1.71	17.06±0.66	17.73±0.85
MCHC (g/dL)	32.82±0.91	30.98±2.08	33.18±0.96	33.08±0.60
RDW (%)	12.36±0.69	18.06±3.63 ^a	17.50±3.65 ^a	15.98±0.22 ^a
RDW-SD (fL)	26.96±1.69	40.18±6.25 ^a	35.36±7.02 ^a	32.38±0.37 ^{ab}
WBC (×10 ³ /uL)	4.44±0.89	2.92±0.32 ^a	2.18±0.72 ^a	2.28±0.83 ^a
PLT (×10 ³ /uL)	975.20±63.08	758.40±68.65 ^a	768.60±44.83 ^a	825.50±52.14 ^a
PCT(%)	0.59±0.06	0.48±0.04 ^a	0.47±0.03 ^a	0.53±0.06
PDW (fL)	16.08±0.26	16.86±0.87	16.84±0.44 ^a	16.50±0.22 ^a

Önem derecesi bütün testler için (p < 0.05) olarak kabul edildi.

^a: Kontrol grubuna göre farklı (p < 0.05).

^b: CCl₄ grubuna göre farklı (p < 0.05).

^c: CCl₄+*P.aurivella* (100 mg/kg, ekstre) grubu CCl₄+*P.aurivella* (500 mg/kg, ekstre) grubuna göre farklı (p < 0.05).

CCl₄: karbon tetraklorür, *P.aurivella*: *Pholiota aurivella*, RBC: eritrosit, HGB: hemoglobin, HCT: hematokrit, MCV: ortalama eritrosit hacmi, MCH: eritrositteki ortalama hemoglobin miktarı, MCHC: eritrositteki ortalama hemoglobin konsantrasyonu, RDW: eritrosit dağılım genişliği, WBC: beyaz kan hücresi, PLT: trombosit sayısı, PCT: trombositcrit, PDW: trombosit dağılım genişliği.



Tartışma

Oksidatif stres, pek çok hastalığın gelişimine öncülük eden, kronik hastalık riskini artıran, yaşlanma süreçlerinde önemli rol oynayan, ölümcül sonuçları olan endojen ve eksojen kaynaklı olarak meydana gelebilen karmaşık olaylar dizisidir. Oksidatif stres yapıcı olumsuzluklardan kaçınmak için vücudun antioksidan savunma sisteminin güçlü olması gerekmektedir. Mantarlar tiamin, riboflavin, askorbik asit, ergosterol ve niasin gibi vitaminler, esansiyel amino asitler, çeşitli proteinler, yağlar, glikozitler, uçucu yağlar, tokoferoller, fenolik bileşikler, flavonoidler, karotenoidler, folatlar, organik asitler bakımından etkili antioksidan bileşikler içerirler (Patel ve Goyal, 2012). Mantarlar antioksidan zengin besinler olmalarının yanı sıra *Lentinula*, *Ganoderma*, *Lactarius*, *Pleurotus*, *Auricularia*, *Ramaria*, *Agrocybe*, *Volvoapluteus*, *Bovista*, *Tricholoma* ve *Hericium* gibi mantar cinslerinin önemli biyolojik aktiviteye sahip oldukları ve tıp alanında kanser tedavilerinde yararlanıldığı rapor edilmiştir (Alkan ve ark., 2017).

Bu çalışmada, kayıtlara hem yenilebilir hem de yenilmez olarak geçen *P.aurivella* mantarından elde edilen liyofilize ekstrenin CCl_4 ile oksidatif stres oluşturulan sıçanlara verilerek çeşitli kan parametrelerine etkisi araştırılmıştır. *P.aurivella* ekstresinin *in vivo* olarak eritrositlerdeki çeşitli antioksidatif parametrelere, lipid peroksidasyonuna, eritrosit fragilitesine ve çeşitli hematolojik parametrelerine etkisi ilk defa bu çalışmada incelenmiştir. Şekil 1'de görüldüğü gibi kullanılan *P.aurivella* ekstraktının lipid peroksidasyonunu engellemediği tam aksine CCl_4 'un olumsuz etkileri gibi GSH düzeyinde önemli düşüşe neden olduğu görülmektedir. Bu bulgular bize *P.aurivella* ekstresinin rat modelinde eritrosit hücre membranını koruma potansiyelinin olmadığını ve vücutta önemli savunma görevi gören antioksidan enzimlerden GSH düzeyinde düşüşe neden olması sebebiyle toksik etkili olabilme ihtimalini kuvvetlendirmektedir. Bu mantar ile ilgili yapılan *in vivo* çalışmaların bulgularına rastlanılmadığından karşılaştırma yapılamamıştır. Ancak, *Pleurotus ostreatus*, *Volvariella volvacea*, *Flammulina velutipes*, *Lactarius necator*, *Agaricus bisporus*, *Lyophyllum shimeji*, *Pleurocybella porrigens* ve *A. aegerita* gibi çeşitli mantarların *in vivo* çalışmalarındaki bulgular bu mantarların çeşitli toksik etkilere sahip olmaları ile bizim çalışmamıza benzerlik

göstermektedir (Jin ve ark., 2014). Yapılan bir diğer çalışmada, CCl_4 ile oksidatif stres oluşturulan sıçanlarda CCl_4 grubunda MDA içeriğinin önemli artış, GSH düzeyinin ise önemli düşüş gösterdiği ve tedavi amaçlı kullanılan CCl_4 +silymarin ve CCl_4 +*Macrocybe gigantea* etanolik ekstratının uygulandığı rat gruplarında ise bu parametrelerde tam tersi etki görüldüğü, bu nedenle silymarin ve mantarın koruyucu etki gösterdiği belirtilmiştir (Acharya ve ark., 2012). Tablo 1' de görüldüğü gibi çalışmada GST, GR, CAT, GPx ve SOD gibi antioksidan enzim aktivitelerine bakıldı. CCl_4 toksisitesine karşı mantarın kullanılan gruplarda GPx enzim aktivitesinde artışa neden olduğu görüldü. GPx, H_2O_2 varlığında indirgenmiş glutatyonun (GSH) okside glutatyon (GSSG) oksitlenmesini ve oksitlenen GSSG'nin glutatyon redüktaz enzimi aracılığıyla tekrar GSH'a dönüştürülmesini sağladığı için GPx aktivitesindeki bu artışa sebep olmuş olabilir. Ayrıca, mantarlarla ilgili yapılan çeşitli çalışmalarda CCl_4 'un çeşitli karaciğer harabiyet parametrelerinde (AST ve ALT gibi) ve lipid peroksidasyon düzeyinde artışa neden olduğu ancak koruyucu amaçlı kullanılan mantarların antioksidan savunma enzim seviyelerindeki artışla beraber bu oluşan hasarı baskıladığı rapor edilmiştir (Anand ve ark., 1996; Jayakumar ve ark., 2006). Çalışmamızda kullanmış olduğumuz *P.aurivella* liyofilize ekstresi ise eritrosit MDA içeriğini CCl_4 grubuna göre düşüremediği ve GPx enzimi dışında çeşitli antioksidan savunma sistemi enzimlerinde aktivite artışı görülemediğinden bu mantarın lipid peroksidasyonunu engelleme ve antioksidan doku koruyucu etkisinin zayıf veya olmadığını göstermektedir.

Çalışmada bakılan bir diğer önemli parametre eritrositlerin parçalanmaksızın su alabilme yeteneği anlamındaki eritrosit fragilitesidir. Eritrositlerin membran esnekliği hücre agregasyonunun belirlenmesinde önemlidir. Eritrosit fragilitesi genellikle herediter sferositoz, immün hemolitik anemiler, herediter stomasitoz, hipokromik mikrositik anemiler ve karaciğer hastalıklarının tanısında kullanılan önemli bir testtir. Şekil 2'de görüldüğü gibi, % 0.6 NaCl konsantrasyonuna bırakılan eritrositlerin CCl_4 , CCl_4 +*P.aurivella* (100 mg/kg) ve CCl_4 +*P.aurivella* (500 mg/kg) gruplarındaki hemoliz durumu Kontrol grubuna göre önemli artış gösterdiği ve eritrositlerdeki hemoliz olayının en fazla % 0.6 ve % 0.5 civarındaki NaCl konsantrasyonlarında olduğu tespit edilmiştir. Bu



sonuçlar antioksidan savunma sistemindeki parametrelerle uyum gösteren bir durumdur. Oksidatif stres plazma membranını dengesiz hale getirerek geçirgenliğini arttırması, akışkanlığını azaltabilmesi ve membran stabilitesindeki azalma ile ilişkili önemli bir faktör olması (Paraiso ve ark., 2014) nedeniyle, eritrosit farjilite testi endirekt antioksidan statünün değerlendirilmesi olarak ta tanımlanabilir. CCl_4 'ün karaciğer toksisite etkisi ile bilinen zehirli bir madde olması, sitokrom P450 elektron taşıma zincirindeki NADPH ile genellikle triklorometil radikali ($\bullet CCl_3$) ve triklorometil peroksit radikalleri ($CCl_3O_2\bullet$) olarak düşünülen maddelere karaciğerde metabolize olması ve bu maddelerin O_2 ile hızlı tepkimesi sonucu serbest radikal üretimini ve eritrosit osmotik frajilitesini arttırdığı belirlenmiştir (Fujita, 1990; Ganie ve ark., 2011). Bu veriler *P.aurivella* ekstresinin CCl_4 kaynaklı eritrositlerin hemolizini engellemediği görülmüştür.

Eritrosit ve hemoglobin içeriği, memelilerin oksijen alımındaki rolleri ve hayatta kalmasının korunmasında önemli rol oynamaktadır. Tablo 2'de görüldüğü gibi CCl_4 grubunda RBC, HGB, HCT, WBC, PLT ve PCT düzeyleri Kontrol grubuna göre önemli düşüş gösterirken MCV ve RDWs değerleri ise artış gösterdi. Daha önce sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada, CCl_4 'ün RBC ve HGB düzeyinde düşmeye neden olduğu bildirilmiştir (Elshater ve ark., 2013). Bir başka çalışmada, CCl_4 'ün WBC, RBC, HGB ve PLT düzeyinde Kontrol grubuna göre önemli düşüş gösterdiği rapor edilmiştir (Rahmouni ve ark., 2017). Bulgularımız bu çalışma verileriyle uyumludur. Çalışmamızın başka parametrelerinde de bazı önemli değişikliklerin bulunmuş olması çalışmadaki deney süresi ile ilişkili olabilir. CCl_4 'ün karaciğer hasarı ile beraber oluşan serbest radikaller kemik iliğindeki eritropoetik ve trombopoietik aktiviteleri engellenmesi sonucu RBC, PLT ve diğer hücre üretiminin baskılanmasına sebep olabileceği bildirilmiştir (Moritz ve

Pankow, 1988). CCl_4 ile beraber kullanılan farklı dozdaki *P.aurivella* ekstresinin MCV, RDW-SD ve HCT parametrelerinde önemli etki gösterdiği bulunmuştur. Bu etkiler kesin olmamakla beraber anemi, B12 vitamin eksikliği, eritrosit frajilitesindeki hassaslık ve hematopoetik sürecindeki kötü eritrositlerin oluşumuna bağlı olabilir. Kullanılan mantar ekstresinin CCl_4 hasarına karşı çeşitli hematolojik parametreler üzerinde gözle görülür değişikliklere sebep olması, ileriki çalışmalarda *P.aurivella* mantarının hematolojik parametrelerle olan mekanizmasının ayrıntılı çalışılması klinik anlamda önemli katkılar sunabilir.

Sonuç olarak, CCl_4 ile oksidatif stres oluşturulan sıçanlarda *P.aurivella* mantar ekstresinin antioksidan savunma sistemi enzimlerinden GSH düzeyinde düşüşe, GPx aktivitesinde artmaya neden olduğu görülmüştür. Bu iki parametre döngü içinde birbiriyle ilişkili olan parametreler olduğundan bir parametredeki aksaklık diğer bir parametre düzeyini etkileyebilmenin sonucu olabilir. Ayrıca, kullanılan mantar ekstresinin her iki dozunun CCl_4 gibi eritrosit hemolizini arttırdığı ve hematolojik parametreler üzerinde ise çeşitli dalgalanmalara neden olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmadan elde edilen bulgulara dayanılarak *P.aurivella* mantarının toksik etkilerinin olabileceği, insanların bu mantarı tüketiminden kaçınması gerektiği; ancak çeşitli hematolojik hastalıklar ve kanser çalışmalarında bu mantarın etkilerinin ortaya konulmasının önemli olacağı sonucuna varılmıştır.

Teşekkür

Mantarın toplanması ve teşhisinde katkısı olan Prof. Dr. Yusuf UZUN'a, Prof. Dr. Kenan DEMİREL'e, Cemil SADULLAHOĞLU'na ve bu çalışmayı destekleyen Van YYÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı'na (TAP-2017-6448) teşekkürü bir borç bilirim.

Kaynaklar

- Acharya K., Chatterjee S., Iswas G., Hatterjee A., Saha G.K., *Hepatoprotective effect of a wild edible mushroom on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice*. Int. J. Pharm. Pharm. Sci., 4(3): 285-288 (2012).
- Alkan S., Özparlak, H., Zengin, G., Kaşık G., *Antioxidant and In Vitro Some Enzyme Inhibitory Activities of Methanolic Extract of Cultivated Lentinula edodes*. Mantar dergisi/The journal of fungus, 8(2): 90-98 (2017).
- Anand C.V., Anand V., Agarwal R., *Antioxidant enzymes, gammaglutamyl transpeptidase and lipid peroxidation in kidney of rats exposed to cigarette smoke*. Ind. J. Exp. Biol., 34 (5): 486– 488 (1996).
- Breitenbach J., Kränzlin F., *Fungi of Switzerland*. Vol.4, Verlag Mykologia Lucerne, Switzerland 1995. p. 368.
- Chen J.N., Wang Y.T., Wu J.S.B., *A glycoprotein extracted from golden oyster mushroom pleurotus citrinopileatus exhibiting growth inhibitory effect against U937 leukemia cells*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 57(15): 6706–6711 (2009).



- Dogan A., Celik I., Kaya M.S., *Antidiabetic properties of lyophilized extract of acorn (Quercus brantii Lindl.) on experimentally STZ-induced diabetic rats*. Journal of Ethnopharmacology, 176(1): 243–251 (2015).
- Elshater A.A., Salman M.M., Mohamed S.A., *The hepatoameliorating effect of Solanum nigrum against CCl₄ induced liver toxicity in Albino rats*. Egypt Acad. J. Biol. Sci., 5 (1): 59–66 (2013).
- Feeney M.J., Dwyer J., Hasler-Lewis C.M., Milner J., Noakes M., Rowe S., et al., *Mushrooms and health summit proceedings*. The Journal of Nutrition, 144(1): 1128-1136 (2014).
- Fujita K., *A study on erythrocyte-membrane osmotic resistance and periodontal changes in rats treated with carbon tetrachloride*. Shikwa Gakuho, 90(5): 727-743 (1990).
- Ganie S.A., Haq E., Hamid A., Qurishi Y., Mahmood Z., Zargar B.A., et al., *Carbon tetrachloride induced kidney and lung tissue damages and antioxidant activities of the aqueous rhizome extract of Podophyllumhexandrum*. BMC Complement Alternative Medicine, 11: 17. doi.org/10.1186/1472-6882-11-17 (2011).
- Guillamón E., García-Lafuente A., Lozano, M., D'Arrigo M., Rostagno M.A., Villares A., et al., *Edible mushroom: Their roles in the prevention of cardiovascular diseases*. Fitoterapia, 81(7): 715–723 (2010).
- Imazeki R., Hongo T., *Colored illustrations of mushrooms of Japan*, vol I (in Japanese). Hoikusha, Osaka. 1987. p. 207.
- Jayakumar T., Ramesh E., Geraldine P., *Antioxidant activity of the oyster mushroom, Pleurotus ostreatus, on CCl₄-induced liver injury in rats*. Food and Chemical Toxicology, 44 (12): 1989-1996 (2006).
- Jin Y., Che T., Yin Y., Yu G., Yang Q., Liu W., et al., *Lethal protein in mass consumption edible mushroom Agrocybe aegerita linked to strong hepatic toxicity*. Toxicol, 90 (1): 273-285 (2014).
- Kalaras M.D., Beelman R.B., Holick M.F., Elias R.J., *Generation of potentially bioactive ergosterol-derived products following pulsed ultraviolet light exposure of mushrooms (Agaricus bisporus)*. Food Chemistry, 135(2): 396–401 (2012).
- Moritz R.P., Pankow D., *Effect of carbon tetrachloride and chloroform on hematologic parameters in rats*. Folia Haematol., 116 (2): 283–287 (1988).
- OECD Guideline for Testing of Chemicals Acute Oral Toxicity. Acute Toxic Class Method 17th December (2001), No 423.
- Paraiso L.F., de Freitas M.V., Goncalves E.O.A.F., de Almeida Neto O.P., Pereira E.A., Mascarenhas Netto R.C., et al., *Influence of acute exercise on the osmotic stability of the human erythrocyte membrane*. Int. J. Sports. Med., 35(13): 1072-7 (2014).
- Patel S., Goyal A., *Recent developments in mushrooms as anticancer therapeutics: a review*. Biotech, 2(1): 1-15 (2012).
- Rahmouni F., Hamdaoui L., Badraoui R., Rebai T., *Protective effects of Teucrium polium aqueous extract and ascorbic acid on hematological and some biochemical parameters against carbon tetrachloride (CCl₄) induced toxicity in rats*. Biomedicine & Pharmacotherapy, 91(1): 43–48 (2017).
- Regula J., Siwulski M., *Dried Shiitake (Lentinula edodes) and oyster (Pleurotus ostreatus) mushroom as a good source of nutrient*. Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria, 6(4): 135–142 (2007).
- Roupas P., Keogh J., Noakes M., Margetts C., Taylor P., *The role of edible mushrooms in health: Evaluation of the evidence*. Journal of Functional Foods, 4 (4): 687–709 (2012).
- Sanchez C., *Reactive oxygen species and antioxidant properties from mushrooms*. Synthetic and Systems Biotechnology, 1(2):13-22 (2017).
- Singh A.K., Singh S., Garg G., Rizvi S.I., *Rapamycin alleviates oxidative stress-induced damage in rat erythrocytes*. Biochemistry and Cell Biology, 94(5): 471-479 (2016).
- Solak M.H., Gücin F., *New records of macrofungi for Turkey from Bursa District and other macrofungi found in the district*. Turkish Journal of Botany, 16 (1): 335-346 (1992).
- Suzek H., Celik I., Dogan A., Yildirim S., *Protective effect and antioxidant role of sweetgum (Liquidambar orientalis) oil against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity and oxidative stress in rats*. Pharmaceutical Biology, 54 (3): 451–457 (2016).



Geliş(Received) :26/12/2017
Kabul(Accepted) :02/04/2018

Derleme
DOI:10.30708/mantar.371030

Flukonazol

Selim ÖNCEL^{1*},Sema Aşkın KEÇELİ²

*Sorumlu yazar: SelimOncel@doctor.com

¹Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Dahili Tıp Bilimleri Bölümü, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları Bilim Dalı, Umutepe Yerleşkesi, 41380 İzmit / KOCAELİ

²Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Umutepe Yerleşkesi, 41380 İzmit / KOCAELİ

Öz: Flukonazol, klinikte sık kullanılan triazolerdendir. Diğer azoller gibi, aromatik halkalar içeren bir bileşiktir. Flukonazol *Candida albicans*, *C. dubliniensis*, *C. guilliermondii*, *C. kefyr*, *C. parapsilosis*, *C. lusitanae* ve *C. tropicalis*'e etkilidir. *C. krusei* flukonazole doğal dirençli olup *C. glabrata*'nın birçok suşu da dirençli veya az duyarlıdır. Flukonazol, etkisini mantar hücre membranının önemli bir parçası olan fungal sterol ergosterolün sentezini engelleyerek gerçekleştirir. Flukonazole direnç gelişmesi nadir bir olaydır; ancak gerçekleştiğinde çoğunlukla tüm azollere çapraz direnç şeklindedir. Flukonazol ile tedavi başarısını öngörmeye flukonazol konsantrasyonu - zaman eğrisinde maksimum ilaç konsantrasyonunun (C_{max}), eğri altında kalan alanın ve minimum inhibitör konsantrasyon üzerindeki serum ilaç konsantrasyonuna ulaşmak için gerekli sürenin (T_{tau}) minimum inhibitör konsantrasyon değerine oranlarının değerlendirilmesi önerilmektedir. Flukonazol, oral yolla veya intravenöz infüzyon şeklinde verilir. Tamamına yakını (≥ 90) mide-bağırsak yolundan emildiği için, flukonazolün oral ve intravenöz farmakokinetiği benzerdir. Flukonazol, beyin-omurilik sıvısı da dahil olmak üzere süte ve bütün vücut sıvılarına geçer. Başlıca endikasyonları blastomikozis, kandidemi ile yaygın kandida enfeksiyonları, yüksek riskli hastalarda kandidiyaz profilaksisi, koksidiyoidomikozis ve kriptokokozistir. Klinik kullanımda anidulafungin, kaspofungin, amfoterisin B ve flusitozinle birlikte kullanılmasının olumlu etkileşimlerle sonuçlanabileceği düşünülmektedir. Hepatik CYP2C9 veya CYP3A4 izoenzimlerin substratı olarak işlev gören ve QT aralığını uzatan diğer ilaçlarla birlikte kullanımı, yakın izlem gerektirir. Gebeliklerinin ilk trimesterinde yüksek dozda flukonazol alan kadınların bebeklerinde konjenital bir anomali sendromuna neden olabileceği de yan etkileri nadirdir.

Anahtar kelimeler: Flukonazol, Kandida, Antifungal ajanlar

Fluconazole

Abstract: Fluconazole is one of the most commonly-used triazoles in clinic. Like other azoles, it is a compound composed of aromatic rings. Fluconazole is effective against *Candida albicans*, *C. dubliniensis*, *C. guilliermondii*, *C. kefyr*, *C. parapsilosis*, *C. lusitanae*, and *C. tropicalis*. *C. krusei* is naturally resistant to fluconazole and many strains of *C. glabrata* are either resistant or less sensitive. Fluconazole exerts its antifungal effects by inhibiting the synthesis of ergosterol, which is an integral part of the fungal cell membrane. Development of resistance is rare, but when occurs, it is in the form of cross-resistance to all azoles. In order to predict the therapeutic effectiveness of fluconazole in an individual case; the ratios of the maximum drug concentration (C_{max}) on fluconazole concentration – time curve, the area under the curve, and the time needed to reach the serum drug concentration above minimum inhibitory concentration (T_{tau}) to the minimum inhibitory concentration should be taken into account. Fluconazole may be administered via oral or intravenous route. Oral and intravenous pharmacokinetics of fluconazole are similar since the drug is absorbed almost completely (≥ 90) from the gastrointestinal system.



Fluconazole penetrates into all body fluids, including cerebrospinal fluid and human milk. Main indications include blastomycosis, candidemia, systemic candida infections, candidiasis prophylaxis in high-risk patients, coccidioidomycosis, and cryptococcosis. In clinical usage, it is thought that fluconazole will interact favorably with anidulafungin, caspofungin, amphotericin B, or flucytosine in either simultaneous or sequential usage. Concomitant administration with other drugs which act as hepatic CYP2C9 or CYP3A4 isoenzyme substrates or prolong the QT interval requires close monitoring. Although fluconazole may cause a congenital anomaly syndrome in infants born to women who have received the drug in high-doses in the first trimestre, its side effects are rare.

Key words: Fluconazole, Candida, Antifungal Agents

Giriş

Azol grubu antifungaller, imidazoller ve triazoller olmak üzere iki sınıfa ayrılır. Bu ilaçlar, her ne kadar etki düzeneği ve etkinlik spektrumu açısından benzer olsa da, farmakokinetikleri ve terapötik kullanımları açısından birbirinden çok farklıdır. Genellikle cilt enfeksiyonları için kullanılan imidazollerin aksine triazoller, hem dermatolojik hem sistemik enfeksiyonların profilaksisinde ve tedavisinde kullanılır. Sık kullanılan triazoller arasında flukonazol, itrakonazol, posakonazol ve vorikonazolü saymak mümkündür (Kisgen, 2015). Flukonazolün ketokonazol gibi erken dönem azollerinden başlıca farkı, imidazol yerine triazol halkası içermesidir (Owens ve ark., 2010).

Bulgular Ve Tartışma

Tarihçe

Antifungal ilaçların gelişimi, antibakteriyel ve antiparaziter ilaçlarınkinin gerisinde kalmıştır; yine de artık uzak geçmiş olarak baktığımız 1903 yılında bile potasyum iyodür gibi bileşiklerin sporotrikoz tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir.

Antifungal etkinlik gösteren maddelerin keşfedilmesi, 1930'larda grizeofulvinle başladı. Grizeofulvini beş yıl sonra azol bileşikleri (örn. benzimidazol) izledi; ancak bu bileşiklerin (örn. grizeofulvin, klorimidazol) klinik kullanıma girmeleri 1950'lerin ikinci yarısına kadar pek mümkün olmadı.

Benzimidazol, antifungal etkisi gösterilen ilk azol olarak 1944'te mikoloji tarihine geçti. Tıbbi önemi olan ilk azoller klotrimazol ve mikonazoldü; ancak toksisite ve yalnızca parenteral yolla uygulanabilmeleri, kullanımlarını kısıtlıyordu.

Klorimidazol, 1958'de dermatofit enfeksiyonlarında topikal preparat olarak piyasaya sunuldu. Klorimidazol,

özel olarak geliştirilip pazarlanan ilk azol türevi antifungaldir. Azollerin yüksek tedavi edici potansiyellerini fark edip bu antifungal grubu üzerinde duran ilk şirketler Janssen Pharmaceutica ve Bayer AG oldu. Daha sonra Merck, Sharp & Dohme'nin 1961'de piyasaya sürdüğü geniş spektrumlu antihelmentik tiabendazol, *Aspergillus*'a ve dermatofitlere etkinliğinin gösterilmesine karşın mayalara karşı etkisiz bulundu ve antifungal olarak fazla araştırmaya konu olmadı. Klotrimazol ve mikonazol, 1969'da, kötü biyoyararlanımları ve yüksek ilk geçiş metabolizmaları nedeniyle yalnızca topikal olarak kullanım alanı buldu. Mikonazol, parenteral yolla sistemik enfeksiyonların tedavisinde kullanılabilecek kadar düşük toksisitesi olan ilk azoldü. Klotrimazol, deney hayvanlarında ve insanda yeterince etkili ve emniyetli bir kullanım umudu veren ilk oral azoldü; ama karaciğer mikrozomal enzimlerini indüklemesi ve böylece metabolizmasının hızlanması sorunu yüzünden kullanımı sınırlı kaldı. Janssen Pharmaceutica tarafından geliştirilen mebendazolün geniş antihelmentik özelliklerinin yanı sıra antifungal etkinliği de keşfedildi.

1970'ler ve '80'lerde malignite, organ nakli, insan bağışıklık yetmezliği virüsü ("HIV") enfeksiyonu ve yaygın olarak kullanılmaya başlayan antibakteriyel ilaçlarla ilişkili mantar enfeksiyonlarının inanılmaz bir yükseliş göstermesi sonucunda etkili, emniyetli ve çeşitli yollarla uygulanabilen birçok antifungal ilaç geliştirildi.

Ketokonazol, 1977'de, ilk onaylı oral antifungal olma ünvanıyla kullanıma girdi. Oral biyoyararlanımının yüksekliği, etkinlik spektrumunun genişliği ve yan etkilerinin düşüklüğü bakımından diğer azollerden; kullanım kolaylığı ve toksisite azlığı bakımından amfoterisin B'den üstündü. Ketokonazol ve amfoterisin B'nin uzun yıllar sistemik mikozların tedavisinde ilk seçenek olarak yerlerini korumalarına karşın antifungal



dünyasında yan etkiler ve ilaç etkileşimleri birer sorun olmaya devam ediyordu.

1970'lerin sonu – '80'lerin başında Pfizer Ltd flukonazolü, Janssen Pharmaceutica ise itraconazolü geliştirdi. Bu iki antifungal geniş etki spektrumları, düşük toksisiteleri ve yüksek biyoyararlanımları ile tedavide önemli bir yer edindi (Ridgway ve Clark, 2013).

Kimyasal yapı

Flukonazol diğer azoller gibi, en az bir adet beş üyeli halka ile karbon-azot bağlarıyla bağlı ve aromatik özellik gösteren başka halkalar içeren bir bileşiktir. Beş üyeli halkalardan her birinde imidazollerde iki, triazollerde üç azot atomu vardır. İlacın kimyasal formülü $C_{13}H_{12}F_2N_6O$ şeklindedir (Owens ve ark., 2010). Flukonazolün kimyasal adı "α-(2,4-Diflorofenil)-α-(1H-1,2,4-triazol-1-ilmetil)-1H-1,2,4-triazol-1-etanol"dür (American Society of Health System Pharmacists, Inc. 2011).

Etki spektrumu

Flukonazol *Candida albicans*, *C. dubliniensis*, *C. guilliermondii*, *C. kefyr*, *C. parapsilosis*, *C. lusitanae* ve *C. tropicalis*'e etkilidir. *C. krusei* flukonazole doğal dirençli olup *C. glabrata*'nın birçok suşu da dirençli veya az duyarlıdır. Daha önce *C. haemulonii* olarak bilinen *C. auris* ise azollere, ekinokandinlere, polienlere veya her üç grup antifungale önemli oranlarda dirençlidir (Centers for Disease Control and Prevention, 2016). Yeni bir glükan sentez inhibitörü olan SCY-078, bu mantarla meydana gelen enfeksiyonların tedavisinde umut vaat etmektedir (Larkin ve ark., 2017).

Flukonazol, kandida dışı mantarlardan *Blastomyces dermatitidis*, *Coccidioides immitis*, *C. posadasii*, -bazı suşları dirençli olmak üzere- *Cryptococcus neoformans* ve *Histoplasma capsulatum*'a da etkili olup *Aspergillus*'a, *Malassezia pachydermatis*'e ve *Scopulariopsis* türlerine etkisizdir (American Society of Health System Pharmacists, Inc., 2011).

Etki düzeneği

Antifungaller etki düzeneklerine göre hücre duvarı veya membranına etkililer, hücre içinde etkililer ve diğerleri olarak üç grupta incelenir. Hücre duvarı veya membranına etkili antifungaller ergosterol inhibitörleri ve β-glukan sentaz inhibitörleri olarak ikiye ayrılır. Ergosterol inhibitörleri de kendi içinde azoller, polienler, skalen monooksijenaz inhibitörleri ve diğerleri olarak dörde ayrılır. Azoller imidazoller (klotrimazol, ketokonazol,

mikonazol, tiyokonazol vd.), triazoller (flukonazol, itraconazol, posakonazol, vorikonazol vd.) ve tiyazoller (abafungin) olmak üzere başlıca üç gruptur (Owens ve ark., 2010).

Flukonazol, etkisini mantar hücre membranının önemli bir parçası olan fungal sterol ergosterolün sentezini engelleyerek gerçekleştirir. Ergosterol eksikliği membran yapısını bozar, membranı daha geçirgen hale getirir, kitin sentezi ve besin taşınmasında anormalliklere yol açar. Sonuçta mantarın çoğalması ve büyümesi önlenmiş olur (Post, 2017).

Etki düzeneği tam olarak şöyle işlemektedir:

Flukonazolün beş üyeli halkasındaki azot atomuyla mantarın P-450 enzimi lanosterol C-14 metilazının hem kısmı arasında bir kompleks meydana gelir. Bu kompleks, lanosterolün ergosterole dönüşümündeki kritik demetilasyon (lanosterolün karbon 14 konumundaki α-metil grubunun koparılması) basamağının gerçekleşmesine engel olur (American Society of Health System Pharmacists, Inc., 2011; Post, 2017).

Flukonazolün hedefi olan P-450 enzimi, insan ve diğer memelilerde de vardır ve lanosterolden kolesterol yapımı için gereklidir. Flukonazol ve diğer azoller, imidazollere göre insan organizmasına daha az toksiktir ve daha az ilaç etkileşimine neden olur. Bunun nedeni, flukonazolün ve diğer triazollerin mantar sitokrom P-450'sine insaninkinden daha büyük bir kuvvet ve daha yüksek bir özgüllükle bağlanmasıdır. Flukonazol ve diğer triazoller, oral biyoyararlanım ve serum yarılanma ömrü bakımından da imidazollerin çoğuna göre daha avantajlıdır.

Azollerin fungistatik olmaları, etki gösterebilmeleri için sağlam bir konak bağışıklığı gerekliliğine işaret eder (Kisgen, 2015).

Direnç

Azol direnci, günümüzde giderek daha büyük bir sorun haline almaktadır. Özellikle "HIV" pozitif veya kemik iliği nakli geçirmiş hastalarda bu sorun daha belirgindir. En önemli iki direnç düzeneği, C-14 α-demetilaz genindeki daha az azol bağlanmasına yol açan mutasyonlar ve azolü hücre dışına pompalayan eflüks pompasıdır (Kisgen, 2015).

Flukonazole direnç gelişmesi nadir bir olaydır; ancak gerçekleştiğinde çoğunlukla tüm azollere çapraz direnç şeklindedir. Flukonazolün *in vitro* etki düzeyi, diğer azollerde olduğu gibi, *in vivo* etkisiyle paralellik göstermeyebilir. Bunun nedeni flukonazolün ve diğer azollerin *in vitro* ortam pH'sına, besiyerinin içeriğine,



mantarın spor, maya veya miçel döneminde olmasına, inkübasyon süresine, inokulum büyüklüğüne ve kalsiyum ile diğer katyonların kültürdeki derişimine çok duyarlı olmasıdır. Bundan dolayı minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) ve diğer *in vitro* duyarlılık testleri, azollere klinik yanıtın bir göstergesi değildir (American Society of Health System Pharmacists, Inc., 2011).

Direnç sorununda *in vitro* test sonuçlarının klinik yanıt ile ilişkisi

Flukonazol direncinin gelişmesinde risk faktörleri olarak konağın bağışıklık sisteminin baskılanmış olması, biyofilm oluşumu, antifungal profilaksi, tekrarlayan fungal enfeksiyon ve tekrarlayan antifungal tedavi sayılabilir. Flukonazole karşı *C. krusei* ve *C. glabrata* izolatlarında doğal direnç; *C. albicans*, *C. dubliniensis*, *C. norvegensis*, *C. inconspicua*, *C. tropicalis*, *H. capsulatum* ve *Aspergillus* izolatlarında ise sekonder direnç görülebilir (Martinez ve ark., 2002; Pfaller ve ark., 2004). Otuz bir ülkeden araştırmacıların katıldığı ve 1 846 sušta yapılan bir sörveyans çalışmasında, flukonazol direnci *C. glabrata*'da %11,6, *C. tropicalis*'te ise %11,9 olarak saptanmıştır (Castanheira ve ark., 2016); ayrıca son dönemde özellikle Hindistan ve Japonya'da yoğun bakım üniteleri ve pediatrik kandidemi hastalarından izole edilen 102 *C. auris* izolatının tümünde yüksek flukonazol MİK değerleri (MİK₅₀ = 64 µg/mL) ve çoklu antifungal direnç gözlenmiştir (Kathuria ve ark., 2015).

Duyarlılığın değişme nedeni, ilacın, aktif transport yardımcı proteinler tarafından hücre dışına atılımının artmasıdır. Diğer olası düzenekler sterol yapısında değişiklik nedeniyle membran geçirgenliğinin azalması ve sonuçta ilacın düşük düzeyde tutulması, hedef enzim 14-dimetilaz sitokrom P-450'de mutasyon ve sonuçta azollere bağlanmada azalma ve ERG geni CYP 51 veya 11 ile hedef enzimin fazla üretimidir (Van den Bossche ve ark., 1994).

Ayrıca AFR1 geninin sadece dirençte değil, etkenin makrofaj içindeki virülansında da rol oynadığı gösterilmiştir (Sanguinetti ve ark., 2006).

Antifungal duyarlılık testlerinin uygulanması direncin önceden saptanmasında, ilacın aktivitesinin ölçümünde ve antifungal tedavi seçiminde önemlidir (Tortorano ve ark., 2014). Bu testler özellikle direncin görülebildiği bir tür izole edildiğinde (örn. *C. glabrata*), beklenmeyen bir klinik yanıtızsızlık olduğunda, tedaviye bağlı sekonder direnç gelişimi riski nedeniyle izlem için ve her merkezde periyodik olarak epidemiyolojik veri elde etmek amacıyla yapılmalıdır (Lortholary ve ark., 2012).

Duyarlılık testi olarak sıvı mikrodilüsyon testi kullanılır ve bu testler Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) veya Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi'nin (EUCAST) dokümanları rehber alınarak yapılır. Bu test sonucunda belirlenen MİK değeri, düşük olduğunda antifungal klinik başarısını tahmin etmekten çok, yüksek olduğunda (direnç) klinik başarısızlığı tahmin etmeye yardımcıdır. Fungal enfeksiyonlarda etken flukonazole dirençli bulunsa bile tedavide başarı sağlanabilir. Kandida enfeksiyonlarında flukonazol MİK değeri >64 µg/mL (direnç) ise enfeksiyonların %42'sinin tedavi edilebildiği ve bu durumun enfeksiyonun yüzeysel veya invaziv olmasına bağlı olmadığı belirtilmiştir (Pfaller ve ark., 2006). Metaanaliz sonuçlarına göre flukonazole dirençli izolatların %48'inde duyarlı izolatların ise %91'inde tedavi başarılı bulunmuştur (Rex ve Pfaller, 2002).

Direncin önceden saptanabilmesi için, izole edilen türe, duyarlılık yöntemine ve inkübasyon süresine özgü klinik direnç sınır değerlerinin dikkate alınması önerilmektedir. Bu değer, epidemiyolojik "cut off" değeri (ECD) olarak bilinmekte ve fenotipik olarak direnç göstermeyen sokak tipi ("wild type") suşlar arasında saptanan en yüksek MİK değeri olarak tanımlanmaktadır. Pfaller ve ark.'nın bir çalışmasında EUCAST ve CLSI yöntemleri arasında %95 uyum saptanmış, her iki yöntemle de ECD'ler *C. albicans* için 0,5-1 µg/mL, *C. parapsilosis* ve *C. tropicalis* için 2 µg/mL, *C. glabrata* için 32 µg/mL ve *C. krusei* için 64-128 µg/mL olarak bulunmuştur. Bu çalışmanın sonucunda flukonazolün sınır değeri *C. albicans*, *C. parapsilosis* ve *C. tropicalis* için duyarlı ≤2 µg/mL, doza bağlı duyarlı 4 µg/mL, dirençli ≥8 µg/mL ve *C. glabrata* için doza bağlı duyarlı ≤32 µg/mL, dirençli ≥64 µg/mL olarak belirlenmiştir (Pfaller ve ark., 2010).

Farmakokinetik veya farmakodinamik parametrelerin antifungaller için değerlendirilmesi, bilim adamlarının yeni ilgi alanıdır (Andes ve ark., 2003; Groll ve ark., 2001). Flukonazol ile tedavi başarısını öngörmeye flukonazol konsantrasyonu - zaman eğrisinde maksimum ilaç konsantrasyonunun (C_{max}), eğri altında kalan alanın (EAA) ve MİK üzerindeki serum ilaç konsantrasyonuna ulaşmak için gerekli sürenin (T_{tau}) MİK değerine oranlarının değerlendirilmesi önerilmektedir (Pai ve ark., 2007). Farmakodinamik sınır değerlerinin belirlenmesi, klinik ve laboratuvar işbirliğinin en önemli amacıdır (Groll ve Kolve, 2004). Son yıllarda klinisyenlerin flukonazol kullanımına karar vermesi konusunda farmakodinamik kriterlerin dikkate alınması



giderek yaygınlaşmaktadır (Clancy ve ark., 2005; Rodriguez-Tudela ve ark., 2007).

Bundan başka, flukonazol dozunun MİK değerine oranı, sadece MİK sınır değerini dikkate almaktan daha önemli olabilmektedir. İlacın dozunu artırdıkça görülen etki miktarını belirlemek için, flukonazol >200 mg/gün dozunda tolere edilebildiğinden ve kandidemilerin çoğunun etkeni azollere duyarlı veya doza bağımlı duyarlı suşlar olduğundan, *in vitro* test sonuçları çıkana kadar antifungalın yüksek dozdan kullanımı önerilmektedir. Rodriguez-Tudela ve ark., flukonazol ile tedavi edilen kandidemi ve orofaringeal kandidiazis hastalarındaki flukonazol dozu / MİK oranını klinik yanıt ile karşılaştırmışlardır. Buna göre, flukonazol dozu / MİK >50 olduğunda tedavi başarısında artma, doz/MİK <50 olduğunda ise tam tersi durum saptanmıştır (Rodriguez-Tudela ve ark., 2007). Benzer olarak, Lee ve ark.'nın, kandidemi çalışmasında fraksiyonel doz / MİK >50 olan hastaların %79'unda (11/14) tedavi sağlanmıştır; doz/MİK <50 olduğunda ise hastaların %57'sinde (4/7) tedavi başarısız olmuştur (Lee ve ark., 2016). Başka bir çalışmada, doz/MİK >75 ise tedavi başarısının %90'ın üzerinde olduğu saptanmıştır (Cuesta ve ark., 2010).

Flukonazol yanıtını öngörme belirteci olarak EAA/MİK oranının değerlendirildiği çalışmalarda EAA/MİK>25 ise tedavi hastaların %91-99'unda başarılı, bu oran <25 ise %26-35'inde başarısız olarak bulunmuştur (Pfaller ve ark., 2006; Rex ve ark., 2001). Ortalama MİK değeri 64 kat artış gösteren *C. albicans* izolatları ile yapılan *in vivo* çalışmalarda EAA/MİK oranının yaklaşık olarak 25 bulunması, flukonazolün etkinliği şeklinde yorumlanmıştır (Andes ve ark., 2003; Andes ve ark., 2004). Andes ve van Ogtrop, MİK değerleri 500 katına kadar değişiklik gösteren *C. albicans* enfeksiyonlarında EAA/MİK değeri 25 ise tedavinin başarılı olduğunu kanıtlamışlardır (Andes ve van Ogtrop, 1999).

C. neoformans enfeksiyonlarında, *in vitro* test sonuçları ile klinik başarıyı karşılaştıran çalışma sayısı çok azdır. Bir çalışmada *in vitro* flukonazol direnci, tedavi başarısızlığı ile ilişkili bulunmuştur (Dannaoui ve ark., 2006). Bunun nedeni, belki de CLSI belgelerinde *C. neoformans* için MİK sınır değerlerinin çok net olmamasıdır (Rex ve ark., 2001). Menichetti ve ark.'nin çalışmasında MİK <4 µg/mL ise beyin omurilik sıvısından artık kriptokok izole edilemediği, tersi durumda ise kültürde izole edilebildiği belirtilmiştir (Menichetti ve ark., 1996). Genellikle, *C. neoformans* izolatları flukonazol, vorikonazol ve posakonazole karşı düşük MİK

göstermektedir. Birkaç çalışmada %11'e kadar varan oranlarda flukonazol MİK'i >16 µg/mL bulunmuştur (Yıldiran ve ark., 2002; Bii ve ark., 2006).

Sonuç olarak, primer flukonazol direncinin belirlenmesi için tür tanımlanması önemlidir. Etkenin türü bilinmiyorsa en muhtemel etiyolojiyi ve ampirik tedaviyi belirlemede bölgesel epidemiyoloji ve konak risk faktörlerinin bilinmesi anahtar noktalarlardır. Flukonazole duyarlılığın önceden saptanması, tedavi başarısını etkileyebilir. Duyarlılığın saptanmasında CLSI veya EUCAST gibi standart yöntemler kullanılmalı ve güncel epidemiyolojik direnç sınır değerleri bilinmelidir. Flukonazole dirençli izolatlarla enfekte olan bazı hastalar tedaviye yanıt verebilir. Dirençli olduğu sonradan saptanan bir suşla enfekte ve tedaviye yanıtı bulunan hastalarda tedavi yaklaşımının nasıl olması gerektiği net değildir. Genel olarak, çok yüksek direncin saptandığı durumlarda hastanın bağışıklık durumuna, enfeksiyonun ciddiyetine ve tedavi yanıt hızına göre alternatif tedaviye geçilmesi düşünülebilir.

Uygulama şekli

Flukonazol, oral yolla veya intravenöz (İV) infüzyon şeklinde verilir. Mide-bağırsak yolundan emilimi hızlı ve tama yakındır; bu nedenle oral kullanımın mümkün olmadığı durumlarda İV yol tercih edilir; oral ve İV dozajları aynıdır. Tedavinin ilk günü dozunun iki katı miktarında bir yükleme dozu önerilir. Yiyecekler, emilimi etkilemez (American Society of Health System Pharmacists, Inc., 2011).

Farmakokinetik

Tamamına yakın bir kısmı (%≥90) mide-bağırsak yolundan emildiği için, flukonazolün oral ve İV farmakokinetiği benzerdir. İlaç, maksimum plazma konsantrasyonlarına 1-2 saatte ulaşır. İmidazol türevlerinin bazılarının aksine, emilimi gastrik pH'den etkilenmez; yani yemekle alındığında maksimum plazma konsantrasyonlarında bir değişiklik olmaz. Süspansiyonlarıyla tabletleri biyoeşdeğerdir.

İtrakonazol ve ketokonazol gibi bazı azollerin aksine, flukonazol, beyin-omurilik sıvısı da dahil olmak üzere süte ve bütün vücut sıvılarına geçer. Sütte plazma konsantrasyonlarına ulaşır (Force, 1995). Sıçanlarda plasentaya da geçer; insanlarda bu geçişin olup olmadığı henüz bilinmemektedir.

İtrakonazol, mikonazol ve ketokonazol gibi bazı azollerin aksine, plazma proteinlerine çok az oranda (%11-12) bağlanır. Başlıca itrah yolu böbreklerdir.



İlacın %60-80'i değişmeden idrarla vücuttan atılır. Hemodiyaliz ve periton diyaliziyle kandan uzaklaştırılması mümkündür.

Yarılanma zamanı yenidoğanlarda ilk dozda 88 saattir, sonraki dozlarda bu süre azalır. Yarılanma zamanı, 9 ay - 13 yaş arasında 19,5-25, 5-15 yaşlarında 15,2-17,6 saattir. Karaciğer işlev bozukluğundan etkilenmez.

Böbrek yetersizliği olanlarda plazma konsantrasyonları daha yüksek, yarılanma ömrü daha uzundur. Çocuklarda bu konunun farmakokinetiği çalışılmamıştır; bu nedenle erişkinler için yapılan önerilere uyulmalıdır: Üretici firma (Pfizer), ilacı bölünmüş dozlarda alan hastalar için yükleme dozundan sonra kreatinin klirensi >50 mL/dakika olanlara günlük dozun %100'ünün, kreatinin klirensi ≤50 mL/dakika olanlara günlük dozun %50'sinin verilmesini önermektedir (American Society of Health System Pharmacists, Inc., 2011). Tek doz tedavi alan hastalarda dozaj modifikasyonu gerekli değildir.

İlacı bölünmüş dozlarda alan diyaliz hastalarına ise her diyaliz döneminden sonra günlük dozun %100'ü verilir. Diyaliz yapılmadığı günlerde dozlar, kreatinin klirensi dikkate alınarak hesaplanır.

Saklama koşulları

Saklama sıcaklığı tabletler, süspansiyonlar ve cam ampuller için <30°C, plastik ambalajlar için 5-25°C olmalıdır. Süspansiyonlar hazırlandıktan sonra 5-30°C'ta tutulmalı, iki hafta sonra atılmalıdır.

Endikasyonlar

1. Blastomikozis: Flukonazol, blastomikoziste İV amfoterisin B ve oral itraconazole ikinci seçenek olarak kullanılabilir (Chapman ve ark., 2008).

2. Kandidemi ve yaygın kandida enfeksiyonları: Nötropenik olmayan hastalardaki kandidemi ve invaziv kandidiyaziste, ağır derecede hasta olmayan ve flukonazole dirençli kandidaların etken olduğundan şüphelenilmeyen hastalarda kullanılabilir. Osteoartiküler enfeksiyonlarda İV ekinokandinlere bir seçenek olarak ilk tercih olabilir (Pappas ve ark., 2016; Kimberlin ve ark., 2015).

3. Yüksek riskli hastalarda kandidiyaz profilaksisi: Kemik iliği, kök hücre ve organ nakli olanlar ve invaziv kandida enfeksiyonu riskinin yüksek olduğu başka hastalarda kullanılabilir. Amerika Enfeksiyon Hastalıkları Derneği ve Amerikan Pediatri Akademisi tarafından çok düşük doğum ağırlıklı yenidoğanlarda da

kullanılabileceği belirtilmiştir (Pappas ve ark., 2016; Kimberlin ve ark., 2015).

4. Orofarenks kandidiyazisi: Bağışıklığı baskılanmış hastalarda ilk tercih flukonazoldür (Pappas ve ark., 2016).

5. Özofagus kandidiyazisi: Bu endikasyonda flukonazol ilk tercihtir (Pappas ve ark., 2016).

6. Vulvovajinal kandidiyazisi: Komplikasyonlu ve komplikasyonsuz şekillerinde flukonazol, endikedir (Workowski ve ark., 2015). Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi, bu endikasyonla oral flukonazol kullanan gebelerde düşüklerin artmış olarak bildirildiği bir Danimarka çalışmasına dayanarak güvenlik çalışmaları tamamlanana kadar gebelerde oral flukonazolün dikkatle reçete edilmesini tavsiye etmiştir (U. S. Food and Drug Administration, 2016).

7. Koksidiyoidomikozis: *Coccidioides immitis* veya *C. posadasii*'nin neden olduğu koksidiyoidomikozislerin tedavi ve önlenmesinde flukonazol kullanılabilir (Galgiani ve ark., 2005).

8. Kriptokokozis: Flukonazolün kriptokok menenjitinde kullanılması önerilmektedir (Perfect ve ark., 2010).

9. Histoplazmozis: Flukonazol, ancak oral tedavide ve itraconazolden sonra seçenek olabilecek bir ilaçtır (Wheat ve ark., 2007).

10. Sporotrikozis: İntravenöz amfoterisin B'nin kullanılmadığı veya yetersiz kaldığı durumlarda flukonazol, etkisinin düşüklüğü nedeniyle, ancak diğer oral seçenekler uygun değilse kullanılmalıdır. Osteoartiküler, pulmoner ve menenjal sporotrikozda kullanılmamalıdır (Kauffman ve ark., 2007).

11. Dermatofitozlar: Hastada bağışıklık yetersizliği veya komorbidite varsa, hastalık topikal tedaviye yanıt vermediyse, hastalık yaygın veya dermatofit folliküleri mevcutsa oral flukonazol kullanılabilir (American Society of Health System Pharmacists, Inc., 2011).

12. Onikomikozis: Oral flukonazol yerine terbinafin veya itraconazol, etkisi daha garantili bir seçim olabilir (Arca ve ark., 2002).

13. Pitiriazis (tinea) versikolor: Topikal tedaviye yanıt vermeyen, yaygın veya tekrarlayan enfeksiyonlarda flukonazol topikal tedaviye ek olarak veya yalnız başına kullanılabilir (American Society of Health System Pharmacists, Inc., 2011).



Diğer antifungallerle birlikte kullanım

Flukonazolün başka antifungallerle kullanımı üzerine araştırmalar sürmektedir:

Rosato ve arkadaşları, flukonazolün, bazı kandida türlerinde anidulafunginle birlikte kullanıldığında antimikotik etkisinde artma saptamışlardır (Rosato ve ark., 2012). Kaspofungin-flukonazol kombinasyonu, "time-kill" yöntemiyle *C. glabrata* izolatlarına karşı %14 oranında sinerjist etki göstermiştir (Kiraz ve ark., 2010). Flukonazole flusitozinin, klinik *C. neoformans* izolatlarının %77'sine karşı sinerjistik etkinliği vardır (Schwarz ve ark., 2003). Amfoterisin B ile flukonazolün *C. neoformans* izolatlarının %67'sine karşı aditif etki gösterdiği, aditif etkinin BALB/c farelerle yapılan deneyde in vivo olarak da sürdüğü, sıçanlarda oluşturulan kriptokokkozda amfoterisin B ile flukonazolün aynı anda veya birbirinin ardı sıra kullanılması sırasında ilaçların birbiriyle olumlu etkileşimler gösterdiği saptanmıştır (Barchiesi ve ark., 2000). Amfoterisin B ile yüksek doz flukonazolün birlikte kullanıldığı bir sıçan kriptokokkozu modelinde kombinasyon tedavisinin monoterapiden daha etkili olduğu sonucuna varılmıştır (Santos ve ark., 2017).

Kontrendikasyonlar ve birlikte kullanımda özel dikkat gerektiren ilaçlar (American Society of Health System Pharmacists, Inc., 2011)

1. Flukonazol veya preparatın bileşimindeki bir maddeye aşırıduyarlılığı olan hastalarda gerekli önlemler alınmalıdır.

2. Bütün azoller gibi flukonazol de hepatik CYP2C9 veya CYP3A4 izoenzimlerini çeşitli oranlarda inhibe eder. Bu izoenzimlerin substratı olarak işlev gören, diğer bir deyişle bu enzimlerle metabolize olan ilaçları (örn. amfoterisin B, anti-asitler, varfarin, karbamazepin, fenitoin, rifampin, vorikonazol vd.) flukonazolle eşzamanlı olarak kullanan hastalarda bu ilaçların kan düzeyi yükselir

ve toksisite tehlikesi baş gösterir (Kisgen, 2015).

3. Flukonazolün QT aralığını uzatan diğer ilaçlarla birlikte kullanımı da yakın izlem gerektirir.

Yan etkiler

• **Hepatotoksisite:** Ciddi bir karaciğer tepkimesi çok nadirdir. Transaminaz yüksekliği görülebilir; derişimler kendiliğinden veya tedaviden sonra normale döner.

• **Diğer gastrointestinal yan etkiler:** Karın ağrısı, bulantı, kusma, ishal görülebilir.

• **Dermatolojik yan etkiler:** Döküntü ve kaşıntı, ölümlü sonuçlanan Stevens-Johnson sendromu bildirilmiştir.

• **Fetal/neonatal morbidite:** Flukonazol, ağır mantar enfeksiyonu nedeniyle gebeliklerinin ilk trimesterinin büyük bir kısmında yüksek dozda (400-800 mg/gün) flukonazol alan kadınların bebeklerinde brakisefali, anormal yüz şekli, anormal kalvaryum gelişimi, yarı damak, femur kıvrılması, kaburgalarda düzleşme, uzun kemik yapısı, artrogripozis ve doğumsal kalp hastalıkları ile kendini gösteren bir konjenital sendroma neden olabilir. Bu durum, vulvovajinal kandidiyazis için oral tek doz (150 mg) flukonazol alan gebelerde görülmez.

• **Aşırıduyarlılık tepkimeleri:** Nadirdir. Diğer azollere karşı aşırıduyarlılığı olanlarda çapraz tepkime gelişip gelişmediği konusunda kesin bir bilgi olmamakla birlikte böyle durumlarda dikkatli olunmalıdır.

• **Kardiyovasküler yan etkiler:** QT uzamasına, "torsades de pointes"e neden olabilir.

• **Merkezi sinir sistemine etkileri:** Başdönmesine ve nöbetlere yol açabilir.

Yan etkiler nedeniyle ilacı bırakma oranı %1,51-5,76 olarak saptanmıştır (Chang ve ark., 2007).

Kaynaklar

- American Society of Health System Pharmacists, Inc., DynaMed [Internet]. Ipswich (MA): EBSCO Information Services. 1995 - . Record No. 233400, Fluconazole; [updated 2011 Aug 03, cited 2017 Dec 13]; [about 45 screens]. Available from <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=dnh&AN=233400&site=dynamed-live&scope=site>.
- Andes D., Marchillo K., Conklin R., et al., *Pharmacodynamics of a new triazole, posaconazole, in a murine model of disseminated candidiasis*, *Antimicrob. Agents Chemother.* 48(1):137-142 (2004).
- Andes D., Marchillo K., Stamstad T., Conklin R., *In vivo pharmacokinetics and pharmacodynamics of a new triazole, voriconazole, in a murine candidiasis model. Antimicrob Agents Chemother*, 47(10):3165-3169 (2003).
- Andes D., van Ogtrop M., *Characterization and quantitation of the pharmacodynamics of fluconazole in a neutropenic murine disseminated candidiasis infection model*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 43(9):2116-2120 (1999).
- Arca E., Taştan H. B., Akar A., Kurumlu Z., Gür A. R., *An open, randomized, comparative study of oral fluconazole, itraconazole and terbinafine therapy in onychomycosis*, *J. Dermatolog. Treat.*, 13(1):3-9 (2002).



- Barchiesi F., Schimizzi A. M., Caselli F., et al., *Interactions between triazoles and amphotericin B against Cryptococcus neoformans*. Antimicrob. Agents Chemother., 44(9):2435-2441 (2000).
- Bii C. C., Kose J., Taguchi H., et al., *Pneumocystis jirovecii and microbiological findings in children with severe pneumonia in Nairobi, Kenya*. Int. J. Tuberc. Lung Dis., 10(11):1286-1291 (2006).
- Castanheira M., Messer S. A., Rhomberg P. R., Pfaller M. A., *Antifungal susceptibility patterns of a global collection of fungal isolates: results of the SENTRY Antifungal Surveillance Program (2013)*, Diagn. Microbiol. Infect. Dis., 85(2):200-204 (2016).
- Centers for Disease Control and Prevention. Clinical Alert to U.S. Healthcare Facilities - June 2016 | Fungal Diseases | CDC. Fungal Diseases. <http://www.cdc.gov/fungal/diseases/candidiasis/candida-auris-alert.html>. Published 2016. Accessed November 25, 2016.
- Chang C-H., Young-Xu Y., Kurth T., Orav J.E., Chan A. K., *The safety of oral antifungal treatments for superficial dermatophytosis and onychomycosis: a meta-analysis*. Am. J. Med., 120(9):791-798 (2007).
- Chapman S. W., Dismukes W. E., Proia L. A., et al. Clinical practice guidelines for the management of blastomycosis: 2008 update by the Infectious Diseases Society of America., Clin. Infect. Dis., 46(12):1801-1812 (2008).
- Clancy C. J., Yu V. L., Morris A. J., Snyderman D. R., Nguyen M. H., *Fluconazole MIC and the fluconazole dose/MIC ratio correlate with therapeutic response among patients with candidemia*, Antimicrob. Agents Chemother., 49(8):3171-3177 (2005).
- Cuesta I., Bielza C., Cuenca-Estrella M., Larranaga P., Rodriguez-Tudela J. L. *evaluation by data mining techniques of fluconazole breakpoints established by the clinical and laboratory standards institute (CLSI) and comparison with those of the european committee on antimicrobial susceptibility testing (EUCAST)*. Antimicrob. Agents Chemother. 54(4):1541-1546 (2010).
- Dannaoui E., Abdul M., Arpin M., et al., *Results obtained with various antifungal susceptibility testing methods do not predict early clinical outcome in patients with cryptococcosis*. Antimicrob. Agents Chemother., 50(7):2464-2470 (2006).
- Fluconazole. Post T. W., ed. UpToDate. Waltham, MA: UpToDate Inc. <http://www.uptodate.com> (Accessed on December 13, 2017.).
- Force R. W. *Fluconazole concentrations in breast milk*, Pediatr. Infect. Dis. J., 14(3):235-236 (1995).
- Galgiani J. N., Ampel N. M., Blair J. E., et al., *Coccidioidomycosis*, Clin. Infect. Dis. 41(9):1217-1223 (2005).
- Groll A. H., Kolve H., *Antifungal agents: in vitro susceptibility testing, pharmacodynamics, and prospects for combination therapy*, Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., 23(4):256-270 (2004).
- Groll A. H., Mickiene D., Petraitis V., et al., *Compartmental pharmacokinetics and tissue distribution of the antifungal echinocandin lipopeptide micafungin (FK463) in rabbits*, Antimicrob. Agents Chemother., 45(12):3322-3327 (2001).
- Kathuria S., Singh P., Sharma C., et al., *Multidrug-Resistant Candida auris Misidentified as Candida haemulonii: Characterization by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry and DNA Sequencing and Its Antifungal Susceptibility Profile Variability by Vitek 2, CL*, J. Clin. Microbiol., 6(53):1823-1830 (2015).
- Kauffman C. A., Bustamante B., Chapman S. W., Pappas P. G., *Clinical practice guidelines for the management of sporotrichosis: 2007 update by the Infectious Diseases Society of America*, Clin. Infect. Dis., 45(10):1255-1265 (2007).
- Kimberlin D. W., Brady M. T., Jackson M. A., Long S. S., *Red Book: 2015 Report of the Committee on Infectious Diseases 30th ed.*, American Academy of Pediatrics, Elk Grove Village, IL (2015).
- Kiraz N., Dag I., Yamac M., Kiremitci A., Kasifoglu N., Oz Y. *Synergistic activities of three triazoles with caspofungin against Candida glabrata isolates determined by time-kill, Etest, and disk diffusion methods*, Antimicrob. Agents Chemother, 54(5):2244-2247 (2010).
- Kisgen J., *Lippincott Illustrated Reviews: Pharmacology 6th edition*, Wolters Kluwer, Hong Kong (2015).
- Larkin E., Hager C., Chandra J., et al., *The Emerging Pathogen Candida auris: Growth Phenotype, Virulence Factors, Activity of Antifungals, and Effect of SCY-078, a Novel Glucan Synthesis Inhibitor, on Growth Morphology and Biofilm Formation*, Antimicrob. Agents Chemother. 61(5):e02396-16 (2017).
- Lee S. C., Fung C. P., Huang J. S., et al. *Clinical correlates of antifungal macrodilution susceptibility test results for non-aids patients with severe candida infections treated with fluconazole*. Antimicrob. Agents Chemother., 44(10):2715-2718 (2000).
- Lortholary O., Petrikos G., Akova M., et al., *European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases guideline for the diagnosis and management of Candida diseases 2012: patients with HIV infection or AIDS*, Clin. Microbiol. Infect., 18:68-77 (2012).
- Martinez M., López-Ribot J. L., Kirkpatrick W. R., et al., *Replacement of Candida albicans with C. dubliniensis in human immunodeficiency virus-infected patients with oropharyngeal candidiasis treated with fluconazole*. J. Clin. Microbiol., 40(9):3135-3139 (2002).
- Menichetti F., Fiorio M., Tosti A., et al., *High-dose fluconazole therapy for cryptococcal meningitis in patients with AIDS*. Clin. Infect. Dis., 22(5):838-840 (1996).
- Owens J.N., Skelley J.W., Kyle J.A., *The Fungus Among Us: An Antifungal Review*, U.S. Pharm., 35(8)44-56(2010).
- Pai M. P., Turpin R. S., Garey K. W., *Association of fluconazole area under the concentration-time curve/MIC and dose/MIC ratios with mortality in nonneutropenic patients with candidemia*, Antimicrob. Agents Chemother, 51(1):35-39 (2007).



- Pappas P. G., Kauffman C. A., Andes D. R., et al., Clinical Practice Guideline for the management of candidiasis: 2016 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis.*, 62(4):e1-50 (2016).
- Perfect J. R., Dismukes W. E., Dromer F., et al., *Clinical practice guidelines for the management of cryptococcal disease: 2010 update by the Infectious Diseases Society of America*, *Clin. Infect. Dis.*, 50(3):291-322 (2010).
- Pfaller M. A., Andes D., Diekema D. J., Espinel-Ingroff A., Sheehan D., CLSI Subcommittee for Antifungal Susceptibility Testing, *Wild-type MIC distributions, epidemiological cutoff values and species-specific clinical breakpoints for fluconazole and Candida: Time for harmonization of CLSI and EUCAST broth microdilution methods*, *Drug Resist. Updat.*, 13(6):180-195 (2010).
- Pfaller M. A., Diekema D. J., International Fungal Surveillance Participant Group, *Twelve years of fluconazole in clinical practice: global trends in species distribution and fluconazole susceptibility of bloodstream isolates of Candida*, *Clin. Microbiol. Infect.*, 10 Suppl 1:11-23 (2004).
- Pfaller M. A., Diekema D. J., Sheehan D. J., *Interpretive breakpoints for fluconazole and Candida revisited: a blueprint for the future of antifungal susceptibility testing*, *Clin. Microbiol. Rev.*, 19(2):435-447 (2006).
- Rex J. H., Pfaller M. A., *Has Antifungal Susceptibility Testing Come of Age?*, *Clin. Infect. Dis.*, 35(8):982-989 (2002).
- Rex J. H., Pfaller M. A., Walsh T. J., et al. *Antifungal susceptibility testing: practical aspects and current challenges*, *Clin. Microbiol Rev.*, 14(4):643-58 (2001).
- Ridgway M. D., Clark M. H., *Fluconazole - Pharmacology, Clinical Uses and Health Effects*. Nova Science Publishers, Inc., New York (2013).
- Rodriguez-Tudela J. L., Almirante B., Rodriguez-Pardo D., et al. *Correlation of the MIC and dose/MIC ratio of fluconazole to the therapeutic response of patients with mucosal candidiasis and candidemia*, *Antimicrob. Agents Chemother.* 51(10):3599-3604 (2007).
- Rosato A., Piarulli M., Schiavone B. I. P., et al. *In vitro synergy testing of anidulafungin with fluconazole, tioconazole, 5-flucytosine and amphotericin B against some Candida spp.*, *Med. Chem.*, 8(4):690-698 (2012).
- Sanguinetti M., Posteraro B., La Sorda M., et al., *Role of AFR1, an ABC transporter-encoding gene, in the in vivo response to fluconazole and virulence of Cryptococcus neoformans*, *Infect. Immun.*, 74(2):1352-1359 (2006).
- Santos J. R. A., Ribeiro N. Q., Bastos R. W., et al., *High-dose fluconazole in combination with amphotericin B is more efficient than monotherapy in murine model of cryptococcosis*, *Sci. Rep.*, 7(1):4661 (2017).
- Schwarz P., Dromer F., Lortholary O., Dannaoui E., *In vitro interaction of flucytosine with conventional and new antifungals against Cryptococcus neoformans clinical isolates*, *Antimicrob Agents Chemother.*, 47(10):3361-3364 (2003).
- Tortorano A. M., Prigitano A., Esposto M. C., et al., *European Confederation of Medical Mycology (ECMM) epidemiological survey on invasive infections due to Fusarium species in Europe*, *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 33(9):1623-1630 (2014).
- U. S. Food and Drug Administration, *Fluconazole (Diflucan): Drug Safety Communication - FDA Evaluating Study Examining Use of Oral Fluconazole (Diflucan) in Pregnancy*, Safety Alerts for Human Medical Products, <https://www.fda.gov/Safety/MedWatch/SafetyInformation/SafetyAlertsforHumanMedicalProducts/ucm497656.htm>, Published 2016, Accessed December 15, 2017.
- Vanden Bossche H., Warnock D. W., Dupont B., et al., *Mechanisms and clinical impact of antifungal drug resistance*, *J. Med. Vet. Mycol.*, 32 Suppl 1:189-202 (1994).
- Wheat L. J., Freifeld A. G., Kleiman M. B., et al., *Clinical practice guidelines for the management of patients with histoplasmosis: 2007 update by the Infectious Diseases Society of America*. *Clin Infect Dis.* 45(7):807-825 (2007).
- Workowski K. A., Bolan G. A., Centers for Disease Control and Prevention, *Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2015*. *MMWR*, 64(RR-03):1-137 (2015).
- Yildiran S. T., Fothergill A. W., Sutton D. A., Rinaldi M. G., *In vitro susceptibilities of cerebrospinal fluid isolates of Cryptococcus neoformans collected during a ten-year period against fluconazole, voriconazole and posaconazole (SCH56592)*. *Mycoses*, 45(9-10):378-383 (2002).



Geliş(Received) :22/01/2018
Kabul(Accepted) :04/04/2018

Araştırma Makalesi
DOI:10.30708/mantar.382371

Bir Üniversite Hastanesinde İdrardan İzole Edilen *Candida* Türlerinin Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi

İskender KARALTI*

*Sorumlu yazar: iskender.karalti@yeditepe.edu.tr

Yeditepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü,
Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ataşehir, İstanbul.

Öz: Üriner sistem enfeksiyonları çoğunlukla bakteriler tarafından oluşturulmaktadır. Bakteriler içinde de daha çok Gram negatifler, özellikle de *Escherichia coli* türleri izole edilmektedir. Bakterilerden sonra gelen mantar enfeksiyonları içinde de sıklıkla *Candida* cinsine ait türlerin neden olduğu enfeksiyonlara rastlanmaktadır. Çalışmamızda on yıllık periyotta (2006-2016 yılları arasında) Yeditepe Üniversitesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında idrar örneklerinden izole edilen *Candida* kökenlerinin dağılımı belirlenmiştir. Tanımlamada *C. albicans* ayrımı için germ tüp testi yapılmış olup, Non-albicans *Candida* türleri için ise API ID32C ve Vitec 2.0 (Biomérieux, Fransa) cihazları kullanılarak tür tayinleri yapılmıştır. Toplamda 249 adet *Candida* üremesi gözlenmiştir. En fazla izole edilen tür *C. albicans* (%54.2) olmuştur. Bunu *C. tropicalis* (%14.1), *C. glabrata* (%12.4), *C. parapsilosis* (%4.4) izlemiştir. İdrarda *Candida* türleri sık görülmemekle birlikte son yıllarda bir artış gözlenmektedir. Bazı örneklerin alımı sırasında meydana gelen kontaminasyon da göz önünde bulundurularak hastanın kliniği ile kültür sonucu birlikte değerlendirilerek tedaviye başlanmalıdır.

Anahtar kelimeler: Üriner Sistem, idrar, *Candida*, Candidiasis

Retrospective Evaluation of *Candida* Species Isolated From Urine in a University Hospital

Abstract: Urinary system infections are mostly caused by bacteria. Gram negatives, especially *Escherichia coli* species, are isolated among the bacteria. Fungal infections following bacterial infections are also frequently infections caused by the genus belonging to the genus *Candida*. In our study, the distribution of *Candida* genus were determined which were isolated from urine specimens in the Yeditepe University Hospital Microbiology Laboratory for a period of ten years (2006-2016). Germ tube test was done for the identification of *C. albicans*, and for species of Non-albicans *Candida* species were determined using API ID32C and Vitec 2.0 (Biomérieux, France) devices. 249 *Candida* species were observed in total. The most isolated species was *C. albicans* (54.2%). This was followed by *C. tropicalis* (14.1%), *C. glabrata* (12.4%) and *C. parapsilosis* (4.4%). *Candida* species are not common, but an increase is observed in recent years. Considering the contamination of some samples during the intake, treatment should be started by evaluating the culture result with the patient's clinic.

Key words: Urinary System, Urine, *Candida*, Candidiasis

Giriş

Yatan hastalarda en sık görülen enfeksiyon tipi olan üriner sistem enfeksiyonlarında, etken genellikle bakteriler iken, kandidüriler içinde ise en sık izole edilen

mikroorganizma *C. albicans* olmaktadır (Erdem ve Ark., 2012). *Cryptococcus neoformans* and *Trichosporon asahii* gibi diğer mayalar, *Aspergillus* türleri ve Mucorales'e ait türler disemine enfeksiyon sırasında böbrek tutulumu



yaparlar ve nadiren idrar yollarında semptomlar gösterirler. *Candida* türleri enfeksiyon etkeni olmakla birlikte idrar yollarında kolonize de olabilmektedirler (Kauffman, 2014). Sağlıklı bireylerde kandida türleri idrar örneklerinden genellikle izole edilmezken, hastanede yatan hastalarda sorunlu enfeksiyonlar olarak görülmektedir. *Blastomyces* ve *Coccidioides* türleri daha çok endemik bölgelerde yaşayan insanlarda görülmektedir. Fungal enfeksiyon şüphesi olan idrar örneklerinden besiyerine 10 µL ekilip, inkübasyon süresi 48-72 saate; endemik bölge öyküsü olan hastalarda ise üç haftaya kadar uzatılmalıdır (Klimud, 2015).

Diyabet, yaşlılık, kadın cinsiyet, hastanede uzun süreli yatış, yoğun bakımda yatış, üriner sistemdeki doğuştan bozukluklar, geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, eşlik eden bakteriüri, mesane taşı gibi etkenler kandidüri ve kandida kaynaklı idrar yolu enfeksiyonlarını arttırabilmektedirler (Sobet ve Ark., 2011).

İdrar yolundaki *Candida* enfeksiyonları, idrarda maya varlığı ile tanısı konulan, alt ve üst üriner sistem ile böbrekteki enfeksiyonları içerir. Kandidüri ise sadece idrar yolu enfeksiyonu değil, aynı zamanda kontaminasyon, kolonizasyon veya disemine kandida enfeksiyonu anlamına da gelmektedir. *Candida* türleri deride, gastrointestinal sistemde ve genital sistemde normal florada yer aldığı için idrar kültürlerinde kontaminasyon nedeni ile de saptanabilirler. Kültürlerin tekrar edilmesi ile elde edilen tekrarlayan üremeler olduğunda kolonizasyon mu yoksa enfeksiyon mu olduğu araştırılmalıdır (Arısoy, 2007).

Kandidüri daha çok yatan hastalarda asemptomatik olarak görülen ve genellikle kolonizasyon veya kontaminasyon nedeni ile görülür. *C. albicans* idrarda en fazla izole edilen maya türüdür. Bunu *C. glabrata* ve *C. tropicalis* takip ederken, kandidemi nedeni olan *C. parapsilosis* daha çok sistemik enfeksiyonu olan yenidoğan hastalarının idrar örneklerinden izole edilmektedir. Ancak bir çok klinik laboratuvar, özellikle istenmedikçe tür tayini yapmaz. Bu durumda gerektiği zaman türlerdeki değişiklikler ve direnç eğilimleri izlenemez (Kauffman, 2005). Bu nedenle tür tayini yapılması gereklidir.

Materyal ve Yöntem

Çalışmamızda, 2006-2016 yılları arasında Yeditepe Üniversitesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına başvuran ayaktan ve yatan hastaların idrar örneklerinden

izole edilen *Candida* kökenlerinin dağılımının belirlenmesi hedeflenmiştir. Tanımlamada öncelikle germ tüp testi kullanılarak *C. albicans* ayırımı yapılmıştır. Bu testin sonucuna göre pozitif olanlar *C. albicans* olarak tanımlanmışlardır. Non-*albicans Candida* türleri için ise API ID32C ve Vitec 2.0 (YST) (Biomerieux, Fransa) cihazları kullanılarak tür tayinleri yapılmıştır. Toplamda 246 adet idrar; 3 adet de idrar kateterinden örnek alınmış olup toplamda 249 örneğin sonucu retrospektif olarak değerlendirilmiştir (İnci ve Ark., 2012).

Bulgular ve Tartışma

Çalışmamızda 249 örnekten 249 adet *Candida* üredigi gözlemlenmiştir. En fazla izole edilen tür *C. albicans* (%54.2) olmuştur. Bunu *C. tropicalis* (%14.1), *C. glabrata* (%12.4), *C. parapsilosis* (%4.4), *C. kefyr* (%3.2), *C. lusitinae* (% 2.4), *C. famata* (% 2), *C. krusei* (Yeni adı ile *Issatchenkia orientalis*) (% 1.6), *C. sphaerica* (% 1.6), *C. intermedia* (%1.2) ve *C. sake* (%1.2) izlemiştir. Tür tayini yapılmayan örnekler ise *Candida* spp (% 1.6) olarak bildirilmiştir (Tablo 1). *C. albicans* çoğunlukta olsa da Non-*albicans Candida* sayısı da oldukça fazladır. Gelişen teknoloji ile birlikte hastalıkların tedavisinde kullanılan yeni yeknikler, HIV/AIDS ve immün sistemi baskılayıcı diğer etkenler mantar enfeksiyonlarındaki sayının artışına neden olmaktadır (Behzadi et al., 2015).

Maya ilişkili idrar yolu enfeksiyonları, yeni doğanlarda nadiren görülmekle birlikte, kandidemi ve kandidüri yeni doğan ve pediatrik yoğun bakımlarda sıklıkla görülmektedir. Yetişkinlerde ise kandida kaynaklı idrar yolu enfeksiyonları genellikle yoğun bakım hastalarında görülmektedir ve bu enfeksiyonlar çoğunlukla idrar kateteri bulunan hastalarda görülmektedir (Leblebicioğlu ve Esen, 2003; Sobel et al., 2011). Çalışmamızda üç adet kateter ilişkili kandida enfeksiyonu gözlenmiştir.

Candida enfeksiyonları, erkeklere oranla kadınlarda daha sık görülmektedir. Özellikle gebelik gibi bağışıklık sistemini baskılayıcı durumlar da görülme sıklığını arttırmaktadır. Çalışmamızda da kadınlarda görülme sıklığı % 61.4 (Şekil 1) olarak saptanmıştır (Achkar ve Fries, 2010).

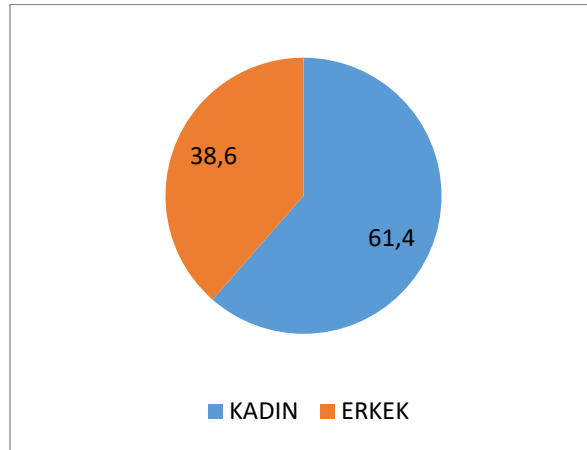
İdrar yolu enfeksiyonlarında en fazla izole edilen kandida türü *C. albicans* olmaktadır. Her çalışmada farklı oranlarda saptanmakla birlikte ortalama %50 ile %70 aralığında olmaktadır (Kauffman, 2005). Çalışmamızda idrar yollarındaki *C. albicans* izolasyon oranı % 54.2 olarak



saptanmıştır. Ülkemizde yapılan farklı çalışmalarda çalışmamız ile benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Tablo 1. Kandida türlerinin dağılımı

Tür Adı	Sayı	%
<i>Candida albicans</i>	135	54.2
<i>C. famata</i>	5	2.0
<i>C. glabrata</i>	31	12.4
<i>C. intermedia</i>	3	1.2
<i>C. kefyr</i>	8	3.2
<i>C. krusei</i> (<i>Issatchenkia orientalis</i>)	4	1.6
<i>C. lusitinae</i>	6	2.4
<i>C. parapsilosis</i>	11	4.4
<i>C. sake</i>	3	1.2
<i>C. sphaerica</i>	4	1.6
<i>C. tropicalis</i>	35	14.1
<i>Candida</i> spp.	4	1.6
Toplam	249	



Şekil 1. İdrar kültüründe saptanan kandida etkenlerin cinsiyete göre dağılımı (%).

Eskişehir'de yapılan bir çalışmada bu oran % 64 (Nayman Alpat ve Ark., 2011), Ankara'da yapılan bir çalışmada % 52.4 (Ketan ve ark., 2014), Konya'da yapılan bir çalışmada ise % 56.9 (Özer ve Ark., 2016) olarak saptanmıştır.

Sonuçlar

İdrar yollarında en fazla bakteriyel enfeksiyonlar görülmektedir. Etken olarak sıklıkla *Escherichia coli* izole edilmektedir. Maya enfeksiyonları göz önüne alındığında sıklıkla kandida türleri görülmekte, kandida dışında *Cryptococcus* ve *Trichosporon* cinslerine ait türler görülmektedir. Kandida türleri içinde ise en fazla görülen tür *C. albicans* olmaktadır.



C. albicans dışında ise sıklıkla izole edilen türler; *C. tropicalis*, *C. glabrata* ve *C. parapsilosis*'tir

Mantar enfeksiyonları erkeklere oranla kadınlarda daha sık görülmektedir. Özellikle bağışıklık sistemini baskılayıcı durumlarda daha da sık görülmektedir.

İdrar yolu enfeksiyonlarında kolonizasyon mu yoksa kontaminasyon mu olduğunun ayırt edilmesi ve hastanın kliniği ile uyumlu olması durumunda tedavi edilmesi

gereklidir. Bu nedenle hekimlerin ulusal ve uluslararası rehberlere uygun şekilde hareket etmeleri gerekmektedir.

Teşekkür

Çalışmanın yapılmasına destek ve onay veren Prof. Dr. Gülden ÇELİK ve Prof. Dr. Yeşim GÜROL'a teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Kaynaklar

- Achkar J.M., Fries B.C., *Candida Infections of the Genitourinary Tract.*, Clin Microbiol Rev., 23(2)253–273(2010).
- Arısoy A., *Simpozyum: Maya enfeksiyonlarından seçkiler.* Enfeksiyon Dergisi, 21(0)123-125(2007).
- Behzadi P. Ranjbar R., Urinary tract infections and *Candida albicans*, Cent European J Urol., 68(1)96-101(2015).
- Erdem F., Tuncer Ertem G., Oral B., Karakoç E., Demiröz A.P., Tülek N., *Candida Türlerine Bağlı Nozokomiyal Enfeksiyonların Epidemiyolojik ve Mikrobiyolojik Açısından Değerlendirilmesi* Mikrobiyol Bul, 46(4)637-648(2012).
- İnci M., Atalay, M.A., Koç A. N., Özer B., Kılınç Ç., Durmaz S., *Candida albicans dışı mayaların tanımlanmasında VITEK 2 YST kart ile API 20C AUX sisteminin karşılaştırılması*, Dicle Tıp Dergisi,39(1)80-82(2012).
- Kauffman C.A., *Candiduria*, Clin Infect Dis., 2005; 41:S371–6.
- Kauffman C.A., *Diagnosis and Management of Fungal Urinary Tract Infection*, Infect Dis Clin N Amr., 28:61–74 (2014).
- Keten D., Aktas F., Guzel Tunccan O., Dizbay M., Kalkanci A., Biter G., Keten H.S., *Catheter-associated urinary tract infections in intensive care units at a university hospital in Turkey*, Bosn J Basic Med Sci., 14;14(4)227-33(2014).
- Leblebicioglu H, Esen S., *Hospital-acquired urinary tract infections in Turkey: a nationwide multicenter point prevalence study.*, J Hosp Infect., 53(3)207-10(2003).
- Nayman Alpat S., Özgüneş İ., Ertem O.T., Erben N., Doyuk Kartal E., Tözün M., Usluer G., *Kandidürisi Olan Hastalarda Risk Faktörlerinin Değerlendirilmesi*, Mikrobiyol Bul., 45(2)318-324(2011).
- Sobel, J.D., Fisher J.F., Kaufman C.A., Newman C.A., *Candida urinary tract infections-epidemiology*, Clinical Infectious Diseases, 52(6)433–436(2011).
- Kılıç A., Dündar D., Kuzucu Ç., Yağcı S., İlki A., Çolak D. *Tıbbi Mikrobiyoloji Uzmanları İçin Klinik Örnekten Sonuç Raporuna Uygulama Rehberi: Üriner Sistem Örnekleri*, Çağhan Ofset Matbaacılık Ltd. Şti, Klimud Derneği (No7) Ankara(2015).
- Toka Özer T., Durmaz S., Yula E., *Antifungal susceptibilities of Candida species isolated from urine culture.* J Infect Chemother., 22(9)629-32(2016).



Geliş(Received) :21/03/2018
Kabul(Accepted) :05/04/2018

Araştırma Makalesi
DOI:10.30708/mantar.408356

Farklı Dozlarda Uygulanan Sitokininin Beyaz Şapkalı Mantarın (*Agaricus bisporus*) Muhafazası Üzerine Etkisi

Gül GÖKÇENAY¹, Şeyda ÇAVUŞOĞLU^{1*}

*Sorumlu yazar: scavusoglu@yyu.edu.tr

¹ Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, Van

Öz: Bu çalışmada, modifiye atmosfer koşullarının ve sitokin hormon uygulamalarının, mantarın hasat sonrası fizyolojisi üzerine etkileri araştırılmıştır. Aynı olgunlukta hasat edilen mantar şapkaları (*Agaricus bisporus*) 0, 5, 10, 15 ppm'lik sitokin (Nitrozyne) solüsyonuna daldırılarak, 0°C sıcaklıkta ve %90-95 neme sahip soğuk hava depolarında açıkta, streç ve polietilen (PE) ambalaj malzemeleri ile 9 gün muhafaza edilmiştir. Bu örneklerde hasat döneminde ve soğuk hava deposuna alındıktan sonra 3 gün aralıklarla ağırlık kaybı, renk (L*, C* ve H*), C vitamini, toplam fenolik (TF) ve polifenol oksidaz enzimi (PPO) miktarları belirlenmiştir. Araştırmada, modifiye atmosferli depolama koşulları ile sitokin uygulamalarının depolama süresince ağırlık kaybı, şapka rengi, C vitamini kaybı, toplam fenolik bileşik kaybı ve PPO enzim aktivitesinin azalması açıkta depolama koşulları ve kontrollere göre daha etkili bulunmuştur. Muhafaza sonunda hemen hemen bütün ambalaj ve uygulamalarda ağırlık kaybı ve PPO aktivitesinde artış olduğu görülürken, toplam fenolik bileşik miktarında, C vitamini miktarında ve L* değerlerinde bir azalış meydana geldiği gözlemlenmiştir. Bu çalışma sonucunda, *A. bisporus* mantar türünün PE ve streçle kaplanması ile 9 gün süresince başarılı bir şekilde muhafaza edilebileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: *Agaricus bisporus*, MAP, Sitokin, Hormon

The Effect of Various Cytokinin Doses on Storage of White Button Mushrooms (*Agaricus bisporus*)

Abstract: In this study, the effects of modified atmosphere conditions and cytokinin applications were studied on postharvest physiology of mushroom (*Agaricus bisporus*). Mushroom caps (*Agaricus bisporus*) harvested at the same maturity levels were maintained at cold storage having 0°C temperature and 90-95 % moisture conditions in the open, stretch and polyethylene (PE) packaging materials after immersing the caps with Nitrozyne (0, 5, 10, 15 ppm as nitrozyne) for 9 days. The weight loss, color (L*, C* and H*), vitamin C, total phenolics (TP) and polyphenol oxidase (PPO) levels of the samples were determined at the harvest period and at 3 day intervals in cold storage conditions. In the study, for weight loss, cap color, vitamin C loss, total phenolic compounds loss and PPO enzyme activity decrease, modified atmosphere storage conditions and cytokinin applications were found to be more effective compared to the control and open stored conditions. At the end of the storage, it was observed that there were decrease in total phenolic compounds, vitamin C and L values while there were increase in weight loss and PPO activity. As a result of this study, it was concluded that *Agaricus bisporus* can be successfully stored for 9 days with PE and stretch coating.

Key words: *Agaricus bisporus*, Cytokinin, MAP, Hormone



Giriş

Agaricus bisporus (J.E. Lange)Imbach (beyaz şapkalı mantar), dünyada olduğu gibi ülkemizde de ticari olarak kültürü yapılan en önemli mantar türüdür. Ülkemizde kültür mantarcılığı ile ilgili ilk çalışmalara 1960'lı yıllarda başlanılmakla birlikte üretimin yaygınlaşması 1970'li yıllara rastlamaktadır (Eren ve ark., 2016). 2000 yılında 7000 ton olan mantar üretim miktarı, 2013 yılına kadar düzenli bir artış göstererek 34494 tona yükselmiştir. 2010 yıllarında 21559 ton civarında üretilse de, üretim 2016 yılında 40272 tona yükselmiş olması (FAO, 2018) mantar yetiştiriciliğinin teşvikler kapsamına alınması sebebiyle üretim miktarlarında gözle görülür bir artış meydana geldiği ve yıllar itibariyle de bu artışın devam edeceği düşünülmektedir.

Mantarlar fenolik bileşik, antioksidan ve kendine özgü amino asitler açısından zengindir. Protein içeriğiyle de hayvansal gıdalardan sağlanamayan protein açığının giderilebileceği son derece lezzetli bir gıda ürünüdür.

Bahçe ürünlerinin hasat sonrası ömrünü uzatmak için birçok uygulamalar yapılmaktadır. Kalite, tazelik ve lezzet, modifiye atmosfer ambalajlarda (MAP) çok daha uzun süreli muhafaza edilebilmektedir. Özel karışıma ve konsantrasyona sahip farklı modifiye atmosfer ambalajların (MAP) kullanılması mikroorganizmaların çoğalmasını önlemekte, oksidasyon proseslerini azaltmakta, kuru ürünleri nemlenmekten, hassas ürünleri deforme olmaktan, kesilmiş ürünlerin birbirine yapışmaktan korumaktadır. Mantarlarda raf ömrünü uzatmada ekonomik ve çok etkili bir yöntem olduğu kabul edilen modifiye atmosfer paketleme, son yıllarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Tano ve ark., 2007).

Mantarlarda hasat sonrası kalite kaybı, önemli ölçüde su kaybı, enzimatik kararmadan meydana gelen renk değişimi ve şapkalarda açılmalardan kaynaklanmaktadır. Mantarın dış koruyucu bir tabakası olmaması nedeniyle hasat sırasında diğer ürünlere gösterilmesi gerekenden daha fazla özen gösterilmesi gerekmektedir. Yeterli özen gösterilmemesi sonucunda meydana gelen zararlanmalar, hastalık etmenlerini etkin hale getirmekte ve böylece kalite kayıplarını hızlandırmaktadır. Muhafaza sırasında uygun sıcaklık ve nem düzeyinin sağlanamaması nedeni ile mantarlarda su kaybıyla birlikte yaşlanma belirtilerinde ve depo hastalıklarına duyarlılıkta bir artış söz konusu olmakta ve mantarların muhafaza süresi kısalmaktadır.

Hasat sonrası yaşlanmanın önlenmesinde içsel hormonların, bunlar arasında da sitokinlerin önemli etkiye sahip olduğu bilinmektedir. Sitokinler, hücrede t-RNA üzerine olan etkilerinden dolayı proteinlerin bozulmasını engelleyebilmektedir (Kays 1991, Clarke ve ark., 1994). Aynı zamanda bu uygulamanın yapıldığı bitkilerde zeatin ribosid (ZR) proteinin daha az parçalandığı gözlenmiştir. Bu sonuçlar dışsal sitokin uygulamalarının sıcaklık stresine bağlı oluşan olumsuz etkileri azalttığını ve buna bağlı olarak yaprak yaşlanmasını geciktirdiğini veya baskı altına aldığını göstermektedir. Sitokinlerin, proteaz aktivitesini yavaşlatarak ve heat- shock (sıcaklık şoku) proteinlerini artırarak sıcaklık stresine bağlı zararlanmayı azaltmakta olduğu düşünülmektedir (Veerasingam ve ark., 2007). Hasat sonrasında sitokin uygulamalarının brokolide (Clarke ve ark. 1994), Bruksel lahanasında (Fuller ve ark., 1977) ve karnabaharlarda (Çavuşoğlu ve Halloran, 2010) olumlu sonuçlar verdiği farklı araştırmacılar tarafından belirtilmiştir. Hasat sonrasında çok hızlı bozulan tarım ürünleri arasında yer almakta olan mantarlar, uygun sıcaklık ve nemde muhafaza edilmediği takdirde şapkalarda açılma ve ardından renkte kararmalar meydana geldiği görülmektedir. Bu olumsuz durumu ortadan kaldırmak için hasat sonrasında bir takım uygulamalar yapılmaktadır. Örneğin CaCl₂, nitrik asit ve sitokin uygulamaları bunlardan bir kaçıdır. Depolamanın sonunda mantarların dayanma direncine bağlı olarak enfeksiyonların varlığıyla kararmalar çok yüksek düzeyde meydana gelmekte bu durum da daha geniş alanda kayıplara neden olmaktadır. Bu kayıpları önlemek amacıyla modifiye atmosfer ve kontrollü atmosfer ile depolama teknikleri uygulanmaktadır. Bu depolama teknikleri yanında kalıntı riski oluşturmayacak düzeyde sitokin uygulamalarının yaşlanma üzerine daha etkili olacağı düşünülmektedir.

Bu çalışmada, farklı ambalaj tipleri ile sitokin uygulamalarının mantarlarda yaşlanmaya etkisi, ağırlık kaybı, renk değişimi (L*, C ve H), toplam fenolik, C vitamini ve polifenoloksidaz enzim aktivitesi ölçüm ve analizleri ile belirlenmeye çalışılmıştır.

Materyal ve Metot

Van'da ticari olarak mantar üretimi yapan bir firmadan temin edilen *A. bisporus* mantarları kullanılmıştır. Hasat edilen mantarlar aynı olgunluğa



sahip 1. Flaştan hasat edildikten sonra ön soğutmaya tabi tutulmuştur. Araştırma, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümüne ait Soğuk Hava Deposunda yürütülmüştür.

Hasat edilen mantarlar 0, 5, 10, 15 ppm'lik sitokinin solüsyonuna daldırılarak, 0°C sıcaklığa sahip depolarda açıkta, streç ve polietilen ambalaj malzemeleri ile muhafaza edilmiştir. Bu örneklerde hasatta ve 3 gün aralıklarla soğuk hava deposundan alınan örneklerde aşağıda belirtilen ölçüm ve analizler gerçekleştirilmiştir.

Ağırlık Kaybı

Muhafaza süresince ağırlık kayıplarını belirlemek için ise ayrılan örneklerde ağırlık ölçümleri hasat dönemi ile hasadı izleyen haftalık analiz dönemlerinde yapılmış hassas terazi ile ve ağırlık kayıpları başlangıca göre % olarak hesaplanmıştır.

Renk

Araştırma süresince mantarlarda renk değişimleri Minolta CR-400 marka renk ölçer ile L*, a*, b* renk düzleminde belirlenmiştir. Her tekerrüre ait bitkilerde 3 farklı bölgede ölçüm yapılmıştır. Sonuçlar L*, a*, b* C ve H olarak ifade edilmiştir.

Toplam Fenolik Bileşik İçeriğinin Belirlenmesi

Toplam fenolik bileşik içeriğinin belirlenmesinde Obanda ve Owuor (1997) tarafından belirtilen Folin-Ciocalteu spektrofotometrik yöntemin modifiye edilmesiyle geliştirilen yöntem kullanılmıştır. Folin-Ciocalteu çözeltisi 1:3 oranında seyreltilmiştir. Doymun sodyum karbonat (%35) çözeltisi kullanılmıştır. Gallik asit konsantrasyonu 0-55 µg/ml arasında değişen 9 ayrı çözelti olarak hazırlanmıştır. Farklı konsantrasyonlardaki gallik asit çalışma çözeltilerinin (9 adet) her birinden 1 ml alınarak 1 ml Folin-Ciocalteu çözeltisi ile karıştırılmıştır. Karışıma 5 dakika sonra 2 ml sodyum karbonat ilave edilerek iyice çalkalanıp ve 2 ml su ile seyreltilmiştir. Elde edilen karışım 30 dakika karanlıkta bekletildikten sonra oluşan mavi rengin spektrometrede 700 nm dalga boyunda absorbans değeri okunmuştur. Gallik asidin bu farklı konsantrasyonlarına karşı okunan absorbans değerleri kalibrasyon eğrisi üzerinden hesaplanmıştır.

C Vitamini İçeriğinin Belirlenmesi

Bu amaçla 3 g düzeyinde tartılan örnekler çözündürülmeksizin ışık geçirmeyi engellemek için alüminyum folye ile sarılmış 50 ml'lik santrifüj tüpleri içine alınmış ve 10 ml %6'lık (W/V) metafosforik asit (Sigma, M6285, %33.5) çözeltisi içinde 15 saniye süre ile dakikada 24000 devirde homojenize edilmiştir. Homojenizasyon işleminden hemen sonra 1°C sıcaklıkta dakikada 14000 devirde 10 dakika süre ile santrifüj edilmiştir. Sulu kısımdan alınan örnekler 0.45 µm delik çapına sahip olan örnek süzme filtrelerinden geçirilerek 1.5 ml'lik amber renkli vialler içinde toplanmıştır. Ekstraksiyonu yapılan örnekler hiç bekletilmeksizin HPLC'de analiz edilmiştir. (Cemeroğlu, 2007).

HPLC analizlerinde C vitamini C₁₈ kolonda (Phenomenex Luna C₁₈, 250 x 4.60 mm, 5 µ) gerçekleştirilmiştir. Kolon fırını sıcaklığı 25°C olarak ayarlanmıştır. Sistemde mobil faz olarak 1 ml/dakika akış hızında pH düzeyi H₂SO₄ ile 2.2'e ayarlanmış saf su kullanılmıştır. Okumalar DAD dedektörde 254 nm dalga boyunda gerçekleştirilmiştir. C vitamini pikinin tanımlanması ve miktarının belirlenmesinde farklı konsantrasyonlarda (50, 100, 500, 1000, 2000 ppm) hazırlanan L-askorbik asit (Sigma A5960) kullanılmıştır.

Polifenoloksidaz (PPO) Enzim Aktivitesi

Polifenoloksidaz (PPO) aktivitesi, Yemenicioğlu ve ark. (1997), tarafından belirtilen yöntemle belirlenmiştir. Polifenol Oksidaz enzim aktivitesini belirlemek için öncelikle 50 gr mantar tartılmıştır. Üzerine pH'sı 6.8'e ayarlanmış soğuk olarak 500 ml 0.1 M'lık sodyum fosfat tampon çözeltisi eklenerek homojenizatörde 20 sn kadar homojenize edilmiştir. Homojenize edilen örnek buz içerisinde adi filtre kağıdı ile süzümüştür. Sıcak su banyolu spektrofotometre kullanılmıştır. Bu spektrofotometre 30°C'ye ayarlanmış ve kuvarz spektro küveti içerisine önce 2 ml 0.01M sodyum fosfat tampon çözeltisi konulup ve daha sonra 200 µl 0.5 M kateşol eklenerek spektro fotometre bu karışım ile sıfırlanmıştır. Polifenol oksidaz enzim aktivitesini ölçümü için karışım üzerine 100 µl süzüntü eklenmiştir. Aktiviteyi belirlemek amacıyla 420 nm dalga boyunda 4 dakika süreyle 5sn aralıklarla spektrofotometrede absorbans değeri belirlenmiştir. Elde edilen kalibrasyon eğrisiyle PPO enzim aktivitesi hesaplanmıştır.



İstatistik Analiz

Üzerinde durulan özellikler için tanımlayıcı istatistikler; Ortalama ve Standart hata olarak ifade edilmiştir. Bu özellikler bakımından; Depolama süresi ve Uygulamalar arasında fark olup olmadığını belirlemek amacıyla; Faktöriyel (Üç Faktörlü) Varyans Analizi yapılmıştır. Varyans analizini takiben farklı grupları belirlemede Duncan testi kullanılmıştır. Hesaplamalarda istatistik önemlilik düzeyi %5 olarak alınmış ve hesaplamalar için SPSS istatistik paket programı kullanılmıştır.

BULGULAR

Ağırlık Kaybı (%)

Açıkta, polietilen ambalajda ve streç filmde 0°C ve %90-95 nisbi nemde depolanan *Agaricus bisporus* kültür mantarında depolama boyunca ağırlık kaybında (%) meydana gelen değişimler Tablo 1 verilmiştir. Söz konusu Tablo incelendiğinde muhafaza süreleri uzadıkça mantarların ortalama ağırlık kayıplarının arttığı görülmektedir.

Modifiye atmosfer depolama çalışmasında açıkta muhafaza edilen 0, 5, 10 ve 15 ppm organik sitokinin uygulanan mantar örneklerinin 3. gününde ağırlık kayıpları sırasıyla %6.925, 9.155, 7.370 ve 5,800 olarak belirlenirken aynı uygulama örneklerinde depolama sonu olan 9. günde ise %26.700, 15.500, 14.780 ve 19.350 olarak belirlenmiştir.

Tablo 1. Depolama süresince farklı ambalaj tiplerinde muhafaza edilen mantarların ağırlık kaybında (%) meydana gelen değişimler.

Doz	Dönem (Gün)	Açık	Polietilen	Streç
0	0	0.000 b, A, $a \pm 0.000$	0.000 a, A, $a \pm 0.000$	0.000 c, A, $a \pm 0.000$
	3	6.925 b, A, $a \pm 0.085$	1.720 a, B, $a \pm 1.400$	0.575 bc, B, $a \pm 0.125$
	6	5.590 b, A, $a \pm 4.030$	2.990 a, A, $a \pm 1.390$	1.270 ab, A, $a \pm 0.270$
	9	26.700 a, A, $a \pm 0.800$	13.950 a, A, $a \pm 12.650$	1.895 a, A, $a \pm 0.375$
5	0	0.000 c, A, $a \pm 0.000$	0.000 a, A, $a \pm 0.000$	0.000 b, A, $a \pm 0.000$
	3	9.155 ab, A, $a \pm 2.545$	0.580 a, B, $a \pm 0.300$	0.265 a, B, $a \pm 0.025$
	6	7.885 b, A, $a \pm 1.485$	0.570 a, B, $a \pm 0.070$	0.325 a, B, $b \pm 0.095$
	9	15.500 a, A, $a \pm 2.000$	0.875 a, B, $a \pm 0.815$	0.115 ab, B, $b \pm 0.065$
10	0	0.000 b, A, $a \pm 0.000$	0.000 b, A, $a \pm 0.000$	0.000 b, A, $a \pm 0.000$
	3	7.370 ab, A, $a \pm 0.260$	0.130 ab, B, $a \pm 0.080$	0.325 b, B, $a \pm 0.185$
	6	9.855 a, A, $a \pm 0.015$	1.195 a, B, $a \pm 0.535$	1.080 a, B, $a \pm 0.040$
	9	14.780 a, A, $a \pm 4.820$	0.495 ab, B, $a \pm 0.005$	0.130 b, B, $b \pm 0.060$
15	0	0.000 c, A, $a \pm 0.000$	0.000 a, A, $a \pm 0.000$	0.000 b, A, $a \pm 0.000$
	3	5.800 b, A, $a \pm p.420$	1.285 a, B, $a \pm 0.295$	0.685 a, B, $a \pm 0.225$
	6	7.985 b, A, $a \pm 0.515$	1.095 a, B, $a \pm 0.365$	0.345 ab, B, $b \pm 0.085$
	9	19.350 a, A, $a \pm 2.850$	1.640 a, B, $a \pm 0.970$	0.175 ab, B, $b \pm 0.115$

*→ A, B: Aynı satırda farklı büyük harfi alan ambalaj grupları arası fark önemlidir ($p < 0.05$)

**↓ a,b,c: Aynı sütunda farklı küçük harfi alan günler (dönemler) arası fark önemlidir ($p < 0.05$)

***Aynı günde (dönemde) ve ambalaj grubunda farklı italik harfi alan doz grupları arası fark önemlidir ($p < 0.05$).

Polietilen ambalajında depolanan mantar şapkalarında benzer şekilde düzenli olarak ağırlık kaybında artışlar görülmüştür. Depolamanın 3. günde

%1,720; 0,580; 0,130 ve 1,285 olan ağırlık kayıpları aynı sıralama ile depolama sonunda %13,950; 0,875; 0,495 ve 1,640 olarak değişim göstermiştir. Streç filme kaplanan



mantarda 3. günde gözlenen ağırlık kaybı %0,575; 0,265; 0,325 ve 0,685 iken, depolamanın sonunda ise %1,895; 0,115; 0,130 ve 0,175 değerine ulaşmıştır. Tablo 1'deki verilerden de anlaşılacağı gibi muhafaza başlangıcından muhafaza sonuna kadar bütün uygulama gruplarında ağırlık kaybında artışlar gözlenmiştir. Yapılan bu deneme sonucunda en az ağırlık kaybının streç filmle kaplı ve 5 ppm sitokinin uygulanan mantarlarda olduğu dikkati çekmiştir. Mantar muhafazasında ağırlık kaybı açısından streç filmle kaplanan mantarlarda daha az ağırlık kaybı olduğunun gözlenmesi bu uygulamanın mantar muhafazasında başarılı bir sonuç vereceği kanısını uyandırmıştır. Bunun yanısıra PE ile oluşturulan modifiye atmosfer muhafaza ise hiç de azımsanmayacak düzeyde iyi sonuçlar vermiştir. Mantarları muhafaza açısından diğer meyve ve sebzelerden ayırt eden özelliği dış koruyucu bir tabakanın olmayışıdır. Bu özelliği yanında çok hızlı bir solunum gerçekleştirilmesi sebebiyle ağırlık kaybında artışlara sebep olmaktadır (Ares ve ark, 2007).

Renk Analizi (L^* , C , h)

L^* rengin açıklık koyuluk koordinatlarını belirler. Mükemmel siyah rengin L^* değeri "0" iken, mükemmel beyaz rengin L^* değeri "100" dür. Açıkta, polietilen ambalajda ve streç filmde 0°C ve %90-95 nisbi nemde depolanan *Agaricus bisporus* kültür mantarında depolama boyunca L^* değerlerinde meydana gelen değişimler Tablo 2'de verilmiştir.

Depolama sonucunda L^* değerleri her iki MAP'da (5 ppm Nitrozyne uygulanan streçle kaplanan mantar örnekleri hariç) düzenli bir azalış göstermiştir. Depolama başlangıcında 0 doz sitokinin uygulamasında (kontrol) açıkta, polietilen ve streç ile kaplanan mantar şapkalarında L^* değeri 86,635 olarak saptanırken depolama sonunda bu değer sırasıyla 82,055; 81,855; 85,805 olarak belirlenmiştir. Her üç ambalaj şeklinde de düşüşler gözlenmiş olup en iyi sonuç streç filmle kaplanan mantarlarda gözlemlenmiştir. Mantarlara 5 ppm sitokinin uygulamalarında ise depolama başlangıcında 85,960 olarak tespit edilmiştir. Muhafaza sonunda ise yine aynı sıralama ile 85,530; 85,585 ve 86,620 olarak belirlenmiştir. 5 ppm uygulaması sonunda kontrol grubunda olduğu gibi en iyi sonuç streç ile kaplı mantar örneklerinde gözlenmiştir. 0 ve 5 ppm uygulamalarında streç film en iyi sonucu verirken 10 ppm sitokinin

uygulanmasında ise en iyi sonucu polietilen ambalaj şekli vermiştir.

Mantarlarda kararım kalite kriterleri açısından en önemli kriterlerin başında gelmektedir. Herhangi bir uygulama olmaksızın açıkta yapılan muhafaza ile streç ve PE ile elde edilen MAP (modifiye atmosfer paketleme) L^* değeri açısından karşılaştırıldığında en iyi rengi koruyan uygulamanın 15 ppm uygulanan sterch filmle kaplanan örneklerde olduğu tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen L^* değerlerinin pazarlanabilme açısından Briones ve ark. (1992) yapmış olduğu çalışmada L^* değeri için bildirilmiş olan 80,000 değerinin üzerinde bir seyir göstermiştir. Böylece depolama sonunda denemeye alınan mantar örneklerinin L^* değeri açısından pazarlanabilir özelliğini kaybetmediği söylenebilir.

Kroma rengin doygunluk derecesini ifade etmektedir. Depolama süresince farklı ambalaj tiplerinde muhafaza edilen mantarın C değerlerinde meydana gelen değişimler Tablo 4'te verilmiştir.

Depolama başlangıcında 0 ppm sitokinin uygulanan mantarların tüm ambalaj türlerinde C değeri 16,665 olarak tespit edilmiştir. Açıkta (kontrol grubunda) 0 ppm sitokinin uygulanan mantarda 3. günde bu değer 19,770'e yükselmiş, 6. günde 21,110 ve 9. günde 21,990 olarak artış göstermiştir. Açıkta muhafaza edilen 5 ve 10 ppm dozda uygulama yapılan şapkalarda 0 ppm uygulama yapılan örneklerdeki değişimlerin de benzeri değişimler gösterdiği gözlenmiştir. 15 ppm yapılan uygulamada ise 6. güne kadar C değerinde artışların olduğu depolama sonu olan 9. günde ise düşüşlerin olduğu gözlenmiştir. Açıkta muhafazada, dönemler değerlendirildiğinde; 0 ve 3. günler arasındaki fark istatistik olarak önemli bulunurken, 6. ve 9. günler arasındaki kroma renk bakımından olan fark önemli bulunmamıştır. Benzer şekilde, uygulamalar için de 0 ve 10 ppm uygulamaları arasındaki fark, istatistik olarak önemli bulunurken, 5 ve 15 ppm uygulamaları arası fark önemli bulunmamıştır. Diğer yandan, 10 ppm sitokinin uygulanan açıkta ve polietilen ambalajlarda saklanan örneklerde ise kroma değerleri bakımından istatistik olarak herhangi bir fark bulunmamıştır.

Çalışmada diğer bir renk kriteri olan Hue (h) değeri temel renklerin bütün oranını ifade etmek için kullanılmaktadır. Hue değeri bakımından depolama süresince farklı ambalaj tiplerinde meydana gelen



değişimler Tablo 4'te verilmiştir. Hue değerleri açısından 0. dozda uygulamalar arasında fark önemli bulunmazken 5, 10, ve 15 ppm uygulamalarında uygulamalar arasındaki farklar önemli bulunmuştur. Uygulamalar ve

dozlar arasındaki fark sadece 6. günde gözlemlenmeye başlanmıştır.

Tablo 2. Depolama süresince farklı ambalaj tiplerinde muhafaza edilen mantarların L* değerlerinde meydana gelen değişimler.

Doz (ppm)	Dönem (Gün)	Açıkta	Polietilen	Streç
0	0	86.635 a, A, $a \pm 0.635$	86.635 ab, A, $a \pm 0.635$	86.635 a, A, $a \pm 0.635$
	3	84.940 a, A, $a \pm 0.030$	87.825 a, A, $a \pm 1.165$	87.615 a, A, $a \pm 1.155$
	6	82.955 a, A, $a \pm 2.665$	84.660 bc, A, $b \pm 0.070$	87.500 a, A, $a \pm 1.400$
	9	82.055 a, B, $c \pm 0.695$	81.855 c, B, $b \pm 0.705$	85.805 a, A, $a \pm 0.515$
5	0	85.960 a, A, $a \pm 2.450$	85.960 a, A, $a \pm 2.450$	85.960 a, A, $a \pm 2.450$
	3	83.220 a, A, $a \pm 0.760$	88.045 a, A, $a \pm 0.585$	86.695 a, A, $a \pm 1.965$
	6	84.855 a, B, $a \pm 0.455$	88.600 a, A, $a \pm 0.300$	87.845 a, A, $a \pm 0.275$
	9	85.530 a, A, $ab \pm 0.780$	85.585 a, A, $ab \pm 0.025$	86.620 a, A, $a \pm 0.410$
10	0	88.340 a, A, $a \pm 0.340$	88.340 a, A, $a \pm 0.340$	88.340 a, A, $a \pm 0.340$
	3	83.700 a, A, $a \pm 2.780$	87.245 a, A, $a \pm 0.955$	86.890 a, A, $a \pm 1.850$
	6	82.130 a, B, $a \pm 2.310$	87.205 a, AB, $a \pm 0.105$	89.395 a, A, $a \pm 0.255$
	9	82.445 a, A, $bc \pm 1.325$	86.380 a, A, $a \pm 1.750$	85.805 a, A, $a \pm 0.855$
15	0	88.110 a, A, $a \pm 0.230$	88.110 a, A, $a \pm 0.230$	88.110 a, A, $a \pm 0.230$
	3	84.800 b, B, $a \pm 0.360$	87.205 ab, A, $a \pm 0.345$	87.265 a, A, $a \pm 0.065$
	6	85.085 ab, A, $a \pm 0.175$	87.350 ab, A, $a \pm 0.990$	88.555 a, A, $a \pm 0.965$
	9	85.930 ab, A, $a \pm 0.000$	85.540 b, A, $ab \pm 0.280$	87.220 a, A, $a \pm 2.260$

*→ A, B: Aynı satırda farklı büyük harfi alan ambalaj grupları arası fark önemlidir ($p < 0.05$)

**↓ a,b,c: Aynı sütunda farklı küçük harfi alan günler (dönemler) arası fark önemlidir ($p < 0.05$)

***Aynı günde (dönemde) ve ambalaj grubunda farklı italik harfi alan doz grupları arası fark önemlidir ($p < 0.05$)

Toplam Fenolik

Açıkta, polietilen ambalajda ve streç filmde 0°C ve %90-95 nisbi nemde depolanan *Agaricus bisporus* kültür mantarında depolama boyunca toplam fenolik madde içeriğinde meydana gelen değişimler ise Tablo 5'te verilmiştir.

Depolama başlangıcındaki kontrol grubunda toplam fenolik değeri 0.360 mg/g muhafaza sonunda bu değer açıkta, polietilen ve streç MAP ambalajlara göre sırasıyla 0.435 mg/g; 0.060 mg/g ve 0.410 mg/g olarak tespit edilmiştir. Deneme sonucunda Polietilen ambalaj içerisinde bütün örneklerde depolama sonunda toplam fenolik miktarında azalmalar olduğu tespit edilmiştir ve 5 ppm uygulanan örneklerde 0.575 mg/g olan bu değer muhafaza sonunda sırasıyla 0.640 mg/g; 0.500 mg/g; 0.395mg/g olarak tespit edilmiştir. 10 ppm yapılan uygulamada depolama başlangıcında 0.360 mg/g olan bu değer depolama sonunda 0.210 mg/g; 0.055 mg/g ve 0.505 mg/g olduğu belirlenmiştir. 15 ppm uygulanan mantarlarda ise başlangıçta 0.285 mg/g olan toplam fenolik miktarı 0.175 mg/g; 0.620 mg/g ve 0.320 mg/g olduğu saptanmıştır. Açıkta tutulan mantarlarda depolama sonunda 0 ve 5 ppm sitokin uygulananlarda artış gösterirken 10 ve 15 ppm sitokin uygulananlarda azalış göstermiştir. Streç filmle kaplanan örneklerde 5 ppm uygulanan mantarlarda azalış gözlemlenmiştir.



Tablo 3. Depolama süresince farklı ambalaj tiplerinde muhafaza edilen mantarların Kroma değerinde meydana gelen değişimler.

Doz (ppm)	Dönem (Gün)	Açıkta	Polietilen	Streç
0	0	16.665 b, A, $a \pm 0.385$	16.665 b, A, $a \pm 0.385$	16.665 a, A, $a \pm 0.385$
	3	19.770 ab, A, $a \pm 0.020$	15.770 b, AB, $a \pm 0.650$	15.320 a, B, $a \pm 1.560$
	6	21.110 a, A, $a \pm 1.680$	18.295 b, A, $a \pm 1.185$	16.445 a, A, $a \pm 0.785$
	9	21.990 a, A, $a \pm 1.030$	21.660 a, A, $a \pm 0.590$	17.125 a, B, $a \pm 0.385$
5	0	16.995 a, A, $a \pm 1.895$	16.995 a, A, $a \pm 1.895$	16.995 a, A, $a \pm 1.895$
	3	19.470 a, A, $a \pm 1.190$	16.235 a, A, $a \pm 0.055$	16.920 a, A, $a \pm 1.600$
	6	19.230 a, A, $a \pm 0.350$	15.910 a, A, $a \pm 0.290$	16.390 a, A, $a \pm 0.110$
	9	19.805 a, A, $a \pm 0.365$	19.125 a, A, $ab \pm 0.845$	17.640 a, A, $a \pm 0.130$
10	0	15.330 b, A, $a \pm 0.530$	15.330 b, A, $a \pm 0.530$	15.330 a, A, $a \pm 0.530$
	3	18.750 ab, A, $a \pm 2.010$	15.820 b, B, $a \pm 0.190$	16.210 a, B, $a \pm 1.560$
	6	22.050 a, A, $a \pm 1.390$	17.040 ab, B, $a \pm 0.140$	14.420 a, B, $a \pm 0.110$
	9	22.025 a, A, $a \pm 1.035$	18.215 a, B, $b \pm 0.805$	17.515 a, B, $a \pm 0.305$
15	0	14.890 a, A, $a \pm 0.370$	14.890 a, A, $a \pm 0.370$	14.890 a, A, $a \pm 0.370$
	3	18.945 a, A, $a \pm 0.025$	15.520 a, B, $a \pm 0.760$	16.410 a, B, $a \pm 0.610$
	6	19.625 a, A, $a \pm 0.405$	16.105 a, B, $a \pm 0.685$	14.810 a, B, $a \pm 0.660$
	9	10.325 a, A, $a \pm 7.985$	17.700 a, A, $b \pm 1.060$	15.840 a, A, $a \pm 2.700$

*→ A, B: Aynı satırda farklı büyük harfi alan ambalaj grupları arası fark önemlidir ($p < 0.05$)

**↓ a,b,c: Aynı sütunda farklı küçük harfi alan günler (dönemler) arası fark önemlidir ($p < 0.05$)

***Aynı günde (dönemde) ve ambalaj grubunda farklı italik harfi alan doz grupları arası fark önemlidir

Tablo 4 Depolama süresince farklı ambalaj tiplerinde muhafaza edilen mantarların Hue değerlerinde meydana gelen değişimler.

Doz(ppm)	Dönem (Gün)	Açıkta	Polietilen	Streç
0	0	83.725 a, A, $a \pm 0.395$	83.725 ab, A, $a \pm 0.395$	83.725 a, A, $a \pm 0.395$
	3	81.830 a, A, $a \pm 0.150$	84.865 a, A, $a \pm 1.035$	84.060 a, A, $a \pm 0.690$
	6	81.435 a, A, $a \pm 1.985$	81.955 a, A, $c \pm 0.235$	84.270 a, A, $b \pm 0.790$
	9	81.635 a, A, $a \pm 0.265$	82.125 ab, A, $a \pm 0.875$	84.030 a, A, $a \pm 0.590$
5	0	81.755 a, A, $a \pm 1.905$	81.755 a, A, $a \pm 1.905$	81.755 a, A, $a \pm 1.905$
	3	82.100 a, A, $a \pm 0.110$	84.545 a, A, $a \pm 0.875$	83.560 a, A, $a \pm 1.590$
	6	82.645 a, B, $a \pm 0.425$	85.110 a, A, $a \pm 0.650$	84.120 a, AB, $b \pm 0.110$
	9	83.110 a, A, $a \pm 0.610$	83.985 a, A, $a \pm 0.575$	83.260 a, A, $a \pm 0.290$
10	0	83.885 a, A, $a \pm 0.385$	83.885 a, A, $a \pm 0.385$	83.885 a, A, $a \pm 0.385$
	3	82.655 a, A, $a \pm 1.805$	84.115 a, A, $a \pm 1.305$	83.575 a, A, $a \pm 2.135$
	6	82.290 a, B, $a \pm 1.410$	84.045 a, AB, $ab \pm 0.025$	86.070 a, A, $a \pm 0.070$
	9	82.280 a, A, $a \pm 0.940$	84.930 a, A, $a \pm 1.220$	83.165 a, A, $a \pm 0.155$
15	0	83.525 a, A, $a \pm 0.035$	83.525 a, A, $a \pm 0.035$	83.525 a, A, $a \pm 0.035$
	3	82.480 a, A, $a \pm 0.220$	82.675 a, A, $a \pm 0.375$	82.930 a, A, $a \pm 0.380$
	6	83.270 a, B, $a \pm 0.110$	83.455 a, B, $bc \pm 0.445$	85.060 a, A, $ab \pm 0.250$
	9	80.480 a, A, $a \pm 0.330$	83.105 a, A, $a \pm 0.635$	83.400 a, A, $a \pm 2.030$

*→ A, B: Aynı satırda farklı büyük harfi alan ambalaj grupları arası fark önemlidir ($p < 0.05$)

**↓ a,b,c: Aynı sütunda farklı küçük harfi alan günler (dönemler) arası fark önemlidir ($p < 0.05$)

***Aynı günde (dönemde) ve ambalaj grubunda farklı italik harfi alan doz grupları arası fark önemlidir ($p < 0.05$)



Tablo 5. Depolama süresince farklı ambalaj tiplerinde muhafaza edilen mantarların Toplam Fenolik (mg/g) içeriğinde meydana gelen değişimler.

Doz (ppm)	Dönem (Gün)	Açıkta	Polietilen	Streç
0	0	0.360 a, A, $a \pm 0.100$	0.360 a, A, $a \pm 0.100$	0.360 a, A, $a \pm 0.100$
	3	0.150 a, A, $a \pm 0.080$	0.150 a, A, $a \pm 0.000$	0.215 a, A, $a \pm 0.115$
	6	0.145 a, A, $a \pm 0.025$	0.240 a, A, $a \pm 0.110$	0.385 a, A, $a \pm 0.135$
	9	0.435 a, A, $a \pm 0.185$	0.060 a, A, $b \pm 0.050$	0.410 a, A, $a \pm 0.040$
5	0	0.575 a, A, $a \pm 0.025$	0.575 a, A, $a \pm 0.025$	0.575 a, A, $a \pm 0.025$
	3	0.705 a, A, $a \pm 0.515$	0.260 a, A, $a \pm 0.210$	0.075 b, A, $a \pm 0.005$
	6	0.200 a, A, $a \pm 0.060$	0.330 a, A, $a \pm 0.220$	0.390 ab, A, $a \pm 0.110$
	9	0.640 a, A, $a \pm 0.210$	0.500 a, A, $ab \pm 0.110$	0.395 ab, A, $a \pm 0.185$
10	0	0.360 a, A, $a \pm 0.120$	0.360 a, A, $a \pm 0.120$	0.360 a, A, $a \pm 0.120$
	3	0.135 a, A, $a \pm 0.035$	0.650 a, A, $a \pm 0.500$	0.350 a, A, $a \pm 0.300$
	6	0.425 a, A, $a \pm 0.265$	0.335 a, A, $a \pm 0.025$	0.340 a, A, $a \pm 0.050$
	9	0.210 a, A, $a \pm 0.020$	0.055 a, A, $b \pm 0.025$	0.505 a, A, $a \pm 0.345$
15	0	0.285 ab, A, $a \pm 0.105$	0.285 a, A, $a \pm 0.105$	0.285 a, A, $a \pm 0.105$
	3	0.560 a, A, $a \pm 0.030$	0.495 a, A, $a \pm 0.035$	0.155 a, B, $a \pm 0.005$
	6	0.345 ab, A, $a \pm 0.095$	0.470 a, A, $a \pm 0.020$	0.270 a, A, $a \pm 0.020$
	9	0.175 b, A, $a \pm 0.115$	0.620 a, A, $a \pm 0.190$	0.320 a, A, $a \pm 0.070$

*→ A, B: Aynı satırda farklı büyük harfi alan ambalaj grupları arası fark önemlidir ($p < 0.05$)

**↓ a,b,c: Aynı sütunda farklı küçük harfi alan günler (dönemler) arası fark önemlidir ($p < 0.05$)

***Aynı günde (dönemde) ve ambalaj grubunda farklı italik harfi alan doz grupları arası fark önemlidir ($p < 0.05$)

C Vitamini

Açıkta, polietilen ambalajda ve streç filmde 0°C ve %90-95 nisbi nemde depolanan *Agaricus bisporus* kültür mantarında depolama boyunca C vitamini içeriğinde meydana gelen değişimler ise Tablo 6,'da verilmiştir. Tablo 6 incelendiğinde genel olarak, her üç faktörün seviyelerine göre de vitamin C miktarında istatistik olarak önemli farklılıklar olduğu söylenebilir. Ambalaj tipi bakımından oluşan farklılıkların, genelde 3. veya 6. günden sonra ortaya çıktığı ve "5. Gün 3. Doz" kombinasyonu dışında diğer kombinasyonlarda açık ambalaj tipinden elde edilen vitamin C miktarı ortalamalarının diğer iki ambalaj tipinden daha yüksek olduğu söylenebilir.

Tablo 6, günler arası farklılıklar bakımından incelendiğinde, genel olarak her doz ve ambalaj tipi kombinasyonunda; 0. güne göre 3. günden itibaren vitamin C miktarı ortalamasında istatistik olarak önemli düşüşlerin olduğu söylenebilir. Diğer yandan aynı ambalaj tipi ve gün kombinasyonlarında dozlar arası farklılıklar incelendiğinde; "0. gün ve açık ambalaj tipi" kombinasyonu dışında diğer kombinasyonlarda dozlar arası farklılıkların istatistik olarak önemli olduğu görülür. Ancak vitamin C miktarındaki değişimlerin, doz artışı ile birlikte yükselme ya da azalma yönünde bir seyir izlemediği söylenebilir.



Tablo 6. Depolama süresince farklı ambalaj tiplerinde muhafaza edilen mantarların C vitamini (mg/kg) içeriğinde meydana gelen değişimler.

Doz (ppm)	Dönem (Gün)	Açıkta	Polietilen	Streç
0	0	69.790 a, A, $a \pm 5.075$	69.790 a, A, $a \pm 5.075$	69.790 a, A, $a \pm 5.075$
	3	28.517 b, A, $a \pm 4.734$	48.145 b, A, $a \pm 3.358$	26.297 b, A, $a \pm 10.629$
	6	60.108 a, A, $a \pm 0.508$	18.741 c, B, $a \pm 1.825$	54.907 a, A, $a \pm 3.040$
	9	23.682 b, A, $b \pm 0.483$	11.591 c, A, $b \pm 5.001$	11.135 b, A, $bc \pm 0.960$
5	0	63.662 a, A, $a \pm 2.544$	63.662 a, A, $a \pm 2.544$	63.662 a, A, $a \pm 2.544$
	3	16.673 a, B, $a \pm 1.901$	19.402 b, B, $b \pm 3.949$	41.724 ab, A, $a \pm 6.743$
	6	52.808 a, A, $a \pm 23.526$	21.482 b, A, $a \pm 1.340$	24.772 b, A, $a \pm 17.614$
	9	21.875 a, A, $b \pm 6.575$	12.128 b, A, $ab \pm 2.097$	14.524 b, A, $b \pm 2.631$
10	0	57.957 a, A, $a \pm 12.792$	57.957 a, A, $a \pm 12.792$	57.957 a, A, $a \pm 12.792$
	3	19.023 b, A, $a \pm 7.462$	25.910 a, A, $b \pm 7.111$	18.899 b, A, $a \pm 0.173$
	6	26.511 b, A, $a \pm 2.125$	29.185 a, A, $a \pm 8.527$	18.576 b, A, $a \pm 5.902$
	9	25.741 b, A, $b \pm 3.074$	29.725 a, A, $a \pm 6.225$	6.135 b, B, $c \pm 0.699$
15	0	53.393 a, A, $a \pm 14.173$	53.393 a, A, $a \pm 14.173$	53.393 a, A, $a \pm 14.173$
	3	19.688 b, A, $a \pm 7.622$	20.194 b, A, $b \pm 6.275$	16.514 b, A, $a \pm 1.712$
	6	39.333 ab, A, $a \pm 0.221$	15.573 b, B, $a \pm 2.663$	19.576 b, B, $a \pm 1.549$
	9	46.701 ab, A, $a \pm 3.097$	21.435 b, B, $ab \pm 3.332$	22.507 b, B, $a \pm 1.630$

*→ A, B: Aynı satırda farklı büyük harfi alan ambalaj grupları arası fark önemlidir ($p < 0.05$)

**↓ a,b,c: Aynı sütunda farklı küçük harfi alan günler (dönemler) arası fark önemlidir ($p < 0.05$)

***Aynı günde (dönemde) ve ambalaj grubunda farklı italik harfi alan doz grupları arası fark önemlidir ($p < 0.05$)

Polifenol Oksidaz Enzimi (PPO)

Polifenol Oksidaz Enzimi (PPO) ilk olarak 1856 yılında Schoenbein tarafından yemeklik mantarlarda bulunmuştur (Whitaker 1972). Polifenol oksidaz bitkilerde kararmaya sebep olan oksidoredüktaz sınıfından bir enzimdir (Vamos-Vigyazo ve Haard 1981). Birçok meyve ve sebze de bulunmasının yanı sıra ıstakoz, karides, yengeç gibi kabuklu deniz hayvanlarında (Simpson *et al.* 1988) ve bazı mikroorganizmalarda da bulunmaktadır (Pomerantz 1963).

Açıkta, polietilen ambalajda ve streç filmde 0°C ve %90-95 nisbi nemde depolanan *Agaricus bisporus* kültürü mantarında depolama boyunca PPO aktivitesinde meydana gelen değişimler ise Tablo 7.'de verilmiştir.

Polifenol oksidaz enzimi aktivitesi bakımından doz, dönem ve ambalaj tipleri arasındaki farklılıklar incelendiğinde; genel olarak farklılıkların istatistik olarak önemli bulunmadığı, ancak 0. doz ve 3. dönemde ambalajlar arası farkın istatistik olarak önemli olduğu görülür. Buna göre; açık ambalaj tipinde diğer iki ambalaj tipine göre ortalama olarak daha yüksek PPO enzimi gözlenmiştir. Benzer şekilde, doz 10 ve dönem 6'da da ambalajlar arası fark istatistik olarak önemli bulunmuş olup, en yüksek PPO değeri ortalama streç filmle kaplanan grupta gözlenirken, en düşük değer açık ambalaj tipinde gözlenmiştir.

Aynı doz ve aynı ambalaj için, dönemler arası fark incelendiğinde; yalnızca 0. doz ve 2. ambalaj tipinde dönemler arası fark istatistik olarak önemli bulunmuştur. Buna göre; en yüksek PPO ortalaması 33.331 değeri ile 0. dönemde elde edilirken, en düşük ortalama değer 15.082 ile 6. dönemde elde edilmiştir. Adı geçen farklılıklar dışında diğer farklılıklar istatistik olarak önemli bulunmadığından, herhangi bir harflendirme yapılmamıştır.

Tartışma

Dünyada olduğu gibi ülkemizde de ticari olarak kültürü yapılan en önemli mantar türü yaygın olarak beyaz şapkalı mantar adıyla bilinen *Agaricus bisporus*'dur. Tüm bahçe bitkileri ürünlerinde olduğu gibi mantarlarda da hasat sonrası kalite kaybı önemli bir sorundur. Hasat sonrası mantarlarda büyük ölçüde su kaybı meydana gelmekte, buna ilaveten enzimatik kararmadan meydana gelen renk değişimi de görülmekte ve şapkalarda açılmalar meydana gelmektedir. Mantarlar diğer sebzeler ile karşılaştırıldıkları zaman 3-4 günlük bir raf ömrüne sahip bulunmaktadır. Günümüzde mantarların raf ömrünün uzatılması amacıyla soğukta muhafaza, modifiye atmosferde muhafaza, kontrollü atmosferde muhafaza, kurutarak muhafaza ve konserveye işleme yöntemlerinden yararlanılmaktadır.



Tablo 7. Depolama süresince farklı ambalaj tiplerinde muhafaza edilen mantarların Polifenol Oksidaz Enzimi (Unite) içeriğinde meydana gelen değişimler.

Doz (ppm)	Dönem (Gün)	Açıkta	Polietilen	Streç
0	0	33.331±6.099	33.331**a±6.099	33.331±6.099
	3	39.823 A*±1.972	23.841 ab B±4.127	16.560 B±2.366
	6	29.177±8.674	15.082 b±0.099	24.052±0.395
	9	23.132±8.412	27.521 ab±2.287	24.281±9.844
5	0	46.237±16.061	46.237±16.061	46.237±16.061
	3	39.823±1.972	32.554±7.926	27.155±0.057
	6	21.686±0.395	27.232±4.048	34.960±6.440
	9	27.995±10.646	21.686±0.395	26.746±0.066
10	0	45.737±13.406	45.737±13.406	45.737±13.406
	3	35.486±14.983	36.694±10.014	18.479±5.073
	6	18.216 B±1.656	20.240 AB±1.840	28.449 A±0.123
	9	18.926±3.155	23.657±9.463	31.937±2.760
15	0	20.898±9.069	20.898±9.069	20.898±9.069
	3	16.955±0.395	17.288±3.094	17.375±7.071
	6	15.234±1.828	25.300±8.740	21.357±1.643
	9	15.640±0.920	26.977±3.199	23.263±3.549

*→ A, B: Aynı satırda farklı büyük harfi alan ambalaj grupları arası fark önemlidir (p<0.05)

**↓ a,b,c: Aynı sütunda farklı küçük harfi alan günler (dönemler) arası fark önemlidir (p<0.05)

***Aynı günde (dönemde) ve ambalaj grubunda farklı italik harfi alan doz grupları arası fark önemlidir (p<0.05)

Yapılan araştırmalar, mantarın raf ömrünün uzatılmasında bazı kimyasal maddeler uygulandıktan sonra değişik ambalaj materyalleri ile düşük sıcaklıkta depolamanın uygun bir teknik olacağını göstermektedir.

Bu çalışmada, farklı ambalaj tipleri (açıkta, polietilen, streç film) ile sitokinin uygulamalarının (0, 5, 10, 15 ppm) mantarlarda yaşlanmaya etkisi, ağırlık kaybı (%), renk değişimi (L*, C ve H), toplam fenolik, C vitamini ve polifenoloksidaz enzim aktivitesi ölçüm ve analizleri ile belirlenmeye çalışılmıştır. Açıkta, polietilen ambalajda ve streç filmde 0°C ve %90-95 nisbi nemde depolanan *Agaricus bisporus* kültür mantarında depolama boyunca ağırlık kaybında (%) meydana gelen değişimler Tablo 1 verilmiştir. Söz konusu Tablo incelendiğinde muhafaza süreleri uzadıkça mantarların ortalama ağırlık kayıplarının arttığı görülmektedir.

Modifiye atmosfer depolama çalışmasında açıkta muhafaza edilen 0, 5, 10 ve 15 ppm organik sitokinin uygulanan mantar örneklerinin 3. gününde ağırlık kayıpları sırasıyla %6.925, 9.155, 7.370 ve 5,800 olarak belirlenirken aynı uygulama örneklerinde depolama sonu olan 9. günde ise %26.700, 15.500, 14.780 ve 19.350 olarak belirlenmiştir.

Polietilen ambalajında depolanan mantar şapkalarında benzer şekilde düzenli olarak ağırlık kaybında artışlar görülmüştür. Depolamanın 3. günde

%1.720; 0.580; 0.130 ve 1.285 olan ağırlık kayıpları aynı sıralama ile depolama sonunda %13.950; 0.875; 0.495 ve 1.640 olarak değişim göstermiştir. Streç filmle kaplanan mantarda 3. günde gözlenen ağırlık kaybı %0.575, 0.265, 0.325 ve 0.685 iken, depolamanın sonunda ise %1.895; 0.115; 0.130 ve 0.175 değerine ulaşmıştır. Tablo 1.'deki verilerden de anlaşılacağı gibi muhafaza başlangıcından muhafaza sonuna kadar bütün uygulama gruplarında ağırlık kaybında artışlar gözlenmiştir. Modifiye atmosferde depolanan mantarlarda özellikle streç filme kaplı ambalajda ağırlık kaybının daha az düzeyde olmasının nedeni oksijenin düşük ve karbondioksit daha yüksek düzeyde tutarak solunum şiddetinin azaltmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Kader, 1986; Salveit, 1997; Gorris ve Tausher, 1999). Modifiye atmosfer paketleme (MAP) mantarların raf ömrünü uzatmada etkili bir yöntem olduğu ve kayıpları azaltması sebebiyle ekonomik açıdan önemli uygulama (Tano ve ark.,1999) olduğunu rapor etmesiyle bulgularımız benzerlik göstermektedir.

Mantarlarda karar kalite kriterleri açısından en önemli kriterlerin başında gelmektedir. Herhangi bir uygulama olmaksızın açıkta yapılan muhafaza ile streç ve PE ile elde edilen modifiye atmosfer depolama L* değeri açısından karşılaştırıldığında en iyi rengi koruyan uygulamanın 15 ppm uygulanan streç filmle kaplanan



örneklerde olduğu tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen L* değerlerinin pazarlanabilme açısından Lopez-Briones ve ark. (1992) yapmış olduğu çalışmada L* değeri için bildirilmiş olan 80.000 değerinin üzerinde bir seyir göstermiştir. Böylece depolama sonunda denemeye alınan mantar örneklerinin L* değeri açısından pazarlanabilir özelliğini kaybetmediği söylenebilir. Depolamadan 32 gün sonra bile CPPU (ticari sentetik sitokinin) uygulamalarında yanıl kollardaki L* değerlerini korumuştur (Carvaial-Millan, 2001). Mantarlarda L* değerindeki azalma (84.3 den 76.1) büyük olasılıkla doku yaşlanmasına bağlıdır (Kim ve Hall 1976, Makhlof ve ark., 1989, Bastrash ve ark., 1993). Çalışmamızda elde edilen bulgularla benzerlik göstermiştir Meyve ve sebzelerde bol miktarda bulunan fenolik bileşikler serbest radikalleri yakalayıcı antioksidatif etki gösteren güçlü antioksidanlar olarak bilinmektedir ve lipit peroksidasyonunu katalizleme yeteneğinde olma özelliğindedirler (Kris-Etherton ve ark., 2002). Fenolik bileşikler, bitkiler tarafından normal gelişme süreci ile enfeksiyon, yaralanma, UV ve radyasyon gibi stres koşullarında sentezlenen ikincil metabolitler olarak bilinmektedir. Meyvelerin renk, burukluk ve lezzet gibi ya da tat, koku gibi duyuşal özellikleri ile oksidatif stabilitesinde etkili olmaları ile bilinmektedirler. (Naczka ve Shahidi, 2004). Toplam fenolikler açısından ambalajlar ve depolama süreleri arasında istatistiksel olarak fark çıkmamış olsada her üç ambalajın 5 ppm sitokinin uygulamasında diğer dozlara göre daha yüksek düzeyde olduğu belirlenmiştir. Hasat sonrasında dayanım, hastalık ve zararlılarla mücadele üzerinde etkili olan fenolik bileşikler düzeyinin korunmasında yaşlanmayı erteleyen sitokinin dozları etkili olduğunu belirlenmiştir.

Çalışma sonucunda, modifiye atmosferli depolama koşulları ile sitokinin uygulamalarının depolama süresince ağırlık kaybı, şapka rengi, C vitamini kaybı, toplam fenolik bileşik kaybı ve PPO enzim aktivitesinin azalması açıkta depolama koşulları ve kontrollere göre

daha etkili bulunmuştur. Özellikle sitokinin uygulamalarının kontrolle kıyaslandığında ağırlık kaybı (%) açısından etkin olduğu görülmüştür. Bunun sitokininin yaşlanma üzerine etkili bir büyümeyi düzenleyici madde olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Pek çok sebze de enzimatik esmerleşmeye sebep olan PPO enzimi ile etkileşime giren oksijen ve fenolik bileşikler elemine edilebilir. Fakat işleme esnasında oksijenin ortadan kaldırılması zordur. Çünkü oksijen hemen hemen bütün ortamlarda mevcuttur (Walker, 1995; Mayer ve Harel, 1979; Va'mos-Vigya'zo', 1981; Vaughn ve ark., 1988; Walker ve Ferrar, 1998). Üzümlerde CPPU uygulaması ile hasattan sonra PPO aktivitesi azalmıştır. Enzimatik doku kararması, diğer dokulardaki hücre membranlarının yüksek CO₂ konsantrasyonlarındaki hasarlarına bağlıdır. Normalde hücresel kısımda yer alan fenolik bileşikler, oksijene maruz kalmış ve bozulan hücre membranının serbest bıraktığı polifenol oksidaz enzimiyle oksitlenmiş ve oluşan bu bileşikler kahverengi pigmentleri meydana getirmişlerdir (Tano ve ark., 2007).

Muhafaza sonunda hemen hemen bütün ambalaj ve uygulamalarda ağırlık kaybı (%) ve PPO aktivitesinde artış olduğu görülürken, toplam fenolik bileşik miktarında, C vitamini miktarında ve L* değerlerinde bir azalış meydana geldiği gözlemlenmiştir. Streç film ile kaplanan mantarların gerek açıkta gerekse de polietilen ambalajlarda muhafaza edilenlere göre ağırlık kaybı (%) aynı zamanda *Agaricus bisporus* mantar türünün PE ve streçle kaplanması ile 9 gün süresince başarılı bir şekilde muhafazasının mümkün olabileceği sonucuna varılmıştır.

Teşekkür

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi 2013-HIZ-ZF002 nolu proje ile çalışmamda maddi destek sağlayan Bilimsel Arastırma Projeleri koordinatörlüğüne (BAP) tesekkür ederiz. Bu çalışma yüksek lisans tezinden hazırlanmıştır.

Kaynaklar

- Ares, G., Lareo, ve ark., Ares, G., Lareo, C., Lema, P., Modified atmosphere packaging for postharvest storage of mushrooms. A review. *Fresh Produce*, 1(1),32-40 (2007)
- Anonim, FAO. *Statistic Detabase*. <http://faostat.fao.org>. Erişim tarihi: 27.03.2018 (2018).
- Bastrash, S., Malhlof, J., Castaigne, F., Villemot, C., Optimal Controlled Atmosphere Conditions for Storage of Broccoli Florets. *J. Food Sci.*, (58), 338–341. (1993).



- Briones, G. L., Varoquaux, P., Chambroy, Y., Bouquant, J., Bureau, G., Pascat, B., Storage of Common Mushroom Under Controlled Atmospheres. *International Journal of Food Science & Technology*, 27 (5): 493-505. (1992).
- Carvaial-Millan, E., Carvallo, T., Orozco, J. A., Martinez, M. A., Tapia, I., Guerrero, V. M., Rascon-Chu, A., Llamas, J., Gardea, A. A., Polyphenol Oxidaseactivity, Color Changes, And Dehydration in Table Grape Rachis Duringdevelopment and Storage As Affected by N-(2-choloro-4-pyridyl)-N-phenylurea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 (2): 946-951. (2001)
- Cavusoglu, S.; Halloran, N The Effect of Pre-Harvest Cytokinin Application Total Phenolic Content and Polyphenoloxidase on Post Harvest Physiology of Cauliflower (Brassica Oleracea L. Botrytis). XXVIII International Horticultural Congress 22-26 August 2010-IHC p114 Lisboa Portugal (2010).
- Cemeroğlu, B.,. *Gıda Analizleri*. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları. No:34, Ankara. s.168–171. (2007)
- Clarke, S. F., P. E., Jameson, C. G., Downs., The influence of 6-benzylaminoprine on postharvest senescence of floral tissues of broccoli (B. oleraceae var. *italica*). *Plant Growth Regul.* (14): 21-27. (1994)
- Eren E., Öztekin G.B., Tüzel Y., Türkiye’de Orta ve Büyük Ölçekli Mantar İşletmelerinin Değerlendirilmesi. *Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 4(3): 230-238, 2016 (2016)
- Fuller, G., Kuhnle, J. A., Corse, J. W., Mackey, B. E.,. Use of Natural Cytokinins to Extend The Storage Life Of Broccoli (Brassica oleracea, Itaiica group). *J.Amer. Soc. Hort. Sci.*, 102 (4): 480-484. (1977)
- Kader, A. A., Biochemical and Physiological Basis For Effects of Controlled and Modified Atmospheres on Fruit and Vegetables. *Food Technol.*, 40 (5): 99–104. (1986)
- Kays, S. J. *Postharvest Physiology of Perishable Plant Products*. ISBN 0-442-23912-2. (1991)
- Kim, B. D., Hall, C. B., Firmness of Tomato Fruit Subjected to Low Concentrations of Oxygen. *HortScience*, (11), 476–483. (1976)
- Kris-Etherton, P., Hecker, K. D., Bonanome, A., Coval, S. M., Binkoski, A. E., Hilpert, K. F., Griel, A. E. and Etherton, T. D.,. Bioactive Compounds in Foods: Their Role In The Prevention of Cardiovascular Disease and Cancer. *The American Journal of Medicine*, 9B (113): 71-88. (2002)
- Makhlouf, J., Castaigne, F., Arul, J., Willemot, C., Gosselin, A.,. Longtermstorage of Broccoli Under Controlled Atmosphere. *HortScience*, (24): 637–639. (1989)
- Mayer, A. M. and Harel, E.,. Polyphenol Oxidases in Plants. *Phytochem.*, 18: 193-215. (1979)
- Milborrow, B. V.,. The İdentification of (+)-abscisin II (+) dormin) in Plants and Meseasurement of Its Concentration. *Planta*, (76): 93-113. (1967)
- Nacz, M., Shahidi, F., V. Extraction and Analysis of Phenolics in Food. *J. Chromatography A*. 1054, 95-111. (1976)
- Obanda, M., Owuor, P. O.,. Flavanol Composition and Caffeine Content of Green Leaf As Quality Potential İndicators of Kenyan Black Teas. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 74 (1997), pp. 209–215. (1997)
- Pomerantz, S. H.,. Separation, Purification, and Properties of Two Tyrosinases from Hamster Melanoma. *Journal of Biological Chemistry*, 238 (7): 2351-2357. (1963)
- Saltveit, M.E., Physical and Physiological Changes in Minimally Processed Fruits and Vegetables. In: Toma´s-Barbera´n, F.A. (Ed.), *Phytochemistry of Fruit and Vegetables*. Oxford University Press, pp. 205–220. (1997).
- Simpson, B. K., Marshall, M. R., Otwell, W. S., 1988. Phenoloxidases from Pink and White Shrimp: Kinetic and Other Properties. *Journal of Food Biochemistry*, 12 (3): 205-218.
- Tano, K., Arul, j., Doyon, G. & Castaigne, F., Atmospheric composition and quality of fresh mushrooms in modified atmosphere packages as affected by storage temperature abuse. *Journal of Food Science*. (64): 1073-1077. (1999)
- Tano, K., Oulé, M. K., Doyon, G., Lencki L. W., Arul, J., Comparative Evaluation of The Effect of Storage Temperature Fluctuation on Modified Atmosphere Packages of Selected Fruit and Vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, (46), (3): 212-221. (2007)
- Vámos-Vigyázó, L., Haard, N. F., Polyphenol Oxidases and Peroxidases in Fruits and Vegetables. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 15 (1): 49-127. (1981)
- Vaughn, K. C., Lax , A. R., Duke, S. O.. Polyphenol Oxidase: the Chloroplastenzyme with no Established Function. *Physiol Plant*, (72): 659–665. (1988)
- Veerasingam, M., He, Y., Huang, B.,. Leaf Senescence and Protein Metabolism in Creeping Bentgrass Exposed to Heat Stress and Treated With Cytokinins. *Journal- American Society For Horticultural Science*, vol. 132; (4), p 467-472 (2007)
- Walker, J. R. L., Ferrar, P. H.,. Diphenol Oxidase, Enzymecatalysed Browningand Plant Disease Resistance. *Biotechnol. Genet. Eng. Rev.*, (15), 457-498. (1998)
- Whitaker, J. R., Polyphenol oxidase. In O. R. Fennema (Ed.), *Principles of Enzymology for the Food Sciences* (pp. 571–582). New York: Marcel Dekker. (1972)
- Yemenicioğlu, A., Özkan M., Cemeroğlu B., Heat İnactivation Kinetics of Apple Polyphenoloxidase and Activation Its Latent Form. *J. Food Sci.*, (62): 508–10. (1997)



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 bulundurmeyen 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):

a) Sunulan makalenin yazar(lar)ın orijinal çalışması olduğunu,

b) Tüm yazarların bu çalışmaya bireysel olarak katılmış olduklarını ve bu çalışma için her türlü sorumluluğu aldıklarını,

c) Tüm yazarların sunulan makalenin son halini gördüklerini ve onayladıklarını,

d) Makalenin başka bir yerde basılmadığını veya basılmak için sunulmadığını,

e) Makalede bulunan metnin, şekillerin ve dokümanların diğer şahıslara ait olan Telif Haklarını ihlal etmediğini taahhüt ederler.

Buna rağmen yazarların veya varsa yazarların işvereninin;

a) Patent hakları,

b) Yazar(lar)ın gelecekte kitaplarında veya diğer çalışmalarında makalenin tümünü ücret ödemeksizin kullanma hakkı,

c) 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>

A New Record for Turkish Mycota From Tokat Province: *Arachnopeziza aurelia* (Pers.) Fuckel..... 54
Tokat Yöresinden Yeni Askomiset Fungus Kaydı: *Arachnopeziza aurelia* (Pers.) Fuckel
Hakan IŞIK, İbrahim TÜRKEKUL

CCl₄ İle Oksidatif Stres Oluşturulan Sıçanlarda *Pholiota aurivella* Liyofilize Ekstrenin Bazı Biyokimyasal ve Hematolojik Parametrelere Etkisi..... 58
Effect of *Pholiota aurivella* Lyophilized Extract On Some Biochemical and Hematological Parameters Against CCl₄-Induced Oxidative Stress in Rats
Abdulahad DOGAN

Flukonazol..... 67
Fluconazole
Selim ÖNCEL, Sema Aşkın KEÇELİ

Bir üniversite hastanesinde idrar kültüründe üreyen *Candida* türlerinin retrospektif olarak değerlendirilmesi.....76
Retrospective evaluation of *Candida* Species Isolated From Urine in A University Hospital
İskender KARALTI

Farklı Dozlarda Uygulanan Sitokininin Beyaz Şapkalı Mantarın (*Agaricus bisporus*) Muhafazası Üzerine Etkisi..... 80
The Effect of Various Cytokinin Doses on Storage of White Button Mushrooms (*Agaricus bisporus*)
Gül GÖKÇENAY, Şeyda ÇAVUŞOĞLU



İÇİNDEKİLER(CONTENTS)

e-ISSN 2147-6845

E-JOURNAL

Issue:1

Volume 9

April 2018

SELÇUK UNIVERSITY MUSHROOM APPLICATION AND RESEARCH CENTER-KONYA-TURKEY

THE JOURNAL OF FUNGUS

- Saf Kültür Olarak Stoklanmış Bazı Mikrofungusların ITS, B-Tubulin ve Aktin Gen Dizilerine Göre Moleküler Tanısı..... 1
Molecular Based Identification of Some Stocked Microfungi as Pure Culture According to ITS, Beta-Tubulin and Actin Genes
Elçin TUNEY, Ahmet ASAN, Burhan ŞEN
- Cortinarius* ve *Lyophyllum* Cinslerine Ait Yeni Kayıtlar..... 18
New Records Belong to *Cortinarius* and *Lyophyllum* Genera
Ertuğrul SESLİ
- Marasmiellus vaillantii* (Pers.) Singer (*Omphalotaceae*), Türkiye Mikotası İçin Yeni Bir Kayıt..... 24
Marasmiellus vaillantii (Pers.) Singer (*Omphalotaceae*), Türkiye Mikotası İçin Yeni Bir Kayıt
Yasin UZUN, Abdullah KAYA
- High-Throughput Genomic Simple Sequence Repeat (SSR) Marker Development and Construction of A High Resolution Physical Map in Button Mushroom (*Agaricus bisporus*) Genome..... 28
Kültür Mantarı (*Agaricus Bisporus*) Genomuna Özel Yüksek Miktarda Basit Dizi Tekrarı (SSR) Markörünün Geliştirilmesi ve Yüksek Çözünürlükte Fiziksel Genom Haritasının Oluşturulması
Ali Tefik UNCU, Ayşe Özgür UNCU
- A New Genus Record for Turkish Clathroid Fungi.....36
Türkiye Clathroid Mantarları İçin Yeni Bir Cins Kaydı
İlgaz AKATA, Cem Tolga GÜRKANLI
- Lichenized and Lichenicolous Fungi Records From Kazdağı (Balıkesir, Turkey)39
Kazdağı'ndan (Balıkesir, Türkiye) Likenleşmiş ve Likenikol Mantar Kayıtları
Seyhan ORAN, Gülşah ÖZYİĞİTOĞLU, Şule ÖZTÜRK
- Yenilebilir Bir Tür Olan *Lycoperdon utriformis*'in Serbest Yağ Asiti Miktarlarının GC (Gaz Kromatografisi)'de Tayin Edilmesi..... 50
Determination of the Fatty Acid Compositions in Edible *Species Lycoperdon utriformis* by Gas Chromatography (GC)
Fatih DURMAZ, Ela Nur ŞİMŞEK SEZER, Sinan AKTAŞ

Devamı kapak içindedir.



Nisan 2018

Cilt:9

Sayı:1

e-ISSN 2147-6845

E-DERGİ

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
MANTARCILIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ-KONYA-TÜRKİYE