

e-ISSN:2147-6845

E-JOURNAL

October 2018 Volume:9

Issue:2

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

Ekim 2018

Cilt:9

Sayı:2



e-ISSN 2147-6845
Ekim 2018 / Cilt:9 / Sayı:2
October 2018 / Volume:9 / Issue:2

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.
Mantarçılık 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
25/10/2018

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
Ekim 2018 / Cilt:9 / Sayı:2
October 2018 / Volume:9 / Issue:2

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. Fatih KALYONCU (Celal Bayar Üniv.-Manisa)
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. 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
Ekim 2018 / Cilt:9 / Sayı:2
October 2018 / Volume:9 / Issue:2

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

Prof.Dr. Ahmet ASAN
Prof.Dr. A.Dilek AZAZ
Prof.Dr. Ertuğrul SESLİ
Prof.Dr. Fatih KALYONCU
Prof.Dr. Hacı Halil BIYIK
Prof.Dr. Hasan Hüseyin DOĞAN
Prof.Dr. İbrahim TÜRKEKUL
Prof.Dr. Leyla KALYONCU
Prof.Dr. Merih KIVANÇ
Prof.Dr. Musa Dikmenli
Prof.Dr. Perihan GÜRBÜZ
Prof.Dr. Sevda KIRBAĞ
Prof.Dr. Yusuf DURAK
Prof.Dr. Yusuf UZUN
Doç.Dr. Bahadır ÖZTÜRK
Doç.Dr. Burhan ŞEN
Doç.Dr. Duygu KADAİFÇİLER GÖKSAY
Doç.Dr. Faruk SELÇUK
Doç.Dr. Gökhan ZENGİN
Doç.Dr. Hakan ALLI
Doç.Dr. Hasan AKGÜL
Doç.Dr. İlğaz AKATA
Doç.Dr. Özlem ABACI GÜNYAR
Dr. Öğr. Üyesi Aşkın BAHAR
Dr. Öğr. Üyesi İskender KARALTI
Dr. Öğr. Üyesi Serkan ÖRTÜCÜ
Dr. Öğr.Üyesi Şanlı KABAKTEPE
Dr. Öğr.Üyesi Yasemin ÖZNURLU
Öğr. Gör. Dr. Sinan ALKAN



e-ISSN 2147-6845
Ekim 2018 / Cilt:9 / Sayı:2
October 2018 / Volume:9 / Issue:2

iii

İÇİNDEKİLER/ CONTENTS

- A new Genus, *Schenella*, Addition to Turkish Mycota from *Geastraceae*.....92-94
Türkiye Mikotasına Geastraceae'den Yeni Bir Cins, Schenella, İlavesi
Hasan Hüseyin DOĞAN
-
- Yenilebilen Yabani Mantar *Morchella esculenta* (L.) Pers.'nin
Besinsel Kalitesi ve Biyoaktif Özelliklerinin Değerlendirilmesi.....95-105
Assessment Of The Nutritional Qualities And Bioactive Properties
Of The Wild Edible Mushroom *Morchella esculenta* (L.) Pers.
Hilal ACAY
-
- A New Species Record For Turkey Mycobiota: *Macrophoma strobi*.....106-109
Türkiye Mikobiyotası İçin Yeni Bir Tür Kaydı: Macrophoma strobi
Faruk SELÇUK, Merve ULUKAPI, Tuğba GÜNDOĞAN
-
- Suillus lakei*, An Interesting Record For Turkish Mycobiota.....110-116
Suillus lakei, Türkiye Mikobiyotası İçin İlginç Bir Kayıt
İlgaz AKATA, Hasan Hüseyin DOĞAN, Öyküm ÖZTÜRK, Fuat BOZOK
-
- Mantarlardan Elde Edilen Alkaloidler.....117-125
Alkaloids from Mushrooms
Büşra FENDOĞLU, Ayşe KURUÜZÜM-UZ, Didem ŞÖHRETOĞLU
-
- Edirne İli Söğütlük Ormanı Toprağından İzole Edilen
Aspergillus Türlerinin Biyoçeşitliliği.....126-141
Biodiversity Of *Aspergillus* Species Isolated From Sogutluk Forest Soil Of Edirne City
Eda Gizem AYAN, Ahmet ASAN, Burhan SEN, Suzan OKTEN
-
- Septoria* Sacc. (*Mycosphaerellales*) Species Determined
in Aladağlar and Bolkar Mountains (Turkey).....142-147
Aladağlar ve Bolkar Dağları'ndan Belirlenen *Septoria* Sacc. (*Mycosphaerellales*) Türleri
Şanlı KABAKTEPE, İlgaz AKATA
-
- Erzincan Tulum Peynirlerinden İzole Edilen Fungal Türler.....148-154
Fungal Species Isolated from Erzincan Tulum Cheeses
Gülçin ERKOL, Günay Tülay ÇOLAKOĞLU
-
- Plectania ericae*, a New Record for Turkey from *Sarcosomataceae*.....155-157
Plectania ericae, *Sarcosomataceae'den* Türkiye İçin Yeni Bir Kayıt
Yasin UZUN, Abdullah KAYA
-
- Effect of Combinations of Salt and Temperature
on Morphological Characteristics of Microfungi.....158-164
Mikrofungusların Morfolojik Karakterleri Üzerine Tuz Ve Sıcaklık Kombinasyonlarının Etkisi
Orkun KAYIŞ, Semra İLHAN, Rasime DEMİREL



e-ISSN 2147-6845
Ekim 2018 / Cilt:9 / Sayı:2
October 2018 / Volume:9 / Issue:2

iv

İÇİNDEKİLER/ CONSTENS

Investigation of Oxidant and Antioxidant Status of Edible Mushroom <i>Clavariadelphus truncatus</i>	165-168
Yenilebilir Mantar <i>Clavariadelphus truncatus</i> 'un Oksidan ve Antioksidan Durumunun Araştırılması Mustafa SEVİNDİK	
Bursa Ve Samsun İllerindeki Tereyağlardan İzole Edilen Funguslar Üzerine Araştırmalar.....	169-175
Researches On Fungi Which Isolated From Butters In Bursa And Samsun Cities Hikmet Öznur ÖZTÜRK, Günay Tülay ÇOLAKOĞLU	
Morphology and Phylogeny Reveal a New Record <i>Gyromitra</i> for Turkish Mycobiota.....	176-181
Türkiye Mikobiyotası İçin Yeni Kayıt <i>Gyromitra</i> 'nın Morfolojik ve Filogenetik Olarak Ortaya Çıkarılması İsmail ACAR, Ayşenur KALMER, Yusuf UZUN, Ayten DİZKIRICI TEKPINAR	
Günlük Kullanılan Spor Tipi Ayakkabılarda Fungal Kontaminasyonun Belirlenmesi.....	182-187
Determination Of Fungal Contamination In Casual Sports Type Shoes Vedat Kadri ÖZKAN, Mustafa Tamer UZUN, Musa Tahir GÜNDOĞAN	
<i>Ganoderma Lucidum</i> 'un Türkiye'deki Yabani Ve Kültür Formlarının Tavuk Embriyoları Üzerindeki Bazı Etkilerinin Karşılaştırılması.....	188-195
Comparison Of Some Effects Of Wild-Grown And Cultivated Forms Of <i>Ganoderma Lucidum</i> In Turkey On Chicken Embryos Haluk ÖZPARLAK, Bülent ÇELİK, Döndü BALTA	
Bazı Makrofungus Misellerin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi.....	196-205
Determination of Antimicrobial Activities of Some Macrofungi Mycelial Cultures Ayşe EREN, Mehmet AKYÜZ	
Modifiye Atmosfer Ve Metil Jasmonat Uygulamalarının <i>Agaricus bisporus</i> 'un Hasat Sonrası Kalite Ve Muhafaza Ömrüne Etkileri.....	206-218
Effects Of Modified Atmosphere And Methyl Jasmonate Treatments On The Postharvest Quality And Storage Life Of <i>Agaricus bisporus</i> Şeyda ÇAVUŞOĞLU	



Geliş(Received) :02/05/2018
Kabul(Accepted) :11/05/2018

Research Article
Doi:10.30708/mantar.420517

A new Genus, *Schenella*, Addition to Turkish Mycota from *Geastraceae*

Hasan Hüseyin DOĞAN

Corresponding author: hhuseyindogan@yahoo.com

Selçuk University, Science Faculty, Biology department, Campus/Konya

Abstract: *Schenella pityophila* (Malençon & Rioussset) Estrada & Lado was reported from Muğla during field studies in 2017 as a new record for Turkish mycobiota. This species is characterized by a hypogeous basidioma and the difference from the other genera of *Geastraceae* is given by the gleba, constituted of small and black separate peridioles containing the spores.

Key words: Biodiversity, macrofungi, new record, *Schenella*

Türkiye Mikotasına *Geastraceae*'den Yeni Bir Cins, *Schenella*, İlavesi

Öz: 2017 yılında Muğla'da yapılan arazi çalışmaları sırasında *Schenella pityophila* (Malençon & Rioussset) Estrada & Lado Türkiye mikobiyotası için yeni bir kayıt olarak bulundu. Bu tür toprak altı bazidyoma ile karakterizedir ve *Geastraceae*'nin diğer cinslerinden farkı, sporları içeren küçük ve siyah parçalı peridyollerin oluşturduğu glebadır.

Anahtar kelimeler: Biyoçeşitlilik, makromantarlar, yeni kayıt, *Schenella*

Introduction

Schenella genus is represented by four species in the world. First *Schenella* species was published as *Schenella simplex* T.Macbr. by Macbride (1911). Martin (1961) described second species of *Schenella*, *S. microspore* G.W.Martin, then *Pyrenogaster pityophilus* Malençon & Rioussset was published by Malençon and Rioussset in 1977. Last *Radiigera romana* was published by Quadracia (1996) and this species transferred to *Pyrenogaster* genus as *Pyrenogaster romana* (Quadracia) Calonge by Calonge in 1997. Estrada-Torres et al. (2005) studied taxonomic position of these four species by molecular method and they transferred *Pyrenogaster* genus to *Schnella*, according to their studies *Radiigera* and *Pyrenogaster* genera are synonym of *Schenella* genus and these four species were transferred to *Schenella*. The aim of this study is to contribute to Turkish mycobiota

Material and Methods

Schenella specimens were collected in Muğla-Köyceğiz, Mındar ağaç, a part of 255, under *P. nigra*, 37°03'778"N/28°56'097"E, 1259m, 19.06.2017, HD18442; Muğla-Köyceğiz, Kocaçayır, a part of 120, *P. nigra*, 37°00'594"N/28°56'859"E, 1259m, 19.06.2017, HD18445, 18446. Colour photograph were taken and ecological features were noted at the field. Some chemical reagents (Melzer; KOH in 10%, 5%, 3%, or 2% solutions; cotton blue; IKI; etc.) were used for the macroscopic and microscopic studies. Peridium, spores and body sections were prepared and measured by light microscope (Leica DM 3000). The specimens were identified according to Montecchi and Sarasini (2000), Gori (2005). New recorded species was checked according to Sesli (2014), Akata and Uzun (2017), Akata (2017), Allı et al. (2017).



Results

Basidiomycota

Geastraceae

Schenella pityophila (Malençon & Rioussset) Estrada & Lado [as 'pityophilus'], *Mycologia* 97(1): 147 (2005), Figures (1 and 2)

Description of the species was based from Montecchi and Sarasini (2000).

Fruitbodies globose, 20-25 mm diam. (Fig 1 A), hypogeous at first, then emerging from the soil; surface white to dirty whitish, later slightly brownish, it is enveloped by numerous remnants of the mycelial layer (Fig 2. A), also arranged in rhizomorphs, concolorous.

Exoperidium 2-4 mm thick, constituted of three well distinct layers: the external surface with a mycelial origin (Fig 2. A), an intermediate part, thin and fibrous (Fig 2. B), and last innermost part, thicker and fleshy, whitish in section, with a pseudoparenchymatous structure (Fig 2. C).

Endoperidium whitish, membranous, thin, separable from the exoperidium, containing the gleba (Fig 2 D).

Gleba consisting of a basal roundish pseudocolumella and of many peridioles radially arranged

between the columella and the endoperidium; peridioles conical or bottle-shaped, about 3 x 1,5 mm, at first whitish, hollow and lined by a regular hymenium (Fig 1 B), when mature black and containing a powdery mass of spores and capillitium, wrapped by a hard cortex which gradually wears off for spore liberation.

Spores hyaline at first, with a rather thick wall, ellipsoid, apple pip-like or ovoid and smooth at first, then globose, dark brown, verrucose, 5.5-7.5 x 5-6 µm when ripe (Fig 2 E).

Discussion

The peridium of *Schenella pityophila* is in practice equal to that of *Geastrum* species, in number and structure of the various layers; completely peculiar is in contrast the global organisation in peridioles, separate and dehiscent when mature. The whole fruitbodies as well are dehiscent at full maturity, so that peridioles just become free (Montecchi and Sarasini 2000).

Until now, Geastraceae family is represented by *Geastrum* (18 species), *Myriostoma* (*M. coliforme*) and *Sphaerobolus* (*S. stellatus*) in Turkey. With this study fourth Genus, *Schenella*, will be added Turkish mycota.



Figure 1. A-Mature basidioma, B-Basidioma and peridioles.

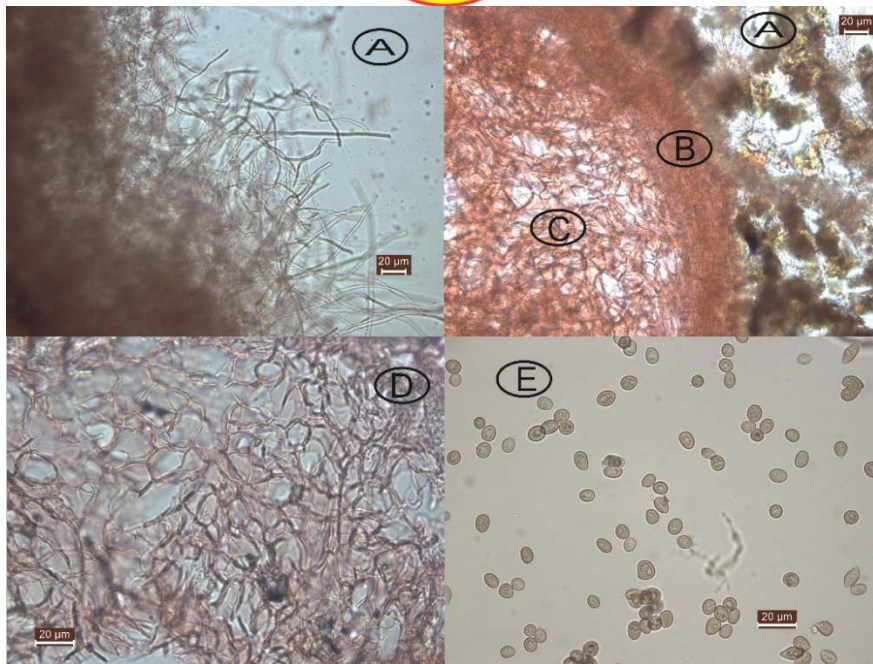


Figure 2. A-Mycelial layer on exoperidium, B-Intermediate part on exoperidium, C- pseudoparenchymatous structure on exoperidium, D-Endoperidium, E-Spores.

References

- Akata I., *Macrofungal Diversity of Belgrad Forest (İstanbul)*, Kastamonu Uni., Orman Fakültesi Dergisi, 17(1)150-164 (2017).
- Akata I., Uzun Y., *Macrofungi Determined in Uzungöl Nature Park (Trabzon)*, Trakya University Journal of Natural Sciences 18(1)15-24 (2017).
- Allı H., Candar SS, Akata I., *Macrofungal Diversity of Yalova Province*, The Journal of Fungus, 8(2)76-84 (2017).
- Calonge FD., *Notes on the genera Pyrenogaster and Radiigera (Gasteromycetes)*, Bol Soc Micol Madrid, 22: 105-112 (1997).
- Estrada-Torres A., Gaither TW., Miller DL., Lado C., Keller HW., *The myxomycete genus Schenella: morphological and DNA sequence evidence for synonymy with the gasteromycete genus Pyrenogaster*, Mycologia, 97(1) 139-149 (2005).
- Gori L., *Funghi ipogei della Lucchesia*, Marlia, Lucca: Maria Pacini Fazzi Editore (2005).
- Macbride TH, *A new genus of Myxomycetes*, Mycologia, 3(1)39-40 (1911).
- Malençon G., Rioussset L., *Pyrenogaster pithyopilus G. Malençon et L. Rioussset, nouveau genre et nouvelle espèce de Gastéromycète (Gastraceae)*. Bulletin de la Société Mycologique de France (in French), 93(3) 289-311 (1977).
- Martin GW., *The genus Schenella*. Mycologia, 53: 25-30 (1961).
- Montecchi A., Sarasini M., *Funghi ipogei d'europa*, A.M.B.Fondazione Centro Studi Micologici, Vicenza, Italy (2000).
- Quadraccia L., *Studies on Italian Gasteromycetes. I. Two New Species of Arachnion and Radiigera (Basidiomycotina, Lycoperdales) from Rome and its Environs*, Mycotaxon, 58: 331-341 (1996).
- Sesli E., Denchev CM., *Checklists of the myxomycetes, larger ascomycetes, and larger basidiomycetes in Turkey*. Mycotaxon 106: 65-67 (2008). + online version 2014: 1-136.



Geliş(Received) :01/03/2018
Kabul(Accepted) :12/05/2018

Araştırma Makalesi
Doi:10.30708/mantar. 400027

Yenilebilen Yabani Mantar *Morchella esculenta* (L.) Pers.'nin Besinsel Kalitesi ve Biyoaktif Özelliklerinin Değerlendirilmesi

Hilal ACAY

*Corresponding Author: hilalacay@gmail.com

The University of Mardin Artuklu, School of Health,
Department of Nutrition and Dietetics, Mardin/Turkey,

Öz: Türkiye zengin ve yenilebilen bir makrofungus çeşitliliğine sahiptir. Bu çalışma, Mardin'de doğal olarak yetişen *Morchella esculenta* (L.) Pers.'nin kimyasal kompozisyonu, yağ asitleri, aminoasitleri ve biyoaktif özellikleri içeren parametreleri belirlemeyi amaçlamaktadır. Protein, karbonhidrat, yağ, kül, diyet lif ve enerji içerikleri sırasıyla 20.64 g/100 g-dw, 75.1g/100 g, 3.25/100 g, 12.4 g/100 g, 30.4 g/100 g ve 4257 kcal/100 g, bulunmuştur. Linoleik, oleik ve palmitik asit gibi yağ asitleri oldukça fazlaydı. Temel amino asitler arasında en yüksek valindi ve onu threonin takip etti. β-karoten-linoleic asit metoduyla en yüksek total antioksidan aktivite metanol ekstraktında belirlendi (67.21 mg/ml). En yüksek DPPH radikalini giderme aktivitesi 89.22 mg/ml ile hekzan ekstraktında elde edildi. Diğer taraftan, en yüksek antimikrobiyal aktivite *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 'a karşı (10 mm) hekzan ekstraktında elde edildi. Sitotoksik aktivitenin potansiyelinin konsantrasyon ve ekstraktların solvent tipine bağımlı olduğu bulunmuştur. Etil asetat ekstraktı 550 µg/ml (99.82 %) konsantrasyon değerinde (99.82 %) PC-3 hücre hattına karşı IC50 264.33 (µg/ml) ile önemli inhibisyon etkisi göstermiştir. Sonuçta, günlük besin olarak kullanılan bu mantar yeni ilaç geliştirmek için ve kanser tedavisinde bir çeşit tedavi kaynağı olabilir, ve ayrıca, *M. esculenta* organik ekstraktları biyoaktiviteyi teşvik eden maddeler içerebilir.

Anahtar kelimeler: *Morchella esculenta*, kimyasal, bioaktif özellikler, yabani mantarlar

Assessment Of The Nutritional Qualities And Bioactive Properties Of The Wild Edible Mushroom *Morchella esculenta* (L.) Pers.

Abstract: Turkey has a rich and edible macrofungal diversity. This study aim to determinate parameters that included the chemical composition, fatty acids, amino acids and bioactive properties of *Morchella esculenta* which naturally grown in Mardin. Protein, carbohydrate, fat, ash, dietary fiber and energy contents were found 20.64 g/100 g-dw, 75.1g/100 g, 3.25/100 g, 12.4 g/100 g, 30.4 g/100 g and 4257 kcal/100 g, respectively. Fatty acids such as linoleic, oleic and palmitic acids were relatively abundant. Among the essential aminoacids valin was the highest amount and this was followed by threonine. The highest total antioxidant activity by β-carotene-linoleic acid metod was identified in methanol extract (67.21 mg/ml). The highest DPPH scavenging activity was obtained hexane extract with 89.22 mg/ml. On the other hand, the highest antimicrobial activity was obtained against *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (10 mm) in hexane extract. It has been found that the potential of cytotoxic activity is depended on concentration and solvent type of extracts. Ethyl acetate extract showed significant inhibitory value at the concentrations of 550 µg/ml (99.82 %) against PC-3 cell lines with IC50 264.33 (µg/ml). Overall, the mushroom used as a daily nutrient could be a source for new drug developments and a kind of treatment in cancer therapies, and also, organic extracts of *M. esculenta* may contain substances that stimulate bioactivity.

Key words: *Morchella esculenta*, chemical, bioactive properties, wild mushrooms



Giriş

Doğal yenilebilir mantarlar birçok Asya ülkesinde geleneksel olarak besin ve ilaç olarak kullanılmaktadır. Esas olarak yabancı mantarların mutfak ve ticari değerleri tat ve aroma gibi kendi organoleptik özelliklerinden ve ayrıca zengin karbonhidrat, diyet lif, vitamin ve mineral ve ilaveten yüksek oranda doymamış yağ asidi içeriğinden kaynaklanmaktadır. Yüksek protein ve düşük yağ/enerji miktarı, yenilebilen yabancı mantarları düşük kalorili diyetlerde kullanmak için harika bir besin kaynağı yapmaktadır (Kalac, 2012; Üstün, 2011; Diez ve Alvarez, 2001).

Morchella esculenta (L.) Pers tıbbi ve besinsel kalitesi için son derece değerli bulunmakta ve bir sebze veya fonksiyonel gıda olarak doğal tüketilmektedir. Ayrıca Dünyada kanser, hipertansiyon, kanda kolesterol azlığı gibi hastalıklar için yüzyıllardır kullanılmıştır (Elmastas ve ark., 2007; Wong ve Chye, 2009; Genç ve ark., 2009; Kanwal ve Reddy, 2012).

M. esculenta'nın şapka oluşumu Kuzey Yarımkürenin ılıman, Avrupa, Kuzey Amerika ve Çin gibi bölgelerinde yüksek oranda sınırlıdır (O'Donnell ve ark., 2011; Du ve ark., 2012) ve hasat periyodu kısadır. Ticari talep ve popülaritesinin artmasından dolayı ticari olarak kültüre alınmakta ve Amerika, Meksika, Türkiye, Çin ve Hindistan'dan ihraç edilmektedir (Pilz ve ark., 2007; Taskin ve ark., 2010). Mardin 'de yöre halkı tarafından fakiroşk olarak isimlendirilen bu tür Savur Mazıdağ ve Sürgücü çevresinde toplanmakta ve tüketilmektedir.

Şapkalı mantarlarda bulunan fenolik bileşikler, tokoferoller, poliketidler, steroidler, terpenler ve askorbik asit gibi maddeler oksidatif hasarı engellemede ve antioksidan enzimleri aktive etmede kullanılabilen, antioksidan etkisi olduğu bilinen kimyasallardır (Adebayo ve ark., 2012, Preeti ve ark., 2012).

Bunun yanı sıra içeriklerindeki C, A vitaminleri ve β-karoten de güçlü antioksidan etkisi olan moleküllerdir (Bobek ve Ozdin 1998, Jayakumar ve ark., 2007). Yapılan birçok çalışma mantarların antioksidan aktivitelerinin yüksek olduğunu göstermektedir (Preeti ve ark., 2012). Ayrıca, deney hayvanları ile yapılan çalışmalar sonucu sentetik antioksidanların düşük dozlarının kanseri engelleme özelliği gösterdiği, ancak yüksek dozlarda kullanıldıklarında karsinogeneze ve karaciğer hasarına yol açtığı belirlenmiştir. Bu durum da doğal antioksidanlara olan ilgiyi arttırmıştır (Bobek ve Ozdin 1998, Khatua ve ark., 2013, Kosanićve ark., 2012).

Diğer tarafta, İnsan patojenik bakterilerinin antibiyotik direnci dünya çapında halk sağlığı sorunu olmaya başlamıştır (Finch, 2002; Harbarth and Samore,

2005). Bu nedenledir ki antimikrobiyal aktivite gösteren yeni maddelerin araştırılması öncelik halini almıştır (Livermore, 2005). 1950 yılında şapkalı mantarlardan agrocycin antibiyotiğinin saflaştırılması ve tanımlanması ile Basidiomycetes üyelerinin antimikrobiyal etkisi gösterilmiştir (Kavanagh ve ark., 1951). Diğer bir halk sağlığı sorunu ise kanserdir. WHO, 2002 verilerine göre yaklaşık olarak 25 milyon insan bir kanser hastalığı ile mücadele etmekte ve yıllık 10 milyon yeni vaka raporu olduğu tahmin edilmektedir. Bu nedenle daha etkili yeni antikanserijen maddelere talep artmaktadır (Lord and Ashworth, 2010). Bazı *Basidiomycota* türlerinin bazidiyokarp, (Hu ve ark., 2002) vejetatif miselyum (Hu ve ark., 2002; Choi ve ark., 2004) ve sporlarının (Fukuzawa ve ark., 2008) organik ekstraktlarının kanser hücrelerine karşı sitotoksik aktiviteleri bazı çalışmalarda rapor edilmiştir.

İlaç ve nötrostatiklerin gelişimi için bir kaynak ve fonksiyonel gıda olarak mantarların kullanımıyla ilgili verilerin azlığından dolayı yenilebilen yabancı mantarların besinsel içeriklerinin ve antioksidan, antimikrobiyal ve sitotoksik biyoaktif özelliklerinin değerlendirilmesi gerekmektedir. Bu çalışma, Mardin'de doğal olarak yetişen *M. esculenta* 'nın kimyasal kompozisyonu, yağ asitleri, aminoasitleri ve biyoaktif özellikleri içeren parametreleri belirlemeyi amaçlamaktadır.

Materyal ve Metot

Kullanılan Makrofungus

Çalışmada kullanılan *M. esculenta* 2016 Nisan-Mayıs aylarında yapılan arazi çalışmalarından elde edildi (Şekil 1). Tanı makroskopik incelemeler, ekolojik yapısal özelliklerle ilgili arazi çalışması ve Mardin Artuklu Üniversitesi Mikrobiyoloji-Biyokimya Araştırma Laboratuvarı'nda saklanan örnekler kullanılarak yapıldı. Türün tanısı yaygın olarak kullanılan anahtar ve eserler (Chang and Miles (2004), Christensen (1981), Hall ve ark. (2003) ve Laessoe ve Lincoff (1998)) vasıtasıyla yapıldı ve Dicle Üniversitesi, Öğretim Üyesi Prof. Dr. Abdunnasır YILDIZ tarafından gözden geçirildi.

Kullanılan Mikroorganizmalar

Antimikrobiyal aktivitelerini test etmek için kullanılan; *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 11774 standart bakteri suşları ile *Candida albicans* ATCC 10231 suşları, Sağlık Yüksekokulu Mikrobiyoloji Araştırma Laboratuvarında mevcuttur.



Şekil 1. *Morchella esculenta*'nın kurutulmuş örnekleri

Mantar Örneklerinin Besinsel İçeriklerinin Belirlenmesi İle İlgili Deneysel Çalışmalar

Mantar örneğinin; enerji, azot, kül, yağ ve karbonhidrat miktarları literatürde belirtilen yöntemlere göre yapıldı (AOAC 1990; Ergün ve ark. 2004; Kırbağ ve Korkmaz 2014) Azot tayininde Gerhard marka Khejdahl sistemi kullanılmıştır. Enerji değeri İKA marka kalorimetre kullanılarak tayin edilmiştir. Kül tayininde Prother marka kül fırını kullanıldı. Diyet lif miktarı AOAC 993.21 yöntemine göre yapıldı.

Mantar numunesindeki aminoasit konsantrasyonları HPLC ile Das ve ark. (2014) tarafından önerilen metot kullanılarak ölçüldü. Analizlerde Dionex marka HPLC cihazı kullanıldı. Her deney 3 defa tekrarlanmış olup, sonuçlar ortalama ve standart sapmaları ile birlikte verilmiştir.

Yağ Asidi Analizi

Yağ asidi analizleri Folch ve ark. (1957)'nin methodu modifiye edilerek, Kaçar ve ark. (2016) 'ına göre yapılmıştır. Yağ asitleri analizleri SHIMADZU GC 2010 PLUS model Gaz Kromatografisi cihazında, alev iyonizasyondedektörü (FID) ve DB-23 (Bonded 50 % cyanopropyl) (J & W Scientific, Folsom, CA, USA) kapiller

kolon (30m x 0.25mm iç çapı x 0.25µm film kalınlığı) kullanıldı. Özetle, 5 gr kadar öğütülmüş mantar kloroform-metanol (2:1v/v) karışımına konularak ekstrakte edildi. Örnekteki total lipitler, ince tabaka kromatografisi ile fosfolipit ve triaçilgliserol fraksiyonlarına ayrıldı. Total lipitler; 80:20:1 oranında petrol eteri-dietil eter-asetik asit karışımında yürütülmüş, havada kuruyan Pleytler 2'7' dikloroflorosein püskürtülerek, lipit fraksiyonları UV lambası altında görülür hale getirilmiştir. Standartlar (yağ asitlerinin metil esterleri karışımı (Sigma-AldrichChemicals)) yardımıyla saptanan fosfolipit ve triaçilgliserolfraksiyonuna ait bantlar kazılarak reaksiyon tüplerine aktarılmıştır. Yağ asitlerinin, yağ asidi metil esterlerine dönüşümü sağlanarak heksanla ekstrakte edilen maddenin yağ asitlerinin yüzde içeriği, gaz kromatografi ile analiz edildi. Toplam yağ asitleri miktarları bilgisayarda GC Solution (Versiyon 2.4) bilgisayar programı ile elde edilmiştir. Mantarların yağ asitlerinin yüzdelere karşılaştırılmasında SPSS 15 bilgisayar programı uygulandı. İki grubun yağ asidi yüzdelere karşılaştırılması, t-testi ile yapıldı. Ortalamalar arası farkı saptamak için Duncan'ın (1955) "MultipleRange" testi kullanıldı. Yapılan istatistikler sonucu, veriler p<0.05 olması istatistiksel olarak fakların önemli olduğu kabul edildi.



Makrofungusların Ekstraktlarının Hazırlanması Mantar Özütlelerinin Elde Edilmesi

Oda sıcaklığında kurutulduktan sonra toz haline getirilmiş mantarlar 20 g'lık maddeler alınarak beher içerisinde 200 mL'lik hekzan bir gece boyunca karıştırılmak suretiyle ekstraksiyon gerçekleştirilip ardından süzüldü ve ikinci kez 200 mL hekzanla tekrar ekstraksiyon gerçekleştirildi. Geriye kalan kısım 200 mL'lik etilasetatla benzer şekilde ekstrakte edilip süzüldü. Son olarak aynı işlem 200 mL'lik metanol ile gerçekleştirildikten sonra hekzan etilasetat ve metanol ekstraktları kendi içlerinde birleştirilip kuruluğa kadar rotary evaporatörde çözücülerini uçurulmak suretiyle hekzan ekstraktı, etilasetat ekstraktı ve metanol ekstraktı elde edildi. Elde edilen hekzan, etilasetat ve metanol ekstraktı daha sonra kullanılmak üzere derin dondurucuda saklandı.

Mantar Stoklarını Hazırlanması

Mantar türlerinden elde edilen hekzan, etilasetat, ve metanol özütleleri, deneylerde kullanılmak üzere, DMSO/Metanol (2/8) oranı ile seyreltilerek 7 mg/mL olacak şekilde stok çözeltiler hazırlandı.

Antioksidan Aktivite Belirleme Testleri

Total Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi:

Mantar ekstraktlarının antioksidan aktivitesini belirlemek için Dapkevicus ve ark. (1998)'nin belirlediği β -karoten-linoleic asit metodu kullanıldı. β -karoten/Linoleik asit stok çözeltisi hazırlamak amacıyla 0.5 mg β -karoten 1mL kloroform içerisinde çözüldü 25 μ l linoleik asit ve 200 mg Tween 40 eklendi. Kloroform rotary evaporatörde 40°C'de uçuruldu. Sonra üzerine oksijenle doyurulmuş 100 ml destile su ilave edilerek iyice çalkalandı. 4.6 mL bu reaksiyon karışımı test tüplerine aktarıldı. Ve 0.4 mL değişik konsantrasyonlarda (0.5, 2.5, 5.0 ve 10 mg/mL) hekzan etilasetat ve metanol ekstraktları eklendi ve emülsiyon 2 saat 50°C'de inkübe edildi. Aynı işlem standartlar ve kör için de yapıldı. Bu inkübasyon süresinden sonra karışımın absorbası 490 nm'de okundu. Absorbans ölçümleri β -karoten rengi yokoluncya kadar devam etti. β -karoten'nin ağarma oranı (R) aşağıdaki eşitliğe göre hesaplandı

$$R = \ln(A/B)/t$$

A:Başlangıç absorbası B: t süresindeki absorbası
(t:30, 60, 90, 120 dakika)

Bu eşitlikten inhibisyon değeri yani antioksidan aktivite hesaplandı.

Inhibisyon değeri= ((R kontrol-R numune)/ R kontrol)x100

Serbest Radikal (DPPH) Giderme Aktivitesi:

Mantar ekstraktlarının DPPH radikali söndürme aktiviteleri Blois (1958) metoduna göre spektrofotometrik olarak yapıldı. Her bir tüpe 0.1 mM DPPH' in farklı çözeltilerinden 1'er mL alınarak, 3 mL'lik farklı konsantrasyonlardaki (1-10 mg/mL) mantar ekstraktlarının

üzerine ilave edildi. Tüpler hızlı bir şekilde sallandıktan sonra 30 dakika oda sıcaklığında karanlıkta inkübasyona bırakıldı. Sonra 517 nm'de absorbanslar ölçüldü. Kör çözeltisi için 1 mL DPPH üzerine 3 mL etil alkol, kontrol çözeltisi için DPPH çözeltisi kullanıldı. Hazırlanan DPPH çözeltisi 517 nm'de maksimum absorbans gösteren koyu mor bir renk oluşturur. Bu DPPH çözeltisi antioksidan maddeler içeren bir solüsyona katıldığında koyu mor renk zamanla rengini kaybetmeye başlar. Buda antioksidan maddelerin DPPH radikali söndürdüğünün göstergesidir. Absorbans değerindeki en hızlı azalma en iyi antioksidan potansiyelinin varlığını belirlemektedir.

DPPH serbest radikali süpürme yüzdesi aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\text{Yüzde inhibisyon} = (A_0 - A_1) / A_0 \times 100$$

(A₀ : Kontrol Absorbansı, A₁ : Numune Absorbansı)

Süperoksit Radikali Giderme Aktivitesi:

Süperoksit anyon radikali giderme aktivitesi Zhishen ve ark (1999)'ünün riboflavin- metiyonin- ışık- NBT metoduna göre yapıldı. Konsantrasyonları 0.1, 0.25, 0.5, 1.0 ve 2.0 mg şeklinde hazırlanan mantar ekstraktlarının üzerlerine toplam hacimleri 500 μ L olacak şekilde 0.05 M'lık fosfat tamponu (pH: 7.8) ile 2.5 mL metiyonin (0.02 M), 0.02 mg riboflavin (3.10⁻³ M) ve 0.05 mg NBT (0.01 M) ilave edildi. Farklı konsantrasyonlardaki mantar ekstraktları için ayrı, içinde mantar ekstraktlarının olmadığı diğer tüm bileşiklerin bulunduğu kör numuneler hazırlandı. Kör numuneler karanlıkta, diğerleri flüoresan ışıkta 25°C'de 25 dk. süresince bekletildi ve 560 nm'de köre karşı absorbanslar ölçüldü. Kontrol olarak kullanılan çözelti de mantar ekstraktı hariç diğer maddelerin ilave edildiği ve flüoresans ışıkta 25dk. bekletildi. Bu çözeltiler hazırlandıktan sonra kör numune karanlıkta, diğerleri alimünyum folyo ile sarılmış, içinde 20 W'lık bir flüoresan lamba bulunan kapalı bir ortamda flüoresan lamba ile reaktantlar arasında uzaklığın, aydınlanma şiddetinin 4000 lüx olacak şekilde ayarlandığı bir ortamda 25°C'de 25 dk. süresince bekletilip, ardından numunelerin UV-Vis spektroskopisi kullanılarak 560 nm'de köre karşı absorbansları ölçüldü. Her bir mantar ekstraktı için ayrı ayrı kör numuneler hazırlandı. Kör çözeltisi için tüplere 100 μ l mg mantar ekstraktı, 2.5 mL fosfat tamponu, 2.5 mL metiyonin, 20 μ L riboflavin ve 50 μ L NBT çözeltisi konularak karanlıkta iki saat bekletildi.

Flavinin fotokimyasal olarak indirgenmesi sonucu oluşan süperoksit anyon radikallerinin (O₂⁻) NBT'yi NBT⁺²'ye (formazon) indirgemekte ve bu da karışımda mavi renk oluşumuna neden olmakta ve 560 nm'de maksimum absorbans vermektedir. İşte antioksidan bileşenler süperoksit anyon radikallerini söndürerek NBT'nin NBT⁺²'ye indirgenmesi önlemekte ve mavi renk oluşumunu kapasiteleri nispetinde engellemektedirler. Dolayısıyla 560 nm'deki absorbans değerinin azalması antioksidan aktivitenin bir göstergesidir. Yüzde inhibisyon değerleri aşağıdaki formüle göre hesaplandı.



Yüzde inhibisyon = $(A_0 - A_1) / A_0 \times 100$
(A_0 : Kontrol Absorbansı, A_1 : Numune Absorbansı)

Metal Şelatlama Aktivitesi:

Mantar ekstraktlarının metal şelatlama aktiviteleri Dinis ve ark. (1994) tarafından belirlenen metotla yapıldı. Mantarın değişik konsantrasyonlarındaki (0.1, 0.25, 0.5, 0.75, 1.0, 2.0 ve 4.0 mg/mL) ekstraktlarının her birinden 1'er mL alınarak 0.05 mL'lik 2mM'lık $FeCl_2$ solüsyonuna eklendi. Reaksiyon, 5 mM'lık 0.2 mL ferrozine ($C_{20}H_{13}N_4NaO_6S_2$) eklenmesiyle başlatıldı. Toplam hacim kullanılan çözücü ile 5 mL'ye tamamlandıktan sonra çözelti hızlı bir şekilde karıştırılıp, 10 dk. oda sıcaklığında bekletildi. 562 nm'de absorbans değerler okundu. Kör için 0.05 mL $FeCl_2$ üzerine toplam hacim 4 mL olacak kadar çözücü eklendi. Standarta da (EDTA) aynı işlemler uygulandı. 562 nm'de spektrofotometrede ölçümler alındı. Kontrol çözeltisi olarak, mantar ekstraktı eklenmeden 200 μ L ferrozin (5 mM) üzerine 50 μ L $FeCl_2$ (2 mM) ve 3.75 mL çözücü ilave edilip, 562 nm'de spektrofotometrik olarak ölçüldü. Demir iyonlarının indikatörü olan ferrozinin demir iyonlarıyla kompleks oluşturarak solüsyonun magenta rengini almasına sebep olur ve bu solüsyon 562 nm'de maksimum absorbans verir. Mantar ekstraktlarının ve standart antioksidant maddelerin aktiviteleri, ferrozin molekülüyle rekabet edip ferrozin- Fe^{2+} kompleks oluşumunu demir iyonlarını bağlayarak veya oluşan komplekslerden demir iyonlarını bağlayarak engellemesi ve 562 nm'de maksimum absorbans veren rengin giderek ağarması ve absorbans değerinin giderek azalması esasına dayanmaktadır. En düşük absorbans değeri en yüksek demir iyonlarını bağlama aktivitesini işaret etmektedir. Aşağıdaki formülle göre demir şelatlama yüzdeleri hesaplandı.

Demir şelatlama yüzdesi = $(A_0 - A_1) / A_0 \times 100$
(A_0 : Kontrol Absorbansı, A_1 : Numune Absorbansı)

İndirgeme Gücü Tayini

Mantar ekstraktlarının indirgeyici gücü Oyaizu, (1986)'ya göre belirlendi. 1-10mg/mL konsantrasyonlarda hazırlanan mantar ekstraktlarının çözeltileri (1mL) üzerine 2.5 mL 200 mM potasyum hidrojen fosfat (KH_2PO_4) tamponu (pH: 6.6) ve %1'lik 2.5 mL potasyum ferrisiyanür ($K_3Fe(CN)_6$) çözeltileri ilave edilerek 50°C'de 20 dakika etüvde bekletildi. Etüvden çıkartılan çözeltiler üzerine 2.5 mL %10'luk TCA ilave edilip çözeltiler 200g'de 10 dakika santrifüj edilerek çözeltilerin süpernatanttan 2.5 mL alınıp, üzerine 2.5mL distile su ve 0.5mL % 0,1'lik $FeCl_3$ (ferric chloride) çözeltisi konularak UV-Vis spektroskopisinde 700 nm'de numunelerin absorbansları ölçüldü. Standart olarak kullanılan, bütillenmiş hidroksi anisol (BHA), trolox, bütillenmiş hidroksi toluen (BHT) askorbik asitide aynı işlemler uygulandı. Deneyde, kör çözelti olarak da mantar ekstraktı olmayan 2.5 mL fosfat tamponu üzerine 2.5 mL $K_3Fe(CN)_6$ eklenerek 20 dakika 50°C'de bekletildikten sonra bu çözelti üzerine 2.5 mL TCA eklenerek bu

karışımdan 1 ml alınıp bu çözelti üzerine 1 ml $FeCl_3$ eklenerek hazırlandı. Ortamdaki antioksidanların varlığı ve indirgeyici güçlerine bağlı olarak 700 nm'deki absorbans değerinin artması indirgeyici gücün göstergesidir.

Antimikrobiyal Aktivite Belirleme Testleri:

Antimikrobiyal aktivite N.C.C.L.S. (National Committee for Clinical Laboratory Standarts) kuralları dikkate alınarak disk difüzyon testi ile belirlendi. Disk difüzyon testi, Nutrient Agar ve Sabouraud Dextrose Agar besiyeri kullanılarak yapıldı. Mikroorganizmaların aşılınması işlemi yapılmadan önce katı besiyerleri 35–36 °C'de 30 dakika inkübasyona bırakıldı, kullanılan bakteri suşları 30 mL Nutrient Broth besiyerinde, maya suşu ise 20 mL Sabouraud Dextrose Broth besiyerine aşılınarak, 37 °C'de 120 rpm'de su banyosunda inkübe edildi. Sterilize edilmiş ve 45-50 °C'ye kadar soğutulmuş Nutrient Agar ve Sabouraud Dextrose Agar (SDA Merck)"dan 25'er mL 9cm çapındaki steril petri kutularına dökülerek düzgün katılaşması sağlandı. Etüvde 37 °C'de bir gece bekletildi. Su banyosuna bırakılan bakteri (108 adet/mL) ve maya (107 adet/mL) suşlarının buyyonlardaki kültürleri alınıp bunlardan 150 μ L alınarak steril petri kutularına steril pamuklu çubuklar yardımıyla dağıtılarak besiyerine homojen bir şekilde dağılması sağlandı. 6 mm'lik steril boş kağıt disklere mantar (7mg/mL) çözeltilerinden 30 μ L (210 μ g/disk), emdirildi. Mantar çözeltileri emdirilmiş diskler katılaştıran agar üzerine hafifçe bastırılarak yerleştirildi. Bu şekilde hazırlanan petri kutuları etüvde 37 °C'de 24/48 saat inkübe edildi ve bu süre sonunda besiyeri üzerinde oluşan inhibisyon zon çapları cetvel kullanılarak mm olarak değerlendirildi.

Sitotoksik Etki Belirleme Testleri:

Mantarın sitotoksik etkisi Alley ve ark. 1998'inin yöntemine göre MTT testi kullanılarak PC-3 (prostat kanseri) hücre dizisi üzerinde değerlendirildi. MTT çözeltisi: 5 mg MTT, 1 ml divalent katyonları (Ca^{++} ve Mg^{++}) içermeyen fosfat tampon çözeltisi (CMFPBS) (pH=7.0) içerisinde çözüldürüldü. Çözelti 4°C'de karanlıkta saklandı. PC-3 (CRL-1435, ATCC) hücre kültürü için serumlu ortam:10 ml inaktive edilmiş FBS (%10), 1 ml penisilin (100 U)/streptomisin (100 μ g/ml) çözeltisi (%1) DMEM-F12 (Dulbecco's Modified Eagle Medium: Nutrient Mixture F-12) besiyeri ile 100 ml'ye tamamlanarak hazırlandı. Çalışmada PC-3 hücreleri için her bir kuyucukta 200 μ L ortam içinde 105 hücre olacak şekilde 24 saatlik kültür fazları uygulandı. 96 kuyucuklu mikrolpaka 37°C 'de %5 CO_2 içeren nemlendirilmiş inkübatörde 24 saat süre ile inkübe edildi. 24 saatin sonunda 8 kanallı otomatik pipet kullanılarak kültür ortamı kuyucuklardan uzaklaştırıldı. Kuyucuklara 50 μ L PBS ilave edilerek yıkandı. Her bir kuyucuğa 90 μ L taze ortam eklendi. Ardından, MTT test için 10 μ L test maddesi $\frac{1}{2}$ oranında seyrelerek giden konsantrasyonlarda



kuyucuklara uygulandı. Sitotoksiste testlerinde 7 konsantrasyon, her konsantrasyon için 4 tekrar ve aynı düzende 2. farklı bir günde çalışılmak üzere toplam 8 kere tekrar yapıldı.

Mantar ile 37 °C 0C'de %5 CO₂'de 24 saat süre ile inkübe edilen hücre hattını içeren 96 kuyucuklu mikropolanın her kuyucuğa 20 µl MTT çözeltisi eklendi. 150 rpm'de 5 dk çalkalandıktan sonra 2-3 saat süre ile 37 °C'de inkübe edildi. Kuyucuklardaki üstteki sıvı atıldı. Kuyucuklara 100 µl DMSO ilave edildi. 150 rpm'de 5 dk çalkalandı. Oluşan rengin şiddeti 590 nm'de (670 nm referans dalga boyuna karşı) ölçüldü. Test edilen bileşikler ile solvent kontrol grubunun absorpsiyon değeri kıyaslanarak % cinsinden ölen hücre sayısı (Inhibisyon konsantrasyonu, IC) hesaplandı. Test örneği yerine test maddesinin çözeltisini içeren kuyucukların (solvent kontrollerin) absorpsiyon değerleri %100 canlılığı gösterir. Deneyde %1 olarak kullanılan DMSO'nun hücreler üzerine sitotoksik etki göstermediği belirlendi. MTT testi için 590 nm'deki absorpsiyonlar 690 nm referans dalga boyuna karşı ölçüldü. Her solvent kontrol ve örnek absorpsiyonundan kör absorpsiyon çıkarılarak düzeltilmiş absorpsiyon değerleri elde edildi. Bir mikropoladaki tekrarlar için absorpsiyon değerlerinin ortalaması alınarak hesaplama yapıldı. Relatif inhibisyon aktivitesi (IC) solvent kontrolünün yüzdesi olarak aşağıdaki formüle göre hesaplandı;

$$\% \text{ inhibisyon} = 100 - (\text{düzeltilmiş ort. OD madde} \times 100 / \text{düzeltilmiş ort. OD solvent/pozitif kontrol})$$

MTT test için solvent kontrol kullanılarak % canlılık hesaplandı. Maruziyet konsantrasyonuna karşı % inhibisyon eğrisi çizildi. Eğriden %50 inhibisyona karşılık gelen konsantrasyon IC₅₀ olarak belirlendi. Sitotoksik aktivite ile ilgili çalışmalar İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Laboratuvarlarında gerçekleştirildi.

Bulgular ve Tartışma

Yapılan arazi çalışmasında yöre halkının bu mantarı fakiroşk olarak isimlendirdikleri ve mayıs ayı içerisinde tükettikleri belirlenmiştir. Yöre halkı bu mantarın Sultan köy (Mardin) civarındaki dağlık alanlarda çobanlar tarafından toplanıp pazarlarda satıldığını anlatmışlardır.

M. esculenta'nın kimyasal kompozisyonuna bakıldığında, protein, karbonhidrat, yağ, kül, diyet lif ve enerji içerikleri sırasıyla 20.64 g/100 g·dw, 75.1g/100 g, 3.25/100 g, 12.4 g/100 g, 30.4 g/100 g ve 4257 kcal/100 g, bulunmuştur (Tablo 1). Daha önce yapılan çalışmalarda *M. conica* var. *costata* misellerinin azot, protein, yağ ve kül, analiz sonuçları (Karaboz ve Öner, 1988) toplam azot 4.924, protein 30.78, yağ 1.35, kül 13.1 (% kuru madde) olarak belirtilmiştir. Yapılan çalışmada benzer sonuçlar elde edilmiştir. Szefer, 2007 yaptığı çalışmada, mantarlarda protein, vitamin, karbonhidrat ve mineral gibi besinsel içeriklerin varyete, antropogenik faktör, toprak yapısı ve yetiştiği bölgeye göre değişebildiğini belirtmektedir. Yapılan çalışmada elde edilen veriler yapılan değerlendirmeyi desteklemektedir. Mantar temel

amino asitler arasında en yüksek valin ardından threonin ve izoleüsin içermektedir. (Tablo 2) FAO/WHO'nun ideal modeline göre, kaliteli protein kaynaklarında esansiyel aminoasit miktarının, total aminoasit miktarına oranı yaklaşık olarak % 40 ve esansiyel aminoasit miktarının, esansiyel olmayan aminoasit miktarına oranı %60'tır. *M. esculenta*'nın protein değerlerinin bu standartlara yaklaştığı açıktır.

M. esculenta'nın total lipit, triaçilgliserol ve fosfolipit fraksiyonundaki yağ asitleri Tablo 3'te değerlendirilmiştir. Yapılan değerlendirme sonucunda linoleik, oleik ve palmitik asit gibi yağ asitleri oldukça fazla olduğu görülmektedir. Yapılan literatür çalışmasında *M. conica*'nın yağasidi ve aminoasit içeriği ile ilgili çalışmaların sınırlı olduğu görülmektedir (Üstün, 2011, Kavishree a ve ark 2008, Vieira ve ark.2016) Ayrıca yapılan çalışmaların bir çoğunun Gürsoy ve ark.(2009) 'nın da belirttiği gibi *M. esculenta* üzerine odaklandığı görülmektedir. Özellikle, linoleik asidin yetişkinlerde kardiovasküler hastalıkları önlemede, bebeklerde ise beyin ve retina gelişimini teşvik eden önemli bir rolü olduğu veya DNA hasarını önlediği belirtilmektedir Simopoulos A 1991; Künsch ve ark. 1999; Kok ve ark. 2003)

M. esculenta'nın antioksidan aktivitesi; total antioksidan aktivite, DPPH radikalini giderme aktivitesi, metal şelatlama aktivitesi, süperoksit anyon radikali giderme aktivitesi, indirgeme gücü gibi parametrelere () göre değerlendirildi. Tablo 4'e bakıldığında β-karoten-linoleic asit metoduyla en yüksek total antioksidan aktivite 67.21 mg /ml olarak metanol ekstraktında görülmektedir. En yüksek DPPH radikalini giderme aktivitesi 89.22 mg/ml ile hekzan ekstraktında elde edildi (Tablo 5). Süperoksit anyon radikali giderme aktivitesine kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında 83,27mg/ml ile methanol ekstraksiyonunda elde edildiği görülmektedir (Tablo 6). EDTA metal şelatlama aktivitesi çalışmasında standart olarak kullanılmıştır. En yüksek metal şelatlama aktivitesi 87.47mg /ml ile etilasetat ekstraktlarından elde edildi (Tablo 7). Mantarlar için yapılan antioksidan aktivite testlerinden birçoğunda konsantrasyon artıca aktivitenin arttığı görülmektedir(Tablo 4,5,6,7,8). Türkoğlu ve ark. (2006) yaptıkları çalışmada; *M. conica* 'nın farklı konsantrasyonlarda antioksidan aktivitesini % 82–96 olarak bulmuşlardır. Ayrıca; Gürsoy ve ark.(2009)'nın yaptıkları çalışmada *M. conica*'nın pozitif kontrol olan BHT (72.74 ± 0.26% 0.1 mg ml⁻¹)'den çok güçlü radikal söndürme aktivitesi (85.36± 2.19% 4.5 mg ml⁻¹) gösterdiği belirtilmektedir. Yapılan çalışmada, *M. esculenta*'nın daha iyi radikal söndürdüğü bulunmuştur.

Diğer taraftan, en yüksek antimikrobiyal aktivite *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (10 mm)'a karşı etilasetatta ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 'a karşı (10 mm) hekzan ekstraktında elde edilmiştir. *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Bacillus subtilis* ATCC 11774 karşı antimikrobiyal aktivite gözlenmedi. (Tablo 9) Ancak test edilen diğer mikroorganizmalarda en iyi aktivite



daha çok hegzan ve methanol ekstraktlarında belirlendi. Türkoğlu ve ark 2006 yaptıkları çalışmada, bu türün ticari ilaçlara kıyasla antimikrobiyal aktivite göstermediğini belirtmektedir. Ancak önceden belirtildiği gibi mantarların antimikrobiyal etkilerinin olduğu (Sheena at al., 2003; Hur et al., 2004; Ishikawa at al., 2001). ve *M. esculenta*'nın enfeksiyon yapan mikroorganizmalara karşı büyümeyi inhibe ettiği bulunmuştur. Yapılan çalışma bu sonucu desteklemektedir. Ayrıca farklı organik solventlerin inhibisyonu farklı etkilediği bulunmuştur.

Sitotoksik aktivitenin potansiyelinin konsantrasyon ve ekstraktların solvent tipine bağımlı olduğu bulunmuştur. Etilasetat ekstraktı 550 µg/ml konsantrasyon değerinde (99.82 % inhibisyon) PC-3 hücre hattına karşı

IC₅₀ 264.33 (µg/ml) değeri ile önemli inhibisyon etkisi göstermiştir Yapılan çalışmada, sitotoksik aktivitenin potansiyelinin konsantrasyon ve ekstraktların solvent tipine bağımlı olduğu bulunmuştur. Literatür çalışmasında bu türün PC-3 hücre hattına karşı herhangi bir veriye rastlanmamıştır. PC-3 hücre hattına karşı IC₅₀ 264.33 (µg/ml) ile önemli inhibisyon etkisi göstermiştir. Bu türün sitotoksik aktivite potansiyelinin olduğu açıktır. Bu nedenle bu konuda yapılacak çalışmaların artması gerekmektedir.

Sonuçta, günlük besin olarak kullanılan bu mantar yeni ilaç geliştirmek için ve kanser terapisinde bir çeşit tedavi kaynağı olabilir ve ayrıca, *M. esculenta*'nın organik ekstraktları biyoaktiviteyi teşvik eden maddeler içerebilir.

Tablo 1. *M. esculenta*'nın Besinsel İçeriği * (Kuru Madde)

Mantar	Enerji (cal/100g)	Protein (Nx4.17) (g/100kg)	Yağ (g/100g)	Karbonhidrat (g/100g)	Diyet Lif (g/100g)	Kül (g/100g)
<i>M. esculenta</i>	4257±0,03	20,64±0,06	3.25±0,02	75.1±0,65	30.4±0,21	12.4±0,04

*Her bir değer üç kez (n =3) tekrarlanmıştır ve ± standart sapmalar (SD) hesaplanarak verilmiştir.

Tablo 2. *M. esculenta*'nın Amino Asit İçeriği * (mg/100 g)

Mantar	Lösin mg/100g	İzolösin mg/100g	Lizin mg/100g	Metionin mg/100g	Fenilalanin mg/100g	Treonin mg/100g	Triptofan mg/100g	Valin mg/100g
<i>M. esculenta</i>	0,13±0,02	1,68±0,97	0,17±0,01	0,21±0,02	0,63±0,01	3,44±0,50	0,05±0,01	3,82±0,54

*Her bir değer üç kez (n =3) tekrarlanmıştır ve ± standart sapmalar (SD) hesaplanarak verilmiştir.

Tablo 3- *M. esculenta*'nın Total Lipit, Triaçilgliserol Ve Fosfolipit Fraksiyonundaki Yağ Asitlerinin Yüzde İçeriği

Yağasidi	PL(ORT±S.H)*	TG (ORT±S.H)*	Total(ORT±S.H)*
C6:0 [§]	-	-	-
C8:0	-	0.02±0.01a	-
C10:0	-	-	-
C12:0	0.02±0.01a	0.03±0.01b	-
C14:0	0.20±0.02a	0.16±0.03b	0.09±0.01c
C15:0	0.22±0.02a	-	0.03±0.01b
C16:0	18.76±1.22a	15.27±1.04b	13.51±1.45c
C17:0	0.09±0.02a	-	-
C18:0	2.71±0.56a	2.35±0.45a	2.36±0.37a
C20:0	-	-	0.06±0.02a
ΣSFA	22.0±1.55a	17.83±1.48b	16.08±1.06b
C16:1n-7	0.23±0.02a	0.30±0.04b	0.28±0.05b
C18:1n-9	13.07±1.00a	13.14±1.05a	13.43±1.56a
C20:1n-9	-	-	-
ΣMUFA	13.3±1.44a	13.44±1.95a	13.71±1.34a
C18:2n-6	64.16±2.30a	68.38±2.87b	70.01±2.06b
C18:3n-3	0.47±0.04a	0.30±0.02b	0.14±0.01c
ΣPUFA	64.63±2.40a	68.68±2.95b	70.15±3.40b

*Her veri 3 tekrarin ortalamasıdır. Her tekrarda 3 enjeksiyon yapılmıştır.

§ her satırda aynı harflerle belirlenen veriler p>0.05 olasılık düzeyinde birbirinden farklı değildir.

S.H.: Standart hata, SFA: Doymuş Yağ Asitleri, MUFA: Tekli Doymamış Yağ Asitleri, PUFA: Aşırı Doymamış Yağ Asitleri.

Total, Triaçilgliserol ve Fosfolipitfraksiyonundaki yağ asiti yüzdeleri kendi içinde değerlendirilmiştir.

Tablo 4. *M. esculenta*'nın ve Pozitif Kontrollerin Total Antioksidan Aktiviteleri

Standart ve Mantarlar	Total Antioksidan Aktivite ± SD (%)		
	HEG	EtOAc	MeOH
BHT	69,04± 0,52	66,13±0,12	69,04±0,09
Troloks	42,61 ± 0,14	52,08±0,32	59,43±0,18
Askorbik asit	63,71± 0,62	63,71±1,26	63,71±0,26
BHA	69,49 ± 0,35	69,46±0,09	64,82±0,32
<i>M. esculenta</i>	64,82 ± 0,19	63,17±0,05	67,21±0,26

*Her bir değer üç kez (n =3) tekrarlanmıştır ve ± standart sapmalar (SD) hesaplanarak verilmiştir.

BHA: Bütilenmiş hidroksi anisol; BHT: Bütilenmiş hidroksi toluen; HEG: Hekzan ekstraktı;

EtOAc: Etülasetat ekstraktı; MeOH: Metanol ekstraktı.

Tablo 5. *M. esculenta*'nın ve Pozitif Kontrollerin % DPPH Radikalini Giderme Aktiviteleri.

Mantar adı	Ekstrakt	% DPPH Radikal Giderme Aktivitesi* (mg/mL ekstrakt)					
		1	2	5	10	15	20
Kontrol	BHA	32.66±0.08	38.10±0.53	89.85±0.38	89.36±0.08	91.81±0.00	93.47±0.00
	BHT	86.92±1.59	88.22±2.57	89.16±2.04	88.27±1.44	88.75±0.08	90.05±0.45
	Askorbik asit	92.55±1.07	92.56±1.02	92.54±2.55	92.51±1.05	92.40±2.66	93.60±1.80
	Trolox	92.63±1.99	92.03±1.02	92.14±1.23	92.13±1.05	92.34±1.22	92.43±1.95
<i>M. esculenta</i>	HEG	32.43±1.52	59.30±0.00	89.22±1.81	88.92±1.09	88.39±0.09	87.80±1.90
	EtOAc	35.70±0.81	34.80±0.63	75.25±1.61	87.20±1.27	86.34±1.18	84.67±1.08
	MeOH	8.45±0.09	14.47±1.39	34.75±1.00	69.10±0.98	77.98±1.26	88.09±1.99

*Her bir değer üç kez (n =3) tekrarlanmıştır ve ± standart sapmalar (SD) hesaplanarak verilmiştir.

BHA: Bütilenmiş hidroksi anisol; BHT: Bütilenmiş hidroksi toluen; HEG: Hekzan ekstraktı; EtOAc: Etilasetat ekstraktı; MeOH: Metanol ekstraktı

Tablo 6. *M. esculenta*'nın ve Pozitif Kontrollerin Süperoksit Anyon Radikali Giderme Aktiviteleri.

Mantar adı	Ekstrakt	% Süperoksitanyon Radikali Giderme Aktivitesi* (mg/mL ekstrakt)				
		0,1	0,25	0,5	1,0	2,0
Kontrol	BHA	48,86±0.18	58,04±0.53	58,82±0,51	62,19±1,02	70,34±0.00
	BHT	30,92±0.59	45,58±0.57	62,39±1.04	70,21±2.40	82,93±3.08
	Askorbik asit	36,00±1.07	57,08±1.02	64,19±2.50	66,11±1.05	68,58±2.06
	Trolox	38,36±0,09	52,40±1.12	60,35±1.23	79,58±2.05	82,74±3.22
<i>M. esculenta</i>	HEG	28,17±0.52	45,90±1.00	54,56±1.21	60,34±1.09	67,67±2.09
	EtOAc	20,59±0.81	33,33±0.03	49,99±1.01	66,86±1.32	75,67±1.18
	MeOH	58,04±1.09	58,83±1.39	62,19±1.20	70,34±2.08	83,27±2.26

*Her bir değer üç kez (n =3) tekrarlanmıştır ve ± standart sapmalar (SD) hesaplanarak verilmiştir.

BHA: Bütilenmiş hidroksi anisol; BHT: Bütilenmiş hidroksi toluen; HEG: Hekzan ekstraktı; EtOAc: Etilasetat ekstraktı; MeOH: Metanol ekstraktı.

Tablo 7. *M. esculenta*'nın ve Pozitif Kontrol EDTA'nın Farklı Konsantrasyonlarda % Metal Şelatlama Kapasiteleri

Mantar adı	Ekstrakt	% Metal Şelatlama Kapasitesi* (mg/mL ekstrakt)						
		0.1	0.25	0.5	0.75	1.0	2.0	4,0
Kontrol	EDTA	90,44±1,96	91.32±5.94	91.16±0.62	91.46±0.04	91.53±0.47	91.30±0.04	91.18±0.04
	HEG	53,47±1,66	76.34±2.80	81.28±3.80	83.02±3.08	83.80±3.94	86.24±4.70	87.31±3.64
<i>M. esculenta</i>	EtOAc	54,56±1,41	64.27±1.62	75.74±3.62	83.67±3.89	84.18±4.06	85.94±3.76	87.47±2.03
	MeOH	59,92±1,85	63.23±1.23	67.71±2.37	75.69±2.61	78.17±2.92	84.02±3.80	86.73±2.33

*Her bir değer üç kez (n =3) tekrarlanmıştır ve ± standart sapmalar (SD) hesaplanarak verilmiştir.

EDTA: Etilendiamin tetraasetik asit; HEG: Hekzan ekstraktı; EtOAc: Etilasetat ekstraktı; MeOH: Metanol ekstraktı.

Tablo 8. *M. esculenta*'nın ve Pozitif Kontrollerin Farklı Konsantrasyonlarda Fe³⁺'ü Fe²⁺'ye İndirgeme Gücü.

Mantar adı	Ekstrakt	Fe ³⁺ 'ü Fe ²⁺ 'ye İndirgeme Gücü (A562 nm)* (mg/mL ekstrakt)				
		1	2,5	5	7,5	10
Kontrol	BHA	3,20±0,08	3,44±0,03	3,12±0,08	3,74±0,08	3,23±0,00
	BHT	1,63±0,09	1,61±0,07	1,86±2,04	2,68±1,44	3,26±0,08
	Askorbik asit	3,54±0,03	3,44±0,01	3,33±0,03	3,37±0,04	3,76±0,03
	Trolox	3,51±0,06	4,58±0,03	3,33±0,05	3,35±0,03	3,58±0,08
<i>M. esculenta</i>	HEG	0,44±0,52	0,77±0,00	1,07±0,81	1,44±0,09	1,53±0,09
	EtOAc	0,61±0,81	1,10±0,63	1,92±0,61	2,58±1,27	2,89±1,08
	MeOH	0,56±0,09	0,69±0,39	0,96±1,00	1,17±0,98	1,54±0,26

* Her bir değer üç kez (n =3) tekrarlanmıştır ve ± standart sapmalar (SD) hesaplanarak verilmiştir.

BHA: Bütilenmiş hidroksi anisol; BHT: Bütilenmiş hidroksi toluen; HEG: Hekzan ekstraktı; EtOAc: Etilasetat ekstraktı; MeOH: Metanol ekstraktı.

Tablo 9. *M. esculenta*'nın Denenen Mikroorganizmalar Üzerinde Oluşturdıkları İnhibisyon Zon Çapları.

Test Edilen Mikroorganizmalar	<i>M. esculenta</i>		
	HEG	EtOAc	MeOH
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	10	8	5
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 11774	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	3	10	8
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	-	-	5
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	6	-	9

HEG: Hekzan ekstraktı; EtOAc: Etilasetat ekstraktı; MeOH: Metanol ekstraktı; (-) aktif değil. ^a30 µg/6 mm kağıt disk

Tablo 10. *M. esculenta*'nın Sitotoksik Aktiviteleri

Mantar türleri	Maruziyet konsantrasyonu (µg/mL)		% İnhibisyon		IC50 (µg/mL)	
	EtOAc	MeOH	EtOAc	MeOH	EtOAc	MeOH
<i>M. esculenta</i>	550	850	99,825	30,091	264,33	-
	275	-	38,215	-		
	137,5	-	30,588	-		
	68,75	-	26,110	-		
	34,38	-	24,080	-		
	17,19	-	3,159	-		

EtOAc: Etilasetat ekstraktı; MeOH: Metanol ekstraktı; (-) hesaplanamadı.

Teşekkür

Bu çalışma MAÜ-SYO-04 nolu proje ile Mardin Artuklu Üniversitesi tarafından desteklenmiştir. Ayrıca katkılarından dolayı Dicle Üniversitesi, öğretim üyesi

Prof. Dr. Abdunnasır YILDIZ, İ.Ü. Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Gül Özhan'a teşekkür ederiz.



Kaynaklar

- Adebayo E. A., Oloke J. K., Ayandele A. A., Adegunlola C. O., *Phytochemical, antioxidant and antimicrobial assay of mushroom metabolite from Pleurotus pulmonarius-LAU 09 (JF736658)*, J. Microbiol. Biotech. Res., 2, 2, 366-374 (2012)
- Alley, M. C., Scudiere, D. A., Monks, A., Hursey, M. L., Czerwinski, M. J., Fine, D. L., ... Boyd, M. R., *Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay*. Cancer Research, 48, 589–601(1988).
- AOAC 993.21, *Total Dietary Fiber in Foods and Food Products* J.AOAC Int. 77,687 (1994).AOAC, *Official methods of analysis* (15 th ed.). Virginia DC, USA: Association of agriculturalchemist, 746-780 pp. (1990).
- Bobek P., Ozdın L., Galbavý Š., *Dose-and time-dependent hypocholesterolemic effect of oyster mushroom (Pleurotus ostreatus) in rats*, Nutrition, 14, 3, 282- 286 (1998).
- Blois, M.S. *Antioxidant determinations by the use of a stable free radical*, Nature, 181: 1199- 1200(1958).
- Chang, S.T. and P.G. Miles, *Mushrooms Cultivation, Nutritional Value, Medicinal Effect and Environmental Impact*. 2nd Edn., CRC Press, Boca Raton, pp: 450 (2004).
- Choi, Y.H., Huh M.K., Ryu C.H., Choi B.T., Jeong Y.K., *Induction of apoptotic cell death by mycelium extracts of Phellinus linteus in human neuroblastoma cells*. Int. J. Mol. Med., 14(2): 227-232 (2004).
- Christensen, C.M., *Edible Mushrooms*. 2nd Edn., Printed in the United States of America, pp: 118 (1981).
- Das A.J., Khawas, P., Miyaji, T., Deka, S.C., *HPLC and GC-MS analyses of organicacids, carbohydrates, amino acids, and volatile aromatic compounds in some varieties of rice beer from North East India*, J. Inst. Brew. 120: 244–252 (2014).
- Dapkevicius, A, Venskutonis R, Van-Beek TA and Linssen PH., *Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania*. Journal of the Science of Food and Agriculture 77(1): 140–146 (1998).
- Diez VA, Alvarez A *Compositional and nutritional studies on two wild edible mushrooms from northwest Spain*. Food Chem 75:417-422 (2001).
- Dinis T.C.P, Madeira V.M.C., Almeida L.M., *Action of phenolic derivates (acetoaminophen, salycilate and 5- aminosalycilate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers*. Archive of Biochemistry and Biophysics 315(1): 161–169 (1994).
- Du, X.H., Zhao, Q., O'Donnell, K., Rooney, A.P., Yang, Z.L., *Multigene molecular phylogenetics reveals true morels (Morchella) are especially species-rich in China*. Fungal Genet. Biol. 49, 455–469 (2012).
- Duncan D B. *Multiple range and multiple F tests*. Biometrics 11:1-42, (1955).
- Elmastas, M., Isildak, O., Turkecul, I., Temu, N., *Determination of antioxidant activity and antioxidant compounds in wild edible mushrooms*. J. Food Compos. Anal. 20, 337–345 (2007).
- Ergün A, Çolpan İ, Yıldız G, Küçükersan S, Tuncer S.D, Yalçın S, Küçükersan M.K, Şehu A., *Yemler, Yem Hijiyeni ve Teknolojisi*, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı. II. Baskı, Bölüm 8, 354- 391 s., ISBN 975-97808-0-1 (2004).
- Finch R., *Bacterial resistance- the clinical challenge*. Clin. Microbiol. Infect. 8 (Suppl 3): 21-32 (2002).
- Folch J, Lees M, Stanley A., *Simple method for the isolation and purification of total lipids from animal issues*. J BiolChem 226:497–509 (1957).
- Fukuzawa M, Yamaguchi R, Hide I, Chen Z, Hirai Y, Sugimoto, A, Yasuhara T, Nakata Y., *Possible involvement of long chain fatty acids in the spores of Ganoderma lucidum (Reishi Houshi) to its anti-tumor activity*. Biol. Pharm. Bull., 31(10): 1933-1937 (2008).
- Genc, celep, H., Uzun, Y., Tunçturk, Y., Demirel, K., *Determination of mineral content of wild-grown edible mushrooms*. Food Chem. 113, 1033– 1036 (2009).
- Gursoy N . Sarikurku C., Cengiz, M., Solak M. H., *Antioxidant activities, metal contents, total phenolics and flavonoids of seven Morchella species*. Food and Chemical Toxicology 47 2381–2388 (2009).
- Hall, I.R., S.L. Stephenson, P.K. Buchanan, W. Yun and A.L.J. Cole, *Edible and Poisonous Mushrooms of the World*. Printed through Colorcraft Ltd., Hong Kong, pp: 370 (2003).
- Harbarth S, Samore M.H., *Antimicrobial resistance determinants and future control*. Emerg. Infect. Dis., 11(6): 794-801 (2005).
- Hu H, Ahn N.S, Yang X, Lee Y.S., Kang KS *Ganoderma lucidum extract induces cell cycle arrest and apoptosis in MCF-7 human breast cancer cell*. Int. J. Cancer., 102(3): 250-253 (2002).
- Hur, J.-M., Yang, C.-H., Han, S.-H., Lee, S.-H., You, Y.-O., Park, J.-C., Kim, K.-J., *Antibacterial Effect of Phellinus linteus Against Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*. Fitoterapia, 75:603– 605 (2004).
- İshikawa N.K, Kasuya M.C.M, Vanetti M.C.D., *Antibacterial activity of Lentinula edodes grown in liquid medium*. Braz J Microbiol. 32(3):206–10. doi: 10.1590/S1517-83822001000300008 (2001).
- Jayakumar T., Aloysius Thomas P., Geraldine P., *Protective effect of an extract of the oyster mushroom, Pleurotus ostreatus, on antioxidants of major organs of aged rats*, Experimental gerontology, 42, 3, 183-191 (2007).
- Kaçar, S., Bařhan, M. Oymak.A.S., *Effect of seasonal variation on lipid and fatty acid profile in muscle tissue of male and female Silurustriostegus*. Journal of food science and technology-Mysore. 53 (7): 2913–2922 (2016).
- Kalac P *Chemical composition and nutritional value of European species of wild growing mushrooms*. Nova Science Publisher, In S. Andres & N. Baumann (Eds.), Mushrooms: Types, properties and nutrition pp. 130–151 (2012).



- Kanwal, H.K., Reddy, M.S., *The effect of carbon and nitrogen sources on the formation of sclerotia in Morchella spp.* Ann. Microbiol. 62, 165–168 (2012).
- Karaboz, İ., Öner, M., *Batık kültürde üretilen Morchella conica var. costata miselyumunun kimyasal yapısı ve tek hücre protein (THP) olarak değerlendirilmesi:* Doğa TU. Biyol (Genetik, Mikrobiyoloji, Moleküler Biyoloji, Sitoloji) D. 12(3): 190-196 (1988).
- Kavanagh F., Hervey A., Robbins W. J. , *Antibiotic Substances From Basidiomycetes: VIII. Pleurotus Multilus (Fr.) Sacc. and Pleurotus Passeckerianus Pilat*, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 37. 9. 570 (1951).
- Kavishree, S., Hemavathy, J., Lokesh, B.R., Shashirekha, M.N., Rajarathnam, S., *Fat and Fatty Acids of Indian Edible Mushrooms.* Food Chemistry, Volume 106, Issue 2, Pages 597-602 (2008).
- Khatua, S., Paul, S., & Acharya, K. , *Mushroom as the potential source of new generation of antioxidant: a review*, Research Journal of Pharmacy and Technology, 6, 5, 496-505 (2013).
- Kırbağ S., Korkmaz V, *Değişik Tarımsal Atıkların Bazı Kültür Mantarı Türlerinin Besin Değerleri Üzerine Etkisi.* Artvin Çoruh Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi, Cilt: 15, Sayı:2, Sayfa: 126-131 Ekim 2014 (<http://ofd.artvin.edu.tr/download/article-file/25881>) (2014).
- Kok T.M.C.M., Zwingman I., Moonen E.J., Schilderman P.A.E.L., Rhijnsburger E., Haenen G.R.M.M., Kleinjans J.C.S., *Analysis of oxidative DNA damage after 25 human dietary supplementation with linoleic acid.* Food Chem Toxicol 41:351- 358 (2003).
- Kosanić M., Ranković B., Dašić M., *Mushrooms as possible antioxidant and antimicrobial agents*, Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 11, 4, 1095- 1102 (2012).
- Künsch U, Scharer H, Conedera M, Sassella A, Jermini M, Jelmini G, *Quality assessment of chestnut fruits.* Acta Horticulturae 494:119-127 (1999).
- Laessle, T. and G. Lincoff, *Mushrooms (Eyewitness Handbooks)* Kyodo Printing Co., Singapore, pp: 303 (1998).
- Livermore D., *Minimising antibiotic resistance.* Lancet Infect. Dis., 5(7): 450-459 (2005).
- Lord C.J., Ashworth A., *Biology-driven cancer drug development: back to the future.* BMC Biol., 8:38. Doi:10.1186/1741-7007-8-38 (2010).
- O'Donnell, K., Rooney, A.P., Mills, G.L., Kuo, M., Weber, N.S., Rehner, S.A., *Phylogeny and historical biogeography of true morels (Morchella) reveals an early Cretaceous origin and high continental endemism and provincialism in the Holarctic.* Fungal Genet. Biol. 48, 252–265. (2011).
- Oyaizu M., *Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine.* Japanese Journal of Nutrition 44(6): 307–315 (1986).
- Pilz, D., McLain, R., Alexander, S., Villarreal-Ruiz, L., Berch, S., Wurtz, T.L., Parks, C.G., McFarlane, E., Baker, B., Molina, R., Smith, J.E., *Ecology and Management of Morels Harvested from the Forests of Western North America.* General Technical Report PNW-GTR-710. US Department of Agriculture, Forest Service, Pacific Northwest Research Station, Portland (2007).
- Preeti, A., Pushpa S., Sakshi S., Jyoti A., *Antioxidant mushrooms: a review*, Int Res J Pharmacy, 3, 6, 65-70 (2012).
- Sheena, N., Ajith, T.A., Mathew, A. and Janardhanan, K.K., *Antibacterial Activity of Three Macrofungi, Ganoderma lucidum, Navesporus floccosa and Phellinus rimosus Occurring in South India.* Pharmaceutical Biology, Vol. 41, No:8, Pages 564-567 (2003).
- Simopoulos AP, *Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development.* Am J Clin Nutr 54:438-463 (1991).
- Szefer, P., *Mineral components in foods.* In: Szefer, P., Nriagu, J.O. (Eds.), Chemometric Techniques in Analytical Evaluation of Food Quality. CRC Press; Taylor & Francis, London) (2007).
- Taskin, H., Büyükalaca, S., Dogan, H.H., Rehner, S.A., O'Donnell, K., *A multigene molecular phylogenetic assessment of true morels (Morchella) in Turkey.* Fungal Genet. Biol. 47, 672–682 (2010).
- Turkoglu, A., Kivrak, I., Mercan, N., Duru, M.E., Gezer, K., Turkoglu, H., *Antioxidant and antimicrobial activities of Morchella conica Pers.* African Journal of Biotechnology 5, 1146–1150 (2006).
- Üstün O., *Makrofungusların besin değeri ve biyolojik etkileri.* Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi cilt 68, 4, 223-240 (2011).
- Vieira, V., Barros, L., Martins, A., Ferreira, I. C. F. R. *Nutritional and Biochemical Profiling of Leucopaxillus candidus (Bres.) Singer Wild Mushroom, Molecules, 21(1), 99; doi:10.3390/molecules21010099 (2016).*
- Wong, Y.J., Chye, F.Y., *Antioxidant properties of selected tropical wild edible mushrooms.* J. Food Compos. Anal. 22, 269–277 (2009).
- Zhishen J., Mengcheng T., Jianming W., *The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals.* Food Chemistry 64(4): 555–559 (1999).



Geliş(Received) :29/03/2018
Kabul(Accepted) :18/05/2018

Research Article
Doi:10.30708/mantar.410929

A New Species Record For Turkey Mycobiota: *Macrophoma strobi*

Faruk SELÇUK^{1,2*}, Merve ULUKAPI², Tuğba GÜNDOĞAN²

*Corresponding author: selcuk_faruk@yahoo.com

¹Ahi Evran University, Health Services Vocational College, Kırşehir, TURKEY

²Ahi Evran University, Graduate School Natural and Applied Sciences, Kırşehir, TURKEY

Abstract: *Macrophoma strobi* (Berk. & Broome) Berl. & Voglino has been identified on fallen cones of *Pinus sylvestris* L. and it has been recorded first time for Turkey mycobiota. The samples are deposited at the Ahi Evran University, Arts and Sciences Faculty, Mycology Laboratory.

Key words: Biodiversity, *Macrophoma*, Microfungi, New record, *Pinus sylvestris*.

Türkiye Mikobiyotası İçin Yeni Bir Tür Kaydı: *Macrophoma strobi*

Öz: *Macrophoma strobi* (Berk. & Broome) Berl. & Voglino, *Pinus sylvestris* L.'in düşen kozalak pulları üzerinde teşhis edilmiştir ve Türkiye mikobiyotası için yeni kayıttır. Örnekler Ahi Evran Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Mikoloji Laboratuvarında muhafaza edilmektedir.

Anahtar kelimeler: Biyoçeşitlilik, *Macrophoma*, Mikromantar, Yeni kayıt, *Pinus sylvestris*.

Introduction

The micromycobiota of Turkey has not been extensively investigated and most of the studies deal with powdery mildews and rust fungi (Erysiphales and Pucciniales). A limited number of studies on microfungi are mostly related to agricultural and partly wild herbaceous plants (Bremer et al., 1952; Petrak, 1953; Karel, 1958; Karaca, 1960; Göbelez, 1963; Öner et al., 1974; Tamer et al., 1987; 1989; 1990; 1998; Kabaktepe and Bahçecioğlu, 2005). In the last nineteen years research on these fungi have greatly increased in the country (Hüseyinov and Selçuk, 1999; Hüseyin and Selçuk, 2001; Hüseyinov and Selçuk, 2001; Hüseyin and Selçuk, 2002a; 2002b; Selçuk et al., 2003; Mel'nik et al., 2004; Hüseyin et al., 2005; Selçuk et al., 2009; Selçuk et al., 2012a; 2012b; Hüseyin and Selçuk, 2014; Selçuk and Ekici, 2014; Selçuk and Hüseyin, 2014; Selçuk et al., 2014; Vasighzadeh et al., 2014; Akgul et al., 2011; 2015; Hüseyin et al., 2016; Hüseyin and Selçuk, 2016; Selçuk et al., 2016).

Material and Method

The microfungus sample was collected during periodic mycological excursions from the Kaman district, Kırşehir Province in May 2013. It was transferred to the laboratory and microscopic investigations were carried out. The collections were examined in distilled water and for photomicrographs Olympus BX 53 with Olympus DP 22 digi-CAM (Japan) research microscope (Axio imager 2 equipped with Nomarski differential interference contrast optics) was used. The specimens were identified with the help of Grove (1935), Streets (1984), and Barnett and Hunter (1998). The host plant was identified using the "Flora of Turkey and East Aegean Islands" (Davis, 1965–85). The current names of taxa are given according to Index Fungorum (Url 1). The author names follow Kirk et al. (2008). The sample is deposited at the Ahi Evran University, Arts and Sciences Faculty, Mycology laboratory, in Kırşehir province.



Results

Identified species is given below with its systematic, current name, identified source, description, parts of plant that it's growth on, collected locality, coordinate, altitude, date, collector & deposited number, and synonyms.

Ascomycota

Pezizomycotina

Dothideomycetes

Botryosphaeriales

Botryosphaeriaceae

***Macrophoma* (Sacc.) Berl. & Voglino**

***Macrophoma strobi* (Berk. & Broome) Berl. & Voglino, Figs 1.**

[Grove, 1935: 128; Streets, 1984: 7.11; Barnett and Hunter, 1998: 164]

Conidiomata pycnidial, scattered or subgregarious, immersed, globose, black, about 140-245 µm diam. Ostiole length and shining papilla. Conidia cylindrical, straight, rounded at the apex, and sometimes biguttulate at the apex, 11.3-13.5 x 2.2-3.25 µm.

On fallen cones of *Pinus sylvestris* L., Kırşehir province, Kaman district, around the Japan garden, 1077 m a.s.l., 39° 20' 702"N, 33° 47' 381"E, 07.5.2013. TG. 0116.

Discussion

M.strobi and its synonyms were identified on needles of some coniferous trees, but it shouldn't be forgotten that "strobi" as epithet refers to cone. To put it simply, the fungus generally caulicolous, foliicolous, or conecolous, but we found it as conecolous.

There is every reason to believe that this is merely an early state of *Diplodina strobi* Grove, before the septum is developed (Grove, 1935).

M. strobi has been recorded first time for Turkey mycobiota.

Synonyms of *M. strobi* that are:

Sphaeropsis strobi Berk. & Broome, Ann. Mag. Nat. Hist., Ser. 2(5): 375 (1850).

Phoma strobi (Berk. & Broome) Sacc., Syll. Fung. (Abellini) 3: 101 (1884).

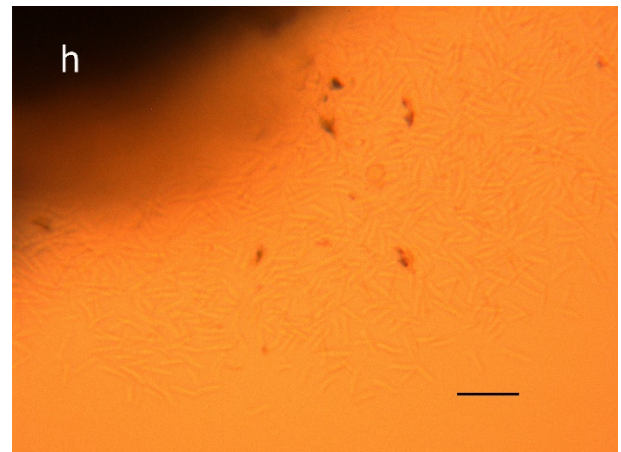
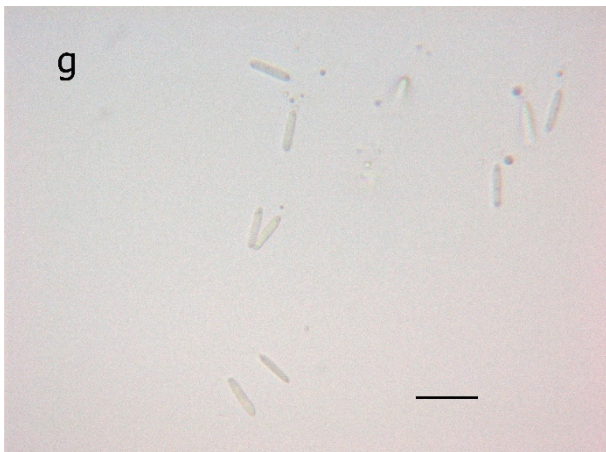
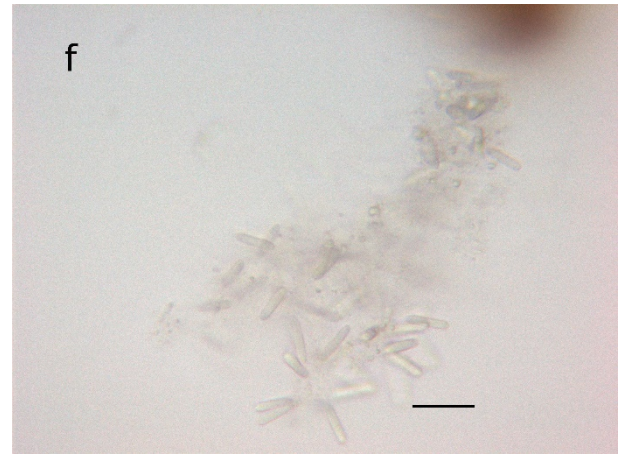
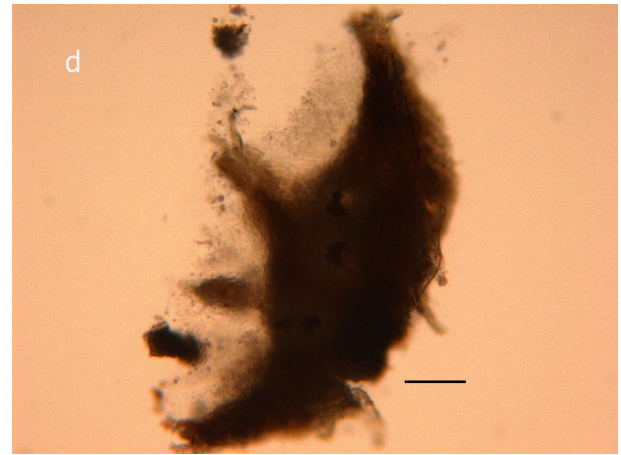
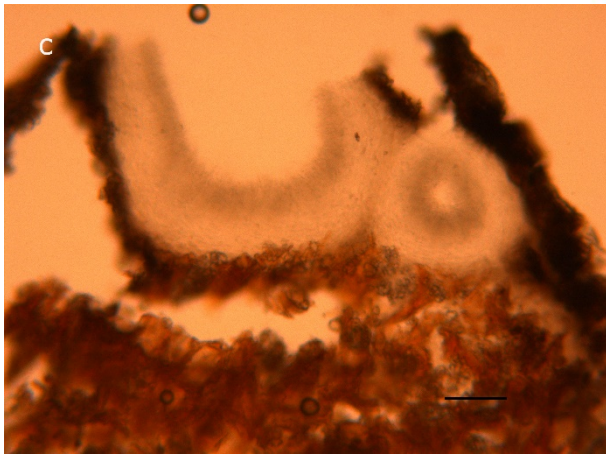
Diplodina strobi (Berk. & Broome) Grove, British Stem- and Leaf-Fungi (Coelomycetes) (Cambridge) 1: 336 (1935).

Discella strobi (Berk. & Broome) M. Morelet, Ann. Soc. Sci. Nat. Arch. Toulon et du Var 204: 8 (1973).

Sirococcus strobi (Berk. & Broome) M. Morelet, Ann. Soc. Sci. Nat. Arch. Toulon et du Var 205: 9 (1973).



Figs 1. *M. strobi*: **a** Infected pine cone; **b** Pycnidia on scale of a cone; **c** Vertical section of a conidioma; **d** A part of pycnidial generative wall; **e-h** Conidia. (Scale bar: c: 45 µm, d: 50 µm, e-g: 16 µm, h: 27 µm.



Figs 1: (Continued)

M. strobi: **a** Infected pine cone; **b** Pycnidia on scale of a cone; **c** Vertical section of a conidioma; **d** A part of pycnidial generative wall; **e-h** Conidia. (Scale bar: c: 45 μ m, d: 50 μ m, e-g: 16 μ m, h: 27 μ m).



References

- Akgül H., Yılmazkaya D., Ergül C.C., *New Microfungi records on Pistachio (Pistacia vera L.) from Gaziantep Province of Turkey*. African Journal of Biotechnology, 10(55):14439-14442(2011).
- Akgül H., Ergül C.C., Yılmazkaya D., Akata I., Selçuk F., Hüseyin E., *Diversity of Microfungi on Fagaceae in Uludağ Forests*. Oxidation Communications, 38(3):1529-1538(2015).
- Barnett H.L., Hunter B.B., *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*, American Phytopathological Society (1998).
- Bremer H., Karel G., Bıyıkoğlu K., Göksel N., Petrak F., *Beiträge zur Kenntnis der parasitischen Pilze der Türkei. VI. Revue de la Faculté des Sciences de l'Université d'İstanbul. Ser. B., 17(3):259-276(1952)*.
- Davis P.H., (ed.). *Flora of Turkey and East Aegean Islands. Vols 1–9*, Edinburgh University Press, Edinburgh(1965-85).
- Göbelez M., *La Mycoflore de Turguie. I. Mycopathologia et Mycologia Applicata*, 19(4):296-314(1963).
- Grove W.B., *British-STEM-and Leaf-Fungi. Vol. 1. Coelomycetes*, Cambridge(1935).
- Hüseyin E., Selçuk F., *New and Poorly Known Genera of Microfungi for Turkey*. Turkish Journal of Botany, 25:437-438(2001).
- Hüseyin E., Selçuk F., *A New Species of Septoria*. Pakistan Journal of Botany, 34(2):113-115(2002a).
- Hüseyin E., Selçuk F., *A New Species of Colletotrichum*. Israel Journal of Plant Sciences, 50(2):161-163(2002b).
- Hüseyin E., Selçuk F., *Coelomycetous Fungi in Several Forest Ecosystems of Black Sea Provinces of Turkey*. Agriculture and Forestry, 60(2):19-32(2014).
- Hüseyin E., Selçuk F., *Pileolaria azerii (Uredinales), A New Rust Species from Turkey*. Sydowia, 68:1-6(2016).
- Hüseyin E., Selçuk F., Churakov B.P., Kornilin K.E., Romanova T.A., *Microfungi on Forest Trees and Shrubs of Duzce Province (Turkey) and Ulyanovsk Region (Russia)*. Mycology and Phytopathology, 50(1): 35–42(2016).
- Hüseyin E., Selçuk F., Şahin A., *The World's Second Record of Neoheteroceras flageoletii Reported from Turkey*. Mycotaxon, 94:241-244(2005).
- Hüseyin E., Selçuk F., *New Records of Phytopathogenic Microfungi for Turkey*. Plant Disease Research, 14:175-176(1999).
- Hüseyin E., Selçuk F., *Contribution to Study of Mycoflora of Turkey. I. Coelomycetes of Orders Melanconiales and Sphaeropsidales on Forest Trees and Shrubs in the Black Sea Coast (Rize and Trabzon Provinces)*. Mycology and Phytopathology, 35(1):28-33(2001).
- Kabaktepe Ş., Bahçecioğlu Z., *Seven rust species recorded as new to Turkey*. Mycotaxon, 91:393-397(2005).
- Karaca I., *Beiträge zur Kenntnis der Virosen, Bakteriosen und der Parasitischen Pilze der Türkei*, Atatürk Üniversitesi Yıllığı, Erzurum(1960).
- Karel G.A., *A Preliminary List of Plant Diseases in Turkey*, Ayyıldız Matbaası, Ankara(1958).
- Kirk P.M., Cannon P.F., Minter D.W., Stalpers J.A., Ainsworth & Bisby's Dictionary of The Fungi. 10th ed., CABI International, Wallingford(2008).
- Mel'nik V., Hüseyin E., Selçuk F., *Contribution to The Studying of Micromycetes in Several Black Sea Provinces of Turkey*. Novitates Systematicae Plantarum non Vascularum, 37:133-148(2004).
- Öner M., Ekmekci S., Dizbay M., *An investigation of some leaf rusts, smuts, powdery mildews and leaf spot occurring of the natural flora of the southern Aegean region*. Bitki Dergisi, 1(1):426-431(1974).
- Petrak F., *Neue Beiträge zur Pilzflora der Türkei*. Sydowia, 7(1-4):14-44(1953).
- Selçuk F., Ekici K., *A New Species of Manoharachariella (Hyphomycetes) from Central Anatolia, Turkey*. Mycosphere, 5:419-423(2014).
- Selçuk F., Erdoğan M., Akgül H., Hüseyin E., *The Genus Septoria Sacc. in Turkey*. Mycopath, 7: 21-28(2009).
- Selçuk F., Gündoğan T., Akata I., *A New Record of Ophiobolus Riess for Turkey*. Communications, Series C: Biology, Ankara Univ. Fen. Fak., 25(1.2):1-6(2016).
- Selçuk F., Hüseyin E., *New Records of Microfungi from Mountain Strandzha in Turkey (South-Eastern Europe). II. Mycology and Phytopathology*, 48(3): 202-208(2014).
- Selçuk F., Hüseyin E., Bitmiş K., *Some Materials on Mitosporic Fungi from Turkey. II. Coelomycetes*. Botanica Lithuanica, 9(2):161-170(2003).
- Selçuk F., Hüseyin E., Bulbul A.S., *Second Record of Ramularia hypericicola – Collected in Turkey on a New Host*. Mycotaxon, 119:369-372(2012a).
- Selçuk F., Hüseyin E., Gündoğan T., Özkan E., *Microfungi of Genus Phyllosticta Pers. Determined in Turkey Ecosystems*. Ekoloji 2012 Sempozyumu, 03–05 Mayıs 2012, Kilis 7 Aralık Üniversitesi, s.184, Kilis(2012b).
- Selçuk F., Hüseyin E., Şahin A., Cebeci C.C., *Hyphomycetous Fungi in Several Forest Ecosystems of Black Sea Provinces of Turkey*. Mycosphere, 5:334-344(2014).
- Streets R.B., *The Diagnosis of Plant Diseases*, The University of Arizona Press, Tucson(1984).
- Tamer A.Ü., Altan Y., Gücin F., *Gülveren köyü (Erzurum-Şankaya) florasında belirlenen bazı parazit funguslar*, Anadolu Üniversitesi Fen Edeb. Fakültesi Dergisi, 1:45-55(1989).
- Tamer A.Ü., Altan Y., Gücin F. *Some parasitic fungi determined in flora of East Anatolian region*, Turkish Journal of Botany, 14(2):83-86(1990).
- Tamer A.Ü., Gücin F., Altan Y., *Some parasitic fungi determined in plants living in Pütürge district of Malatya*, XVIII. Biological Congress, Botanical information, Ege Univ. Pres., 2:202-217, İzmir(1987).
- Tamer A.Ü., Şahin N., Uğurlu E., *Türkiye'de belirlenen pas mantarları*, XIV. Ulusal Biyoloji Kongresi, 1:395-408, Samsun(1998).
- Url.1: <http://www.indexfungorum.org>. Accessed 21 March 2018.
- Vasighzadeh A., Zafari D., Selçuk F., Hüseyin E., Kurşat M., Lutz M., Piątek M., *Discovery of Thecaphora schwarzmaniana on Rheum ribes in Iran and Turkey: Implications for The Diversity and Phylogeny of Leaf Smut on Rhubarbs*. Mycol Progress, 13:881-892(2014).



Geliş(Received) :12/05/2018
Kabul(Accepted) :12/06/2018

Research Article
Doi:10.30708/mantar.423138

***Suillus lakei*, An Interesting Record For Turkish Mycobiota**

Ilgaz AKATA*¹, Hasan Hüseyin DOĞAN²,
Öyküm ÖZTÜRK³, Fuat BOZOK⁴

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

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

²SelçukUniversity, Faculty of Science, Department of Biology, Konya, Turkey

³Hacettepe University, Faculty of Science, Department of Biology, Ankara, Turkey

⁴Osmaniye Korkut Ata University, Faculty of Science, Department of Biology, Osmaniye, Turkey

Abstract: In this study, *Suillus lakei* (Murrill) A.H. Sm. & Thiers) was reported for the first time from Turkey. This species is characterized by its ectomycorrhizal features and the occurrence under *Pseudotsuga menziesii* (Douglas fir). Besides conventional identification methods, molecular methods (ITS rDNA) were also used and results were uploaded to GenBank. According to the Genbank results, our species shows 99% similarity to other data related to *Suillus lakei*. A short description with molecular analysis were given in the text and the results discussed briefly.

Key words: *Suillus lakei*, Douglas fir, ITs, new record, Turkey

***Suillus lakei*, Türkiye Mikobiyotası İçin İlginç Bir Kayıt**

Öz: Bu çalışmada, *Suillus lakei* (Murrill) A.H. Sm. & Thiers Türkiye'den ilk defa rapor edilmiştir. Bu tür, ektomikorhizal özellikleri ve *Pseudotsuga menziesii* (Douglas göknarı) altında yayılış göstermesi ile karakterize edilir. Geleneksel tanımlama yöntemlerinin yanı sıra moleküler yöntemler de (ITS rDNA) kullanılmış ve sonuçlar GenBank'a yüklenmiştir. Genbank sonuçlarına göre, örneklerimiz *Suillus lakei* ile ilgili diğer verilere %99 benzerlik göstermektedir. Metinde moleküler analizlerle birlikte kısa bir tanımlama verilmiş ve sonuçlar kısaca tartışılmıştır.

Anahtar kelimeler: *Suillus lakei*, Douglas göknarı, ITs, yeni kayıt, Türkiye

Introduction

Suillus includes approximately 50 species that form ectomycorrhizal relations mainly with Pine trees (Kirk et al., 2008). Even though *Suillus* members are mostly distributed in northern temperate regions, some of them have also been reported in southern hemisphere (Sarwar and Khalid, 2014).

Suillus lakei, commonly known as The Western Painted Suillus, forms ectomycorrhizal associations with Douglas fir and its fructifications could easily be observed on the ground in summer and autumn (Szczepekowski and Olenderek, 2017). The species is characterized by its dry, dark red to reddish-brown, fibrillose or scaly pileus, dingy yellow to ochre pores discolouring reddish brown when bruised, equal to slightly clavate, firm and solid stipe usually with veil (Arora, 1986).

According to checklist on Turkish macrofungi (Sesli and Denchev, 2008), 11 *Suillus* species (*S. bellinii* (Inzenga

Kuntze, *S. boudieri* (Quél.) Kuntze, *S. bovinus* (L.) Roussel, *S. collinitus* (Fr.) Kuntze, *S. flavidus* (Fr.) J. Presl, *S. granulatus* (L.) Roussel, *S. grevillei* (Klotzsch) Singer, *S. luteus* (L.) Roussel, *S. placidus* (Bonord.) Singer, *S. spraguei* (Berk. & M.A.Curtis) Kuntze and *S. variegatus* (Sw.) Richon & Roze) have thus far been reported from Turkey. But there is no record of *S. lakei* for Turkish mycobiota.

The aim of this study is to make a contribution to the Turkish mycobiota.

Materials and methods

Morphological study

Suillus samples were collected from İstanbul and Kocaeli provinces between 2014 and 2015. During field studies,



macroscopic and ecological characteristics were noted and they were photographed in their natural habitats. In the herbarium, macroscopic and microscopic investigations and micro-chemical reactions were carried out. Reagents such as melzer's reagent, 5% KOH, 10% NH₄OH, H₂SO₄, congo red etc. were used. Identification was performed according to the current literature (Assyov et al., 2006; Barroetaveña, 2007; Lavorato, 1999; Myra and Grace, 1986; Zahradka, 2005). Identified samples were kept in Mushroom Application and Research Centre Fungarium, Selçuk University.

Molecular study

Total genomic DNA isolation was carried out from dried samples by following the procedures of Eurx Genematrix Plant & Fungi DNA Purification Kit with small modifications. ITS1F-ITS4R primers were used for the amplification of ITS rDNA region (White et al., 1990). PCR conditions were set as follows: 94°C for 5 min, followed by 30 cycles of 30s at 94°C, 45s at 53°C, 60s at 72°C and a final extension of 10 min at 72°C. PCR amplifications were verified by electrophoresis on a 1.5% agarose gel. DNA sequence analyses of successful amplifications were performed by BMLabosis. Maximum Likelihood (ML) and Maximum Parsimony (MP) phylogenetic trees were drawn in MEGA7.0 by aligning the sequences in Sequencher version 5.4.5 (Gene Codes, Ann Arbor, MI).

Results

Suillaceae Besl & Bresinsky

Suillus lakei (Murrill) A.H. Sm. & Thiers (1964), (Figure 1,2).

Syn.: *Boletinus lakei* (Murrill) Singer (1945), *Boletinus lakei* subsp. *landkammeri* (Pilát & Svrček) Pilát & Dermek (1974), *Boletinus landkammeri* (Pilát & Svrček) Bon (1986), *Boletus lakei* Murrill (1912), *Boletus tridentinus* subsp. *landkammeri* Pilát & Svrček (1949), *Ixocomus lakei* (Murrill) Singer (1942), *Suillus lakei* var. *calabrus* Lavorato (2000), *Suillus lakei* var. *landkammeri* (Pilát & Svrček) H. Engel & Klofac (1996), *Suillus lakei* var. *pseudopictus* A.H. Sm. & Thiers (1964).

Macroscopic features

Pileus 70-110 mm across, broadly convex at first, later plane, margin incurved and often with veil remnants, surface fibrillose to scaly, reddish-brown to pinkish-brown on a yellowish to dingy orange background. **Tubes** adnate to decurrent, yellow to dingy yellow. **Pores** angular, yellow when young, later dingy yellow to ochre, discolouring reddish brown to brownish when bruised (Figure 1). **Stipe** 40-70 × 10-20 mm, cylindrical to clavate, solid, firm, yellow at apex, with reddish-brown fibrils on lower part. **Flesh** thick, yellow, discolouring pinkish-red when bruised, **Odour** and **taste** not distinctive. **Veil** thin, membranous white to pale yellow.

Microscopic features

Basidia 25-30 × 9-10 µm, clavate, 2 to 4 spored (Figure 2a). **Spores** 8-9 × 3-4 µm, elliptic to subfusiform, thick-walled and smooth (Figure 2b). **Pleurocystidia** 40-60 × 9-10 µm, abundant to numerous and subclavate (Figure 3c,d). **Cheilocystidia** similar to pleurocystidia. **Caulocystidia** 70-80 × 10-14 µm, cylindrical to subclavate (Figure 2e). **Pileipellis** interwoven, floccose, homogenous, terminal cells 6-12 µm broad (Figure 2f).

Ecology: Summer to autumn, on poor and exposed soil associated with Douglas fir (Arora, 1986).

Distribution: Reported in Europe (Bosna and Herzegovina, Bulgaria, Denmark, England, Germany, Hungary, Italy, Poland, Slovakia and The Czech Republic.), America (Argentina, Chile and USA) and New Zealand (Assyov et al., 2006; Barroetaveña, 2007; Lavorato, 1999; Myra and Grace, 1986; Valenzuela and Esteve-Raventos, 1999; Vasas and Albert, 1990).

Material examined: TURKEY—Istanbul: Belgrad Forest, Atatürk Arboretum, under *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco (planted Douglas fir), 41°10'N - 28°59'E, 130m, 27.09.2015, AKATA 6278; Kocaeli: Maşukiye, Sisliyadi, under (planted Douglas fir), 40°39'N-30°07'E, 1200m, 25.10.2014, HHDOĞAN 15048.

Phylogenetic affiliation

Maximum Likelihood (ML) and Maximum Parsimony (MP) analyses

The evolutionary history was inferred by using the Maximum Likelihood and Maximum Parsimony methods (Figure 3). 35 nucleotide sequences were used for the analyses. The highest log likelihood of the tree was -1702.74 and length of 6 most parsimonious trees was 207. The consistency, the retention and the composite indexes were 0.670968, 0.894191 and 0.673883 for all sites and parsimony-informative sites, respectively. The percentage of trees was shown next to the branches. All positions containing gaps and missing data were eliminated. In the final dataset, there were a total of 440 positions. Shared branch length (SBL) and Transitions/Transversions (Ts/Tv) values were 0.51578639 and 1.6630, respectively. The average values for bases T, C, A and G (%) of sequences which used in the phylogenetic tree were 27.7, 23.7, 22.3 and 26.3, respectively (Table 1).

Discussion

Suillus lakei could be confused with *S. caerulescens* A.H. Sm. & Thiers and *S. ponderosus* A.H. Sm. & Thiers in terms of morphology and ecology. *S. lakei*, *S. caerulescens* and *S. ponderosus* are ectomycorrhizal with Douglas fir, while *S. imitatus* grows in mixed conifer forest, commonly associate with spruce. *S. caerulescens* differs from *S. lakei* by its more orangish pileus and slightly shorter spores.

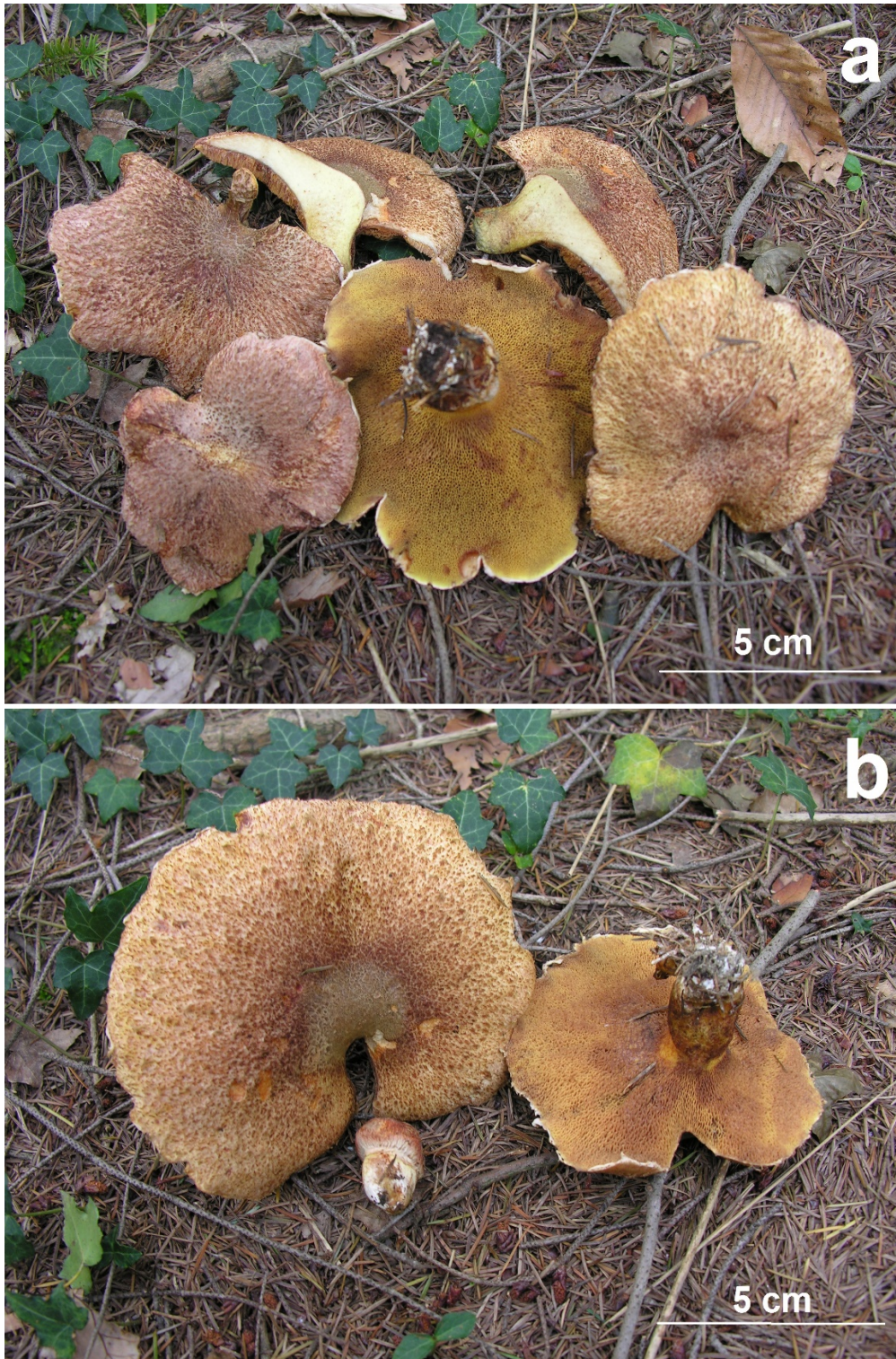


Figure 1. *Suillus lakei*: a, b-basidiomata.

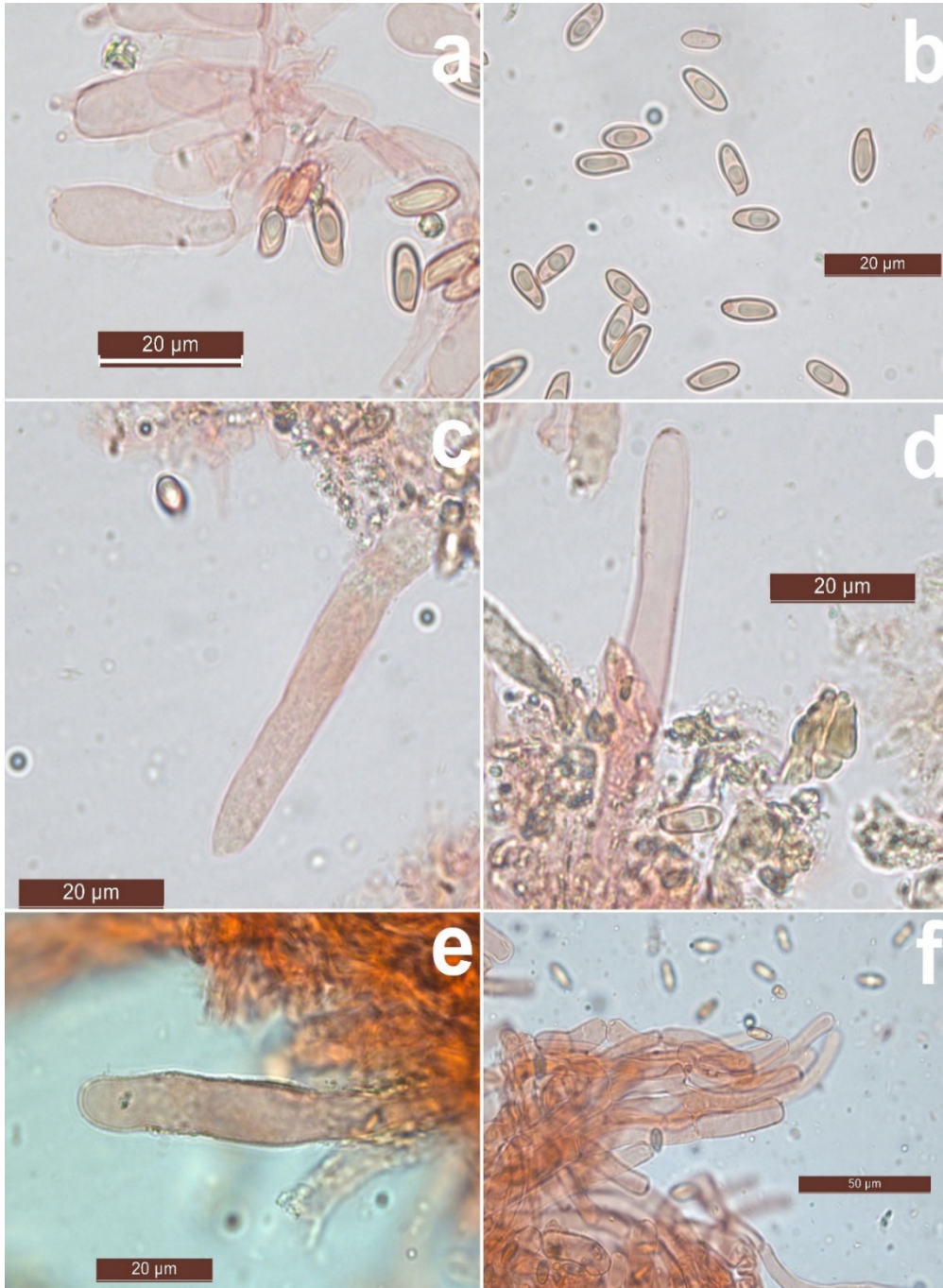


Figure 2. *Suillus lakei*: a-basidia. b-spores. c, d- pleurocystidium. e- caulocystidium. f- pileipellis

**Table 1.** Taxa, their accession number and T, C, A, G bases percentages (%) obtained from Genbank

Taxon	Location	T	C	A	G	Sequence Length (bp)	ITS Genbank Accession
<i>Rhizopogon luteolus</i>	UK	32.1	18.6	25.9	23.4	791	JQ888192
<i>Suillus tridentinus</i>	Germany	28.0	23.9	21.6	26.6	644	L54082
<i>Suillus tridentinus</i>	Italy	27.9	24.6	20.9	26.6	632	GU181836
<i>Suillus grisellus</i>	USA	27.7	23.7	22.7	25.9	679	KX230585
<i>Suillus grisellus</i>	USA	27.7	23.8	22.6	25.9	668	KX213732
<i>Suillus laricinus</i>	Not available	26.5	23.7	23.9	25.9	811	LC029032
<i>Suillus viscidus</i>	Korean	27.6	24.0	22.3	26.1	637	KJ415106
<i>Suillus elbenis</i>	USA	27.6	23.2	22.4	26.8	608	KX230646
<i>Suillus elbenis</i>	USA	27.4	23.2	22.5	26.9	609	KX230588
<i>Suillus viscidus</i>	Italy	27.6	24.8	21.3	26.3	456	JF908727
<i>Suillus viscidus</i>	Not available	28.2	24.3	21.4	26.2	544	JF908723
<i>Suillus cf. laricinus</i>	Nepal	28.1	24.3	21.6	26.0	643	L54120
<i>Suillus lariciphilus</i>	India	28.4	25.2	20.7	25.7	580	KJ778009
<i>Suillus clintonianus</i>	USA	28.0	22.8	22.8	26.4	711	KX230616
<i>Suillus clintonianus</i>	USA	27.7	23.0	22.8	26.5	710	KX230615
<i>Suillus grevillei</i>	Potugal	27.8	23.4	22.1	26.7	693	HM347659
<i>Suillus grevillei</i>	Sweden	27.4	23.1	21.8	27.7	628	EF493260
<i>Suillus cavipes</i>	USA	26.9	24.6	21.7	26.8	647	L54119
<i>Suillus cavipes</i>	Not available	26.1	23.9	23.2	26.9	830	JF899572
<i>Suillus cavipes</i>	China	27.2	24.1	22.9	25.8	717	AF166506
<i>Suillus cavipes</i>	China	26.6	24.0	22.9	26.5	721	AF166505
<i>Suillus asiaticus</i>	Finland	27.3	25.3	21.3	26.1	630	L54090
<i>Suillus asiaticus</i>	China	26.8	24.2	22.7	26.4	724	AF166504
<i>Suillus ponderorus</i>	USA	26.7	24.0	22.7	26.7	724	JQ958326
<i>Suillus ponderorus</i>	USA	26.5	23.9	22.9	26.7	716	JQ958325
<i>Suillus caerulescens</i>	USA	27.8	24.8	21.2	26.2	641	KX213728
<i>Suillus caerulescens</i>	USA	27.9	23.9	21.6	26.7	524	JQ958310
<i>Suillus lakei</i>	USA	27.4	23.7	22.3	26.5	679	KX213727
<i>Suillus lakei</i>	USA	27.6	24.1	21.8	26.5	675	KX230607
<i>Suillus lakei</i>	USA	27.1	23.9	21.9	27.0	691	DQ365643
<i>Suillus lakei</i>	USA	27.7	23.9	21.8	26.6	675	KX230593
<i>Suillus lakei</i>	USA	27.4	24.1	21.9	26.5	677	KX230610
<i>Suillus lakei</i>	USA	27.5	24.1	21.9	26.5	677	KX213757

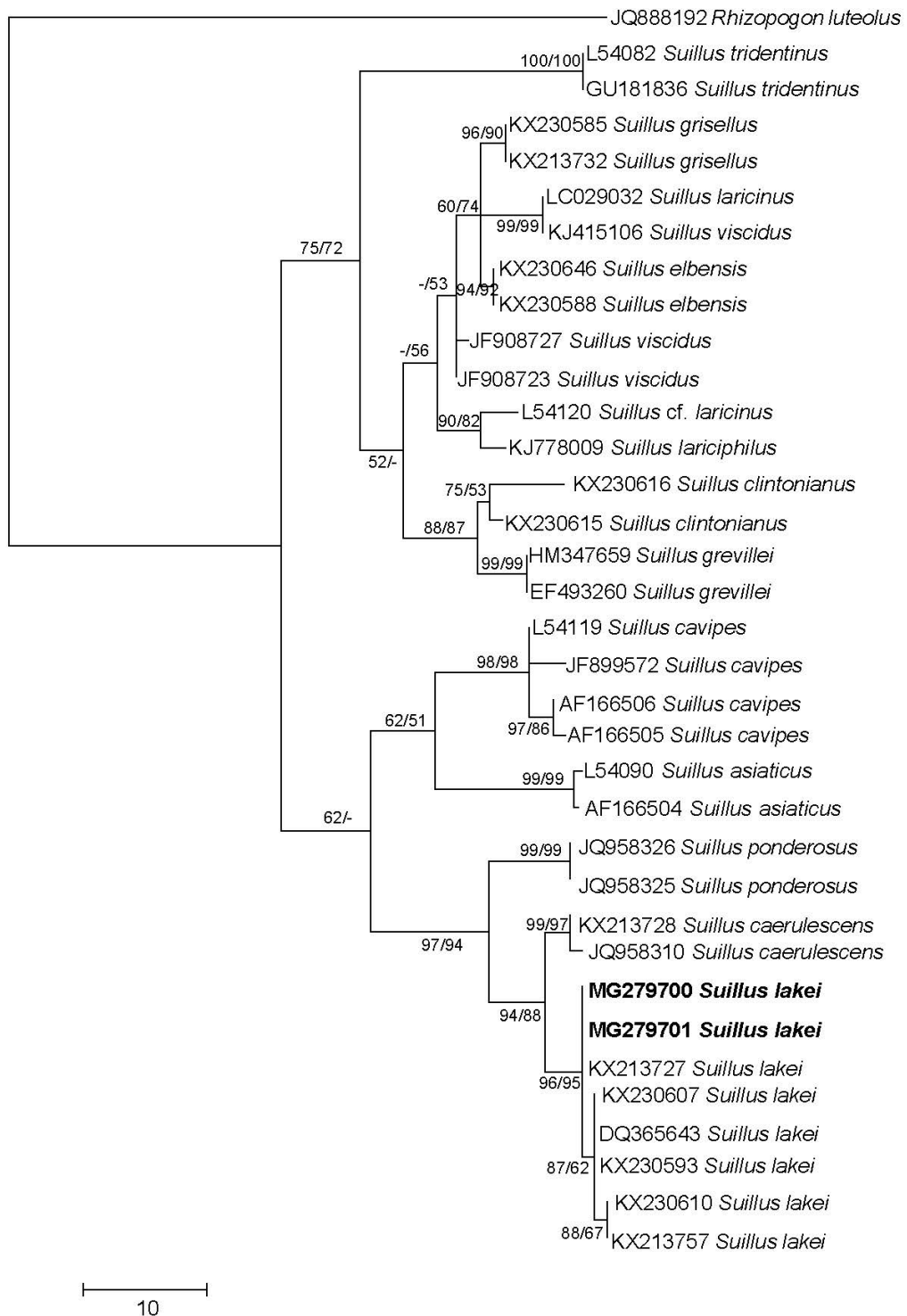


Figure 3. ITS Maximum Parsimony (MP) Tree of *Suillus lakei* in this study and other *Suillus* species in *Suillaceae* family selected from GenBank. *Rhizopogon luteolus* was used as outgroup. Support values (MP/ML bootstrap percentages) were shown next to the branches. The percentages >50% were shown. *Suillus lakei* sequences in the present study were shown as bold in the phylogenetic tree.



When the Genbank database was searched, there were 17 sequences (14 ITS and one atp6, SSU and LSU for each) in total for *S. lakei*.

In this study, 2 new ITS rDNA sequences belong to *S. lakei* were added to the Genbak database. When the ITS rDNA gene sequences of *S. lakei* samples collected from different regions of Turkey (Istanbul and Kocaeli) were compared with the sequences of samples in the Genbank database, it showed 99% similarity with ITS rDNA gene sequences of samples from California and

Colorado (USA) (Accession no KX213727, KX213727, KX230607, DQ365643, KX230593, KX230610, KX213757).

Acknowledgements

We would like to thank The Scientific and Technological Research Council of Turkey (TUBITAK, TBAG 112T136) and Ankara University Research Funding Unit (Project no: 15H0430001) for their financial support.

References

- Arora D. Mushrooms Demystified. Berkeley, CA, Ten Speed Press(1986).
- Assyov B., Stoichev G., Vassilev R., First records of mushroom species for Bulgaria", *Mycologia Balcanica*, (3):127-30(2006).
- Barroetaveña C., Cázares, E., Rajchenberg M., Ectomycorrhizal fungi associated with ponderosa pine and Douglas-fir: a comparison of species richness in native western North American forests and Patagonian plantations from Argentina, *Mycorrhiza*, 17(5):355-73(2007).
- Kirk P., Cannon P.F., Minter D.W., Stalpers J.A., *Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi*, 10th edn, CAB International, Wallingford, UK(2008).
- Lavorato C., *Suillus nordamericanus* presenti in Calabria, *Pagine di Micologia*, 12:31-49(1999).
- Myra C.C., Grace L.J, Mycorrhizal fungi of *Pseudotsuga menziesii* in the south island of New Zealand, *Soil Biology and Biochemistry* 19(3):243-246(1986).
- Nguyen N.H., Kerekes J.F., Vellinga E.C., Bruns T.D., Synonymy of *Suillus imitatus*, the imitator of two species within the *S. caerulescens/ponderosus* complex, *Mycotaxon*, 122: 389-398(2012).
- Sarwar S., Khalid AN., Diversity and Phylogeny of *Suillus* (Suillaceae; Boletales; Basidiomycota) from Coniferous Forests of Pakistan, *International Journal of Agriculture and Biology*, 16:489-497(2014).
- Sesli E., Denchev C.M., Checklists of the myxomycetes, larger ascomycetes, and larger basidiomycetes in Turkey. *Mycotaxon*, 106:65-67(2008).
- Szczepkowski A., Olenderek T., *Suillus lakei* (Murrill) A. H. Sm. & Thiers (Boletales, Basidiomycota) in Poland: new data, *Acta Mycologica*, 52(in press)(2017).
- Valenzuela E., Esteve-Raventos, F., Algunos Agaricales s.l. aloctonos asociados a especies arreas exóticas cultivadas en la decima region en Chile, *Boletín Micológico*, 14(1/2): 73-81(1999).
- Vasas G., Albert L., Interesting fungi from Hungary II. Basidiomycetes, Agaricales, *Annales Historico-Naturales Musei Nationalis Hungarici*, 82: 61–64(1990).
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S., Taylor, J., Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics. In: Innis, M.A., Gelfand, D.H., Shinsky, J.J. and White, T.J., Eds., *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*, Academic Press, Inc., New York, 315-322(1990).
- Zahradka, F., Hrib douglaskovy - *Boletinus lakei* v okolí Dubnan u Hodonina, *Mykologický Sborník*, 82(1): 28-29(2005).



Geliş(Received) :16/04/2018
Kabul(Accepted) :25/06/2018

Derleme
Doi:10.30708/mantar.415589

Mantarlardan Elde Edilen Alkaloitler

Büşra FENDOĞLU¹, Ayşe KURUÜZÜM-UZ¹, Didem ŞÖHRETOĞLU*¹

Sorumlu yazar: didems@hacettepe.edu.tr

¹Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı, Ankara, 06100

Öz: Mantarlar (makrofunguslar) besin kaynağı ve ilaç olarak özellikle Doğu Asya'da yüzyıllardır diyetin bir parçasıdır. Son zamanlarda üzerlerinde yapılan çalışmaların sayısının artması nedeniyle mantarların ve ekstralarının tıbbi amaçla kullanımı daha popüler hale gelmiştir. Mantarlar çoğunlukla polisakkaritler, terpenler ve steroller taşımaktadır. Alkaloitler çok düşük dozlarda bile biyoaktif etki gösterirler ve genellikle Angiospermlerde bulunurlar. Bu grup bileşiklerin makrofunguslarda bulunuşları oldukça sınırlıdır ve haklarında polisakkaritler ya da terpenler gibi diğer bileşiklerin mantarlarda yayılışları kadar detaylı bilgi yoktur. Bu derlemede, mantarlarda bulunan alkaloitlerin dağılımı ve biyoaktivitelerine odaklandık.

Anahtar kelimeler: makrofungus, alkaloit, Mycena, psilosibin, erinaserin, piriferin

Alkaloids from Mushrooms

Abstract: Mushrooms (macrofungi) are a part of the human diet as a source of both food and medicine for centuries especially in East-Asia. The use of mushrooms and their extracts for medicinal purposes became more popular due to increasing number of research conducting on them recently. They predominantly contain polysaccharides, terpenes and sterols. Alkaloids exhibits bioactive effects even in very small doses and mainly distributed in Angiosperms. Their occurrences in macrofungi is very limited and not very-well documented as much as other constituents like polysaccharides or terpenes. In this review, we focused on distribution and bioactivities of mushroom alkaloids.

Key words: macrofungi, alkaloid, Mycena, psilocybin, erinacerin, pyriferine

Giriş

Alkaloitler, doğal kaynaklardan elde edilen, çok düşük dozlarda kuvvetli fizyolojik ve farmakodinamik etki gösterebilen, aminoasitlerden türeyen, genellikle halka içinde bir veya daha fazla azot atomu taşıyan, az veya çok bazik özellikteki maddelerdir. Doğada genellikle tuz halinde bulunan bu maddelere gerçek alkaloitler adı verilirken, aminoasit türevi olmayanlara psödoalkaloit, azot atomu heterosiklik halkanın parçası olmayanlara ise protoalkaloit adı verilir. Alkaloitler, esas olarak Angiospermlerde bulunurken mantarlar, Pteridophytalar ve bakterilerde de nadir olarak bulunmaktadır (Dewick, 2002; Heinrich ve ark., 2012).

Mantarlar, hem besin kaynağı olarak hem de geleneksel tedavide önemli bir role sahiptir. Özellikle Asya kültüründe daha çok türde mantar yaygın olarak kullanılır. Milattan önce 20-250 yılları arasında yazılan Çin 'Materia Medica' sında bazı mantarların tıbbi özellikleri ve kullanımları anlatılmaktadır (Wachtel-Galor, 2011).

Son yıllarda mantarların ya da ekstralarının kullanımı, üzerlerinde yapılan bilimsel çalışmaların sayılarının artması ile çok daha popüler hale gelmiştir. Mantarların antitümoral, anti-enflamatuvar, antifungal, antimikrobiyal ve antiviral gibi çeşitli etkilerinden sorumlu olan polisakkaritler, lektinler, lanostanoitler ve diğer terpenoitler, steroller, fenolik bileşikler ve alkaloitler taşıdıkları bilinmektedir (Sullivan ve ark., 2006; Öztürk ve ark., 2015; Şöhretoğlu ve Huang, 2018; Wasser, 2011). Ayrıca mantarlardan elde edilen bileşikler yeni farmasötik ürünler ve ilaçların üretilmesinde öncü bileşikler olarak kullanılmaktadır (Homer ve Sperry, 2017). Mantarlardan elde edilen polisakkaritler ve terpenlerle ilgili birçok araştırma bulunurken, alkaloitlerle ilgili bilgilerin oldukça sınırlı olması nedeniyle bu derlemede mantarlardan elde edilen bazı alkaloitlerin daha detaylı olarak sunulması hedeflenmiştir.



Bulgular Pirolokinolin Alkaloitleri

Pirolokinolinin alkaloitleri kara canlılarında nadir bulunurken, deniz canlılarında yaygın olarak bulunmaktadır. Son yıllarda mantarlardan da bu iskelete sahip alkaloitlerin izole edildiğine dair çalışmalar görülmektedir. *Mycena rosea* (Bull.) (*Mycenaceae*), *M. sanguinolenta* (Alb. & Schw.: Fr.) Kummer, *M. haematopus* (Pers.: Fr.) P. Kumm., *M. pelianthina* (Fr.) Quél olmak üzere değişik *Mycena* türlerinden pirolokinolin alkaloitleri izole edilmiştir (Tablo 1) (Antunes ve ark., 2005; Peters ve Spiteller, 2007a; b; Peters ve ark., 2008; Pulte ve ark., 2016). Bu alkaloitler kırmızı veya mavi renklidir ve *Mycena* türlerine renklerini vermektedirler. Deniz kaynaklarından izole edilen pirolokinolin alkaloitlerinin aksine, *Mycena* türlerinden elde edilen pirolokinolin alkaloitleri genellikle C-4'de bir karboksil grubuna sahiptir, bu karboksil grubunun varlığı L-triptofan, S-adenosilmetionin ve histidinden hareketle meydana gelen biyosentez hipotezlerini güçlendirmektedir (Peters, 2007, Peters ve Jaeger, 2008).

M. rosea'dan izole edilen mycenarubin B doğadan ilk defa izole edilen dimerik yapıda bir piroloizokinolin alkaloiti olması nedeniyle önemlidir (Peters ve Spiteller, 2007a). *M. haematopus* ve *M. sanguinolenta* (Alb. & Schw.: Fr.) Avrupa ve Kuzey Amerika'nın köknar ve kayın ormanlarında yaygın olarak bulunan küçük mantarlardır. Kesildiklerinde ya da ezildiklerinde sızdırdığı karakteristik kırmızı lateksleri sayesinde kolayca ayırt edilebilirler. *M. pelianthina* ise yine, Avrupa ve Kuzey Amerika ormanlarında yaygın olarak bulunmaktadır ve morumsu küçük bir mantar olup turp benzeri kokuya sahiptir. *M. haematopus*'tan izole edilen mycenarubin D, E, F ve haematopodin B kırmızı renklidir. *M. sanguinolenta*'dan izole edilen sanguinon A ve B mavi renklidir, indolokinon tip bir alkaloit olan sanguinolentakinon ise kırmızı renklidir (Peters ve Spiteller, 2007b; Peters ve ark., 2008; Pulte ve ark., 2016)(Şekil 1). Bu mantardan izole edilen üç yeni alkaloitin, pelianthinarubin A ve B, ve mycenarubin A üzerinde yapılan çalışmalarda *Escherichia coli*, *Bacillus brevis*, *Bacillus subtilis*, *Cladosporium cucumerinum* ve bir herbisit olan *Lepidium sativum*'a karşı etki göstermedikleri belirlenmiştir (Peters ve Spiteller, 2007a; Pulte ve ark., 2016).

Piriferin A-C

Pseudobaeospora (*Tricholomataceae*) türlerine ender rastlanır ve yalnızca Avrupa ve Kuzey Amerika'da yetişmektedirler. Genellikle nemli bölgelerde yetişirler. *Pseudobaeospora pyrifer* Bas & L. Kriegl's'nın, şapkası ve gövdesi pembe renklidir. *P. pyrifer*, KOH muamelesiyle yeşilimsi-maviden kahverengimsi-yeşil renge dönen karakteristik bir reaksiyonla teşhis edilebilir. Piriferin A, B ve C *P. pyrifer*'den izole edilerek ilk kez tanımlanmıştır(Şekil 2). Piriferin A ve B'nin 100 µM dozda sırasıyla %20 ve %7 oranında oldukça zayıf düzeyde

asetilkolinesteraz inhibisyonu yaptıkları belirlenmiştir (Quang ve ark., 2008).

Erinaserin 1-8

Hericium erinaceus (Bull.: Fr.) Pers. (*Hericiaceae*) özellikle Doğu Asya'da popüler olan, gıda amaçlı da kullanılan tıbbi bir mantar olarak bilinir. *H. erinaceus* ekstresi, hipoglisemik, antikanser, antienflamatuvar ve antidepresan gibi çeşitli farmakolojik etkilere sahiptir (Wang ve ark., 2015). Bu mantardan izole edilen terpenik bileşiklerin ve polisakkaritlerin antidepresan ve nöroprotektif, polisakkaritlerin ise antikanser ve immünstimülan etkiden sorumlu olduğu belirtilmektedir (Khan ve ark., 2013).

Hericium erinaceus'dan 8 yeni alkaloit (Erinaserin 1-8) izole edilmiştir(Şekil 3). Erinaserin 1-4, K562 insan kronik miyeloid lösemi hücre hattında sırasıyla 16,3, 18,2, 15,9, 11,4 µM IC₅₀ değerleriyle sitotoksikite gösterirken, aynı hücre hattında Adriamisin'in IC₅₀'si 0,6 µM olarak bulunmuştur. Adriamisine duyarsız K562 hücre hattında ise sırasıyla 98,7, 156,3, 162,7, 128,9 IC₅₀ değerleriyle pozitif kontrol adriamisin (IC₅₀= 62,5 µM) karşılaştırıldığında zayıf etki göstermişlerdir. Erinaserin 5-8, IC₅₀ değerleri sırasıyla 29,1, 42,1, 28,5 ve 24,9 µM bulunmuş ve sonuçlar pozitif kontrol sodyum vanadat ile kıyaslandığında (IC₅₀ 1,2 µM) zayıf protein tirozin fosfataz-1B (PTP1B) inhibitörü etki gösterdikleri görülmüştür. Aynı bileşikler sırasıyla IC₅₀ 12,7, 23,3, 19,5 ve 20,1 µM değerleriyle, IC₅₀ değeri 273,1 µM olan pozitif kontrol akarboza göre oldukça güçlü α-glukozidaz inhibitörü etki göstermişlerdir (Wang ve ark., 2015).

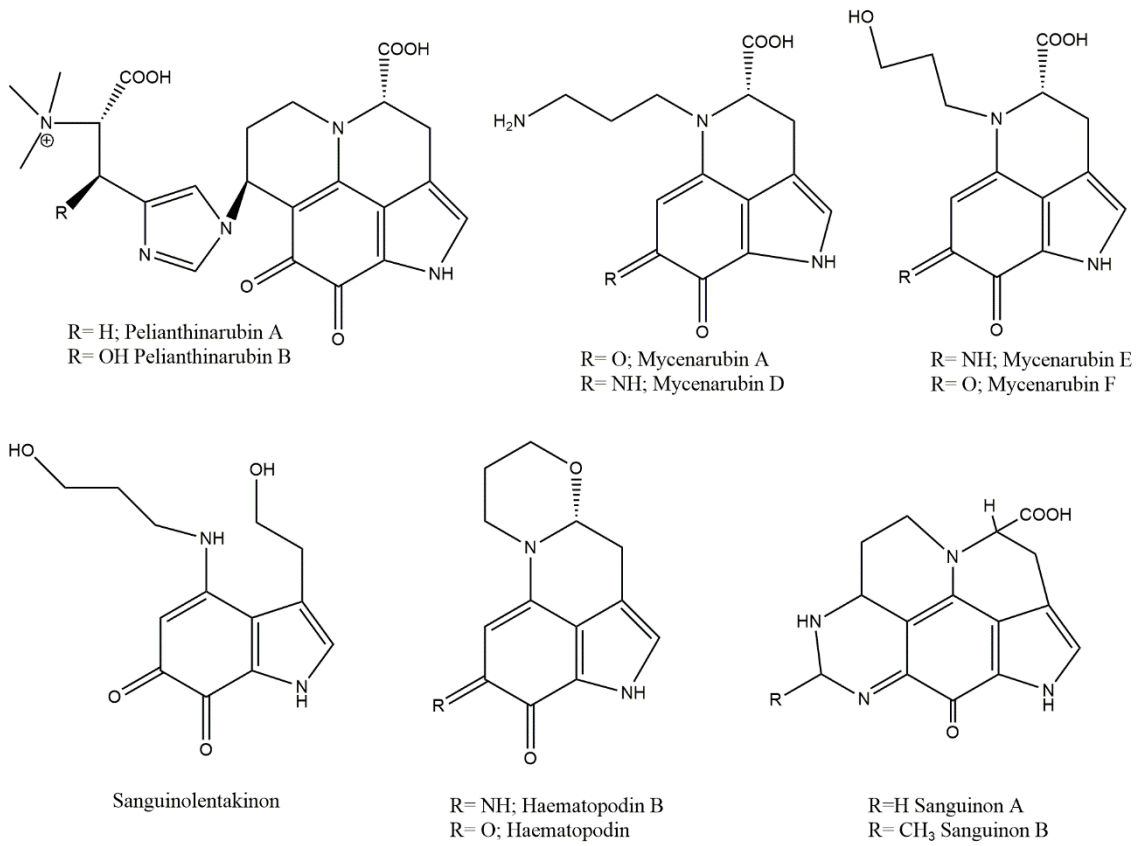
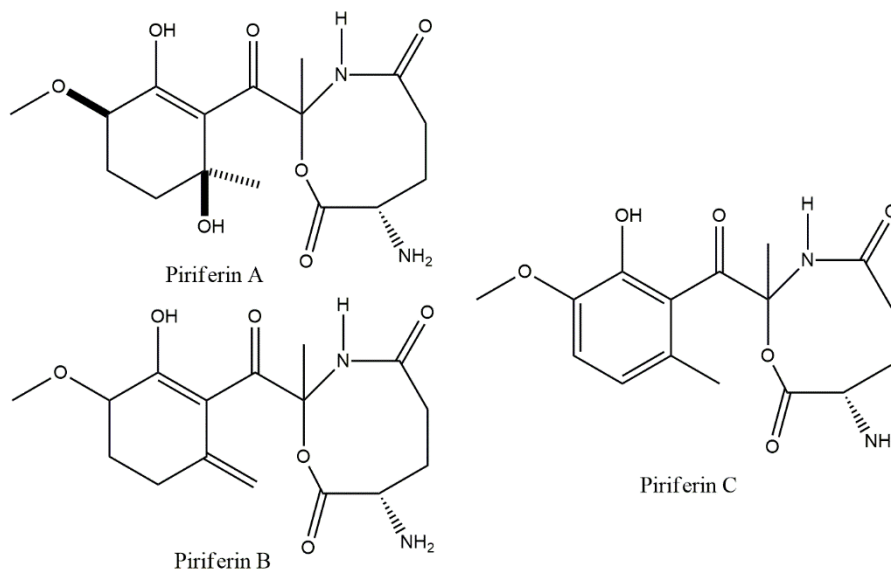
Psilosibin ve psilosin

Psilosibin ve psilosin mantarlardan elde edilen alkaloitler arasında en çok bilinen ve üzerinde en çok çalışılanlardır(Şekil 4).

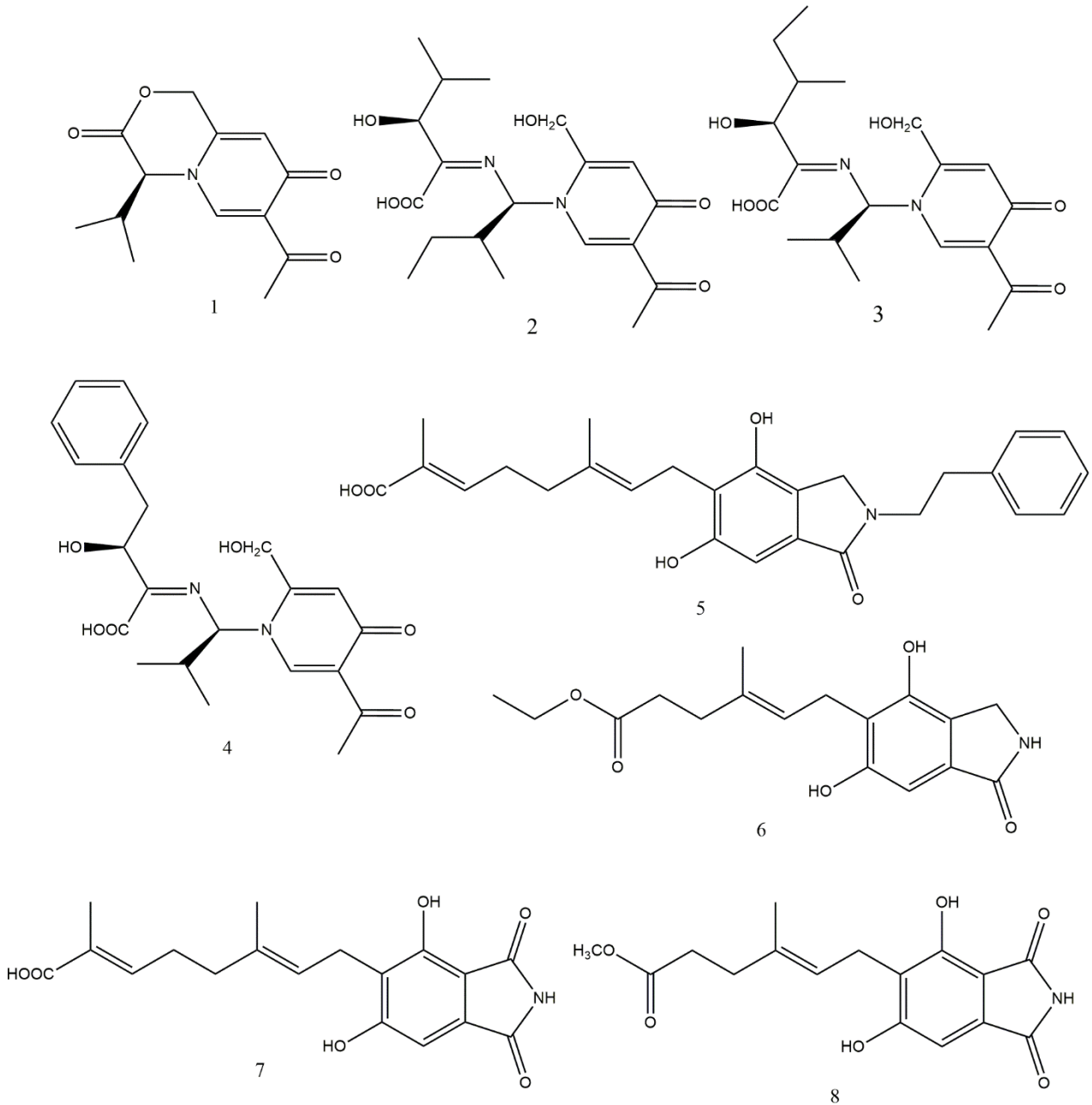
Halüsinojenik mantarların kullanımı çok eskidir ve Meksika'da 3000 yıl öncesine dayanmaktadır ve bugün hala geleneksel olarak kullanılmaktadır (Carod-Artal, 2015; Hofmann, 2005). Psilosibin ilk olarak *Psilocybe mexicana* (*Hymenogastraceae*)'dan 1958'de izole edilmiştir ve 1959'da Albert Hofmann tarafından sentezlenmiştir. 1960'larda psikoterapide kullanılmaya başlanmış daha sonra 1970 yılında ilaç olarak tasarlanmıştır (Nichols, 2004). Zamanla bu konudaki klinik araştırmalar azalmış, 1990'lı yılların sonlarından itibaren psilosibin ve diğer psikedeliklerle ilgili insanlar üzerindeki deneysel araştırmalara olan ilgi tekrar artmaya başlamıştır. Günümüzde, psilosibin daha güvenilir, orta-uzun süreli etki süresi ve oral uygulamalarda iyi absorpsiyonunun olması nedenleriyle insan çalışmalarında en çok kullanılan psikedeliklerden biridir (Hasler ve ark., 2004; Johnson ve ark., 2008).

Tablo 1: *Mycena* türlerinden elde edilen alkaloitler

Bileşik Adı	<i>Mycena rosea</i>	<i>Mycena sanguinolenta</i>	<i>Mycena haematopus</i>	<i>Mycena pelianthina</i>	Renk
Pelianthinarubin A				+	Kırmızı
				(Pulte,2016)	
Pelianthinarubin B				+	Kırmızı
				(Pulte,2016)	
Mycenarubin A	+	+	+	+	
	(Peters ve Spiteller, 2007a)	(Peters ve Spiteller, 2007b)	(Peters ve ark., 2008)	(Pulte,2016)	
Mycenarubin B	+		+		
	(Peters ve Spiteller, 2007a)		(Peters ve ark., 2008)		
Mycenarubin D			+	+	Kırmızı
			(Peters ve ark., 2008)	(Pulte, 2016)	
Mycenarubin E			+		Kırmızı
			(Peters ve ark., 2008)		
Mycenarubin F			+		Kırmızı
			(Peters ve ark., 2008)		
Sanguinolentakinon		+	+		Kırmızı
		(Peters ve Spiteller, 2007b)	(Peters ve ark., 2008)		
Haematopodin			+		
			(Peters ve ark., 2008)		
Haematopodin B			+		Kırmızı
			(Peters ve ark., 2008)		
Sanguinon A		+			Mavi
		(Peters ve Spiteller, 2007b)			
Sanguinon B		+			Mavi
		(Peters ve Spiteller, 2007b)			

Şekil 1. *Mycena* türlerinden elde edilen alkaloidler

Şekil 2. Piriferin A-C

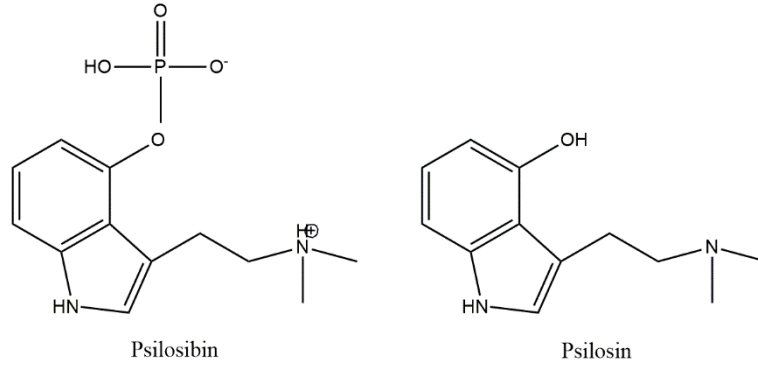


Şekil 3. Erinaserin 1-8

Psilosibin ve psilosin birçok halüsinojenik mantar tarafından sentezlenir. Bu mantarlar, "Sihirli Mantarlar" olarak da isimlendirilmektedir. *Psilocybe*, *Gymnopilus*, *Inocybe*, *Copelandia*, *Panaeolus*, *Conocybe*, *Pluteus* bu cinslerin başında gelir. Özellikle *Psilocybe* türlerinde yüksek oranda bulunur, bu oran %1.8' e kadar çıkabilir (Tyls ve ark., 2014).

Psilosibin, intestinal mukozada alkalın fosfataz ve non-spesifik esteraz ile hızla aktif metaboliti olan

defosforillenmiş psilosin haline gelir. Psilosibin, triptamin/indolamin türevi olup yapısal olarak nörotransmitter serotonine benzerdir. Serotonerjik sistemde özellikle serotonin 5HT_{2A/C} ve 5HT_{1A} resöptörleriyle agonist etkileşerek halüsinojenik etki gösterir. Bu etkinin, 4. pozisyonda bulunan indol çekirdeğinden ileri geldiği düşünülmektedir (Nichols, 2004).

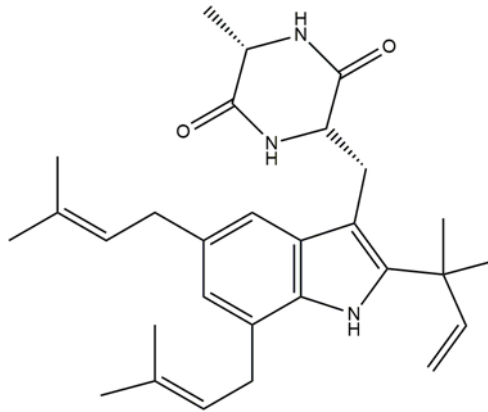


Şekil 4. Psilosibin ve psilosin

Psilosibin, güçlü terapötik etkiye sahiptir. Psikolojik terapide düşük doz verilir ve etkileri tedavi boyunca takip ve analiz edilir. Son yıllardaki hayvan ve insan çalışmalarından elde edilen veriler doğrultusunda, psilosibinin çeşitli psikiyatrik ve nörolojik bozuklukların tedavisinde potansiyel terapötik kullanımı önerilmektedir. Yapılan klinik çalışmalarda özellikle kanserle ilişkili depresyonda ve alkolizm tedavisinde psilosibin kullanımının etkili olduğu gösterilmiştir. (Grob ve ark., 2011; Griffiths ve ark., 2016; Ross ve ark., 2016; Tyls ve ark., 2014; Bogenschutz ve ark., 2015; Bogenschutz ve Ross, 2017).

Ekinulin

Güney Amerika'da yetişen tıbbi bir mantar olan *Lentinus strigellus* Berk'in (*Polyporaceae*), çeşitli kültürlerinden triptofan türevi diketopiperazin yapısında olan bir alkaloid olan ekinulin izole edilmiştir (Barros-Fihlo, 2012)(Şekil 5). Ekinulin, *Mycobacterium tuberculosis* H37Ra'ya (MIC değeri 169.92 µM) karşı etkili ve HeLa hücreleri üzerinde de sitotoksik etkili bulunmuştur (Slack, 2009; Kanokmedhakul ve ark., 2002).

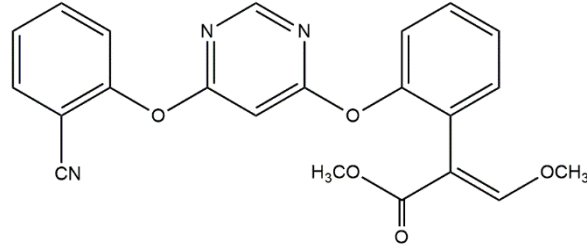


Şekil 5. Ekinulin

Azoksistrobin

Strobilurin A-H, *Strobilurus tenacellus* (*Physalacriaceae*) ve diğer birçok mantar türünden izole edilen fungusidal aktivite gösteren bileşiklerdir (Sauter, 1999; Anke, 1977)(Şekil 6). Strobilurinlerin mitokondride

elektron transferini keserek fungusit etki göstermesi, tarım sektöründe yaygın kullanılan geniş spektrumlu alkaloid yapısındaki azoksistrobin molekülünün gelişmesine öncülük etmiştir (Sauter, 1999).

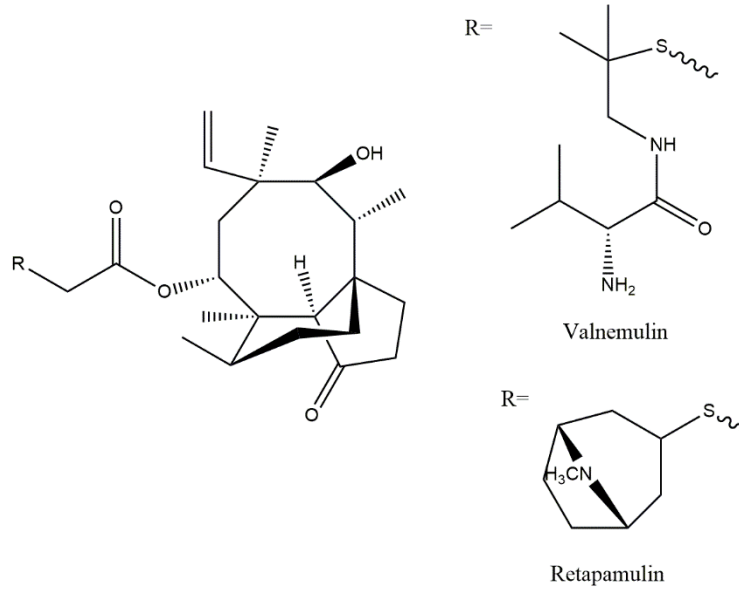


Şekil 6. Azoksistrobin

Valnemulin ve Retapamulin

Diterpen türevi olan Pleuromutilin, 1951 yılında *Pleurotus mutilus* (*Pleurotaceae*) ve *Clitopilus passeckerianus* (*Entolomataceae*) mantarlarından izole edilmiş, yapısı 1962'de tamamen aydınlatılmıştır (Novak, 2011, Liu ve ark., 2011; Kavanagh ve ark., 1951)(Şekil 7).

Bu bileşiğin güçlü antibiyotik etki göstermesi, yapıcı benzer veterinerlikte kullanılan valnemulinin; ayrıca insanlarda topikal kullanılan retapamulinin geliştirilmesine öncülük etmiştir (Jones ve ark., 2006; Poulsen ve ark., 2001).



Şekil 7. Valnemulin ve Retapamulin

Tartışma

Mantarlardan izole edildiği bilinen birçok alkaloid vardır. Bu bileşikler birçok yapısal farklılık ve ilgi çekici biyolojik aktivite göstermektedirler. Mantarların tıp alanında kullanılan indol alkaloidleri ve zirai kimyasallar ve farmasötik ürünlerin geliştirilmesinde ilham kaynağı olan biyoaktif sekonder metabolitler açısından zengin bir kaynak olduğu göz önünde bulundurulduğunda mantarlardan türetilen alkaloidlerin tıbbi kimya çalışmaları

için potansiyel öncü bileşikler olması umut vericidir. Ayrıca, alkaloidlerin çok düşük konsantrasyonlarda dahi etki göstermesi nedeniyle *Hericium erinaceus* gibi yaygın olarak kullanılan ancak alkaloidleri hakkında detaylı çalışma olmayan tıbbi mantarların olası toksisitesi göz önünde bulundurularak incelenmesi gerekmektedir. Bu yüzden mantarlar üzerinde ve elde edilen bileşiklerin biyolojik aktivitelerinin tayin edilmesinde ileri araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.



Kaynaklar

- Anke, T., Oberwinkler, F., Steglich, W., Schramm, G.J. *The Strobilurins -New Antifungal Antibiotics From The Basidiomycete Strobilurus tenacellus (Pers. Ex Fr.) Sing*, *Antibiotics*, 30(10)806–810(1977).
- Antunes, E. M., Copp, B.R., Davies-Coleman, M.T., Samaai, T., *Pyrruloiminoquinone and related metabolites from marine sponges*, *Nat. Prod. Rep.*, 22(1)62-72(2005).
- Barros-Fihlo, B.A., de Oliveira, M.C., Mafezoli, J.; Barbosa, F.G., Rodrigues-Filho, E., *Secondary metabolite production by the basidiomycete, Lentinus strigellus, under different culture conditions*, *Nat. Prod. Commun.*, 7(6)771–773(2012).
- Bogenschutz, M.P., Forcehimes, A.A., Pommy, J.A., Wilcox, C.E., Barbosa, P.C., Strassman, R.J., *Psilocybin-assisted treatment for alcohol dependence: a proof-of-concept study*, *J Psychopharmacol*, 29(3)289-299(2015).
- Bogenschutz M.P., Ross S., *Therapeutic Applications of Classic Hallucinogens*, *Curr Top Behav Neurosci*, (2017). doi: 10.1007/7854_2016_464.
- Carod-Artal, F.J., *Hallucinogenic drugs in pre-Columbian Mesoamerican cultures*, *Neurologia*, 30(1)42-9(2015).
- Chiu, C.H., Chyau, C.C., Chen, C.C., Lee, L.Y., Chen, W.P., Liu, J.L., Lin, W.H., Mong, M.C., *Erinacine A-Enriched Hericium erinaceus Mycelium Produces Antidepressant-Like Effects through Modulating BDNF/PI3K/Akt/GSK-3 β Signaling in Mice*, *Int. J. Mol. Sci.*, 19(2)341(2018).
- Dewick, P.M., *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach*, John Wiley & Sons Ltd., West Sussex(2002),
- Eyal, Z., Matzov, D., Krupkin, M., Paukner S., Riedl R., Rozenberg H., Zimmerman E., Bashan A., Yonath A., *A novel pleuromutilin antibacterial compound, its binding mode and selectivity mechanism*, *Sci. Rep.*, 6,1–8(2016).
- Griffiths, R.R., Johnson, M.W., Carducci, M.A., Umbricht, A., Richards, W.A., Richards, B.D., Cosimano, M.P., Klinedinst, M.A., *Psilocybin produces substantial and sustained decreases in depression and anxiety in patients with life-threatening cancer: A randomized double-blind trial*, *J. Psychopharmacol*, 30(12)1181-1197(2016).
- Grob, C.S., Danforth, A.L., Chopra, G.S., Hagerty, M., McKay, C.R., Halberstadt, A.L., Greer, G.R., *Pilot study of psilocybin treatment for anxiety in patients with advanced-stage cancer*, *Arch Gen Psychiatry.*, 68(1)71-78(2011).
- Heinrich, M., Barnes, J., Gibbons, S., Williamson, E., *Fundamentals of Pharmacognosy and Phytotherapy*, Second Ed., Elsevier, Livingstone(2012).
- Hellwig, V., Dasenbrock, J., Klostermeyer, D., Kroiß, S., Sindlinger, T., Spitteller, P., Steffan, B., Steglich, W., Engler-Lohr, M., Semar, S., Anke, T., *New benzodioxepin type strobilurins from basidiomycetes. Structural revision and determination of the absolute configuration of strobilurin D and related β -methoxyacrylate antibiotics*, *Tetrahedron*, 55(33)10101–10118(1999).
- Hofmann, A., *Multidisciplinary Association for Psychedelic Studies (MAPS). LSD: My Problem Child*. The Beckley Foundation Press, Oxford(2005).
- Homer, J.A. ve Sperry, J., *Mushroom-Derived Indole Alkaloids*, *Journal of Natural Products*, 80(7)2178-2187(2017).
- Jones, R.N., Fritsche T.R., Sader, H.S., Ross, J.E., *Activity of retapamulin (SB-275833), a novel pleuromutilin, against selected resistant gram-positive cocci*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 50(7)2583–2586(2006).
- Kanokmedhakul, S., Kanokmedhakul, K., Phonkerd, N., Soyong, K., Kongsaree, P., Suksamrarn, A., *Antimycobacterial anthraquinone-chromanone compound and diketopiperazine alkaloid from the fungus Chaetomium globosum KMITL-N0802*, *Planta Med.*, 68(9)834–836(2002).
- Kavanagh, F., Herve, A., Robbins, W.J., *Antibiotic Substances From Basidiomycetes: VIII. Pleurotus multilus (Fr.) Sacc. and Pleurotus passeckerianus Pilat*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 37(9)570–574(1951).
- Khan, M.A., Tania, M., Liu, R., Rahman, M.M., *Hericium erinaceus: an edible mushroom with medicinal values*, *J. Complement. Integr. Med.*, 10(1)(2013). doi: 10.1515/jcim-2013-0001.
- Liu, J., Lotesta, S.D., Sorensen, E.J., *A Concise Synthesis of the Molecular Framework of Pleuromutilin*, *Chem. Commun.*, 47(5)1500–1502(2011).
- Nichols, D.E., *Hallucinogens*, *Pharmacol. Ther.*, 101(2)131–181(2004).
- Novak, R., *Are pleuromutilin antibiotics finally fit for human use?*, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1241,71–81(2011).
- Öztürk, M., Tel-Cayan, G., Muhammad, A., Terzioglu, P., Duru, M.E., *Mushrooms: A Source Of Exciting Bioactive Compounds*, *Studies in Natural Products Chemistry*, 45(10)363–457(2015).
- Peters, S., Spitteller, P., *Mycenarubins A and B, red pyrroloquinoline alkaloids from the mushroom Mycena rosea.*, *J. Nat. Prod.*, 2007(10)1571–1576(2007a).
- Peters, S., Spitteller, P., *Sanguinones A and B, blue pyrroloquinoline alkaloids from the fruiting bodies of the mushroom Mycena sanguinolenta*, *J. Nat. Prod.*, 70(8)1274-7(2007b).
- Peters, S., Jaeger, R.J.R., Spitteller P., *Red pyrroloquinoline alkaloids from the mushroom Mycena haematopus*, *Eur. J.Org.Chem.*, 2007(2)319–23(2008).
- Poulsen, S.M., Karlsson, M., Johansson, L.B., Vester, B., *The pleuromutilin drugs tiamulin and valnemulin bind to the RNA at the peptidyl transferase centre on the ribosome*, *Mol. Microbiol.*, 41(5)1091–1099(2001).
- Pulte, A., Wagner, S., Kogler, H., Spitteller, P., *Pelianthinarubins A and B, Red Pyrroloquinoline Alkaloids from the Fruiting Bodies of the Mushroom Mycena pelianthina*, *Journal of Natural Products*, 79(4)873-8(2016).
- Quang, D.N., Spitteller, P., Porzel, A., Schmidt, J., Geissler, T., Arnold, N., Wessjohann, L., *Alkaloids from the mushroom Pseudobaespora pyrifera, pyriferrines A-C*, *Journal of Natural Products*, 71(9)1620-2(2008).
- Ross, S., Bossis, A., Guss, J., Agin-Liebes, G., Malone, T., Cohen, B., Mennenga, S.E., Belsler, A., Kalliontzi, K., Babb, J., Su, Z., Corby, P., Schmidt, B.L., *Rapid and sustained symptom reduction following psilocybin treatment for anxiety and depression in patients with life-threatening cancer: a randomized controlled trial*, *J Psychopharmacol.*, 30(12)1165-1180(2016).



- Sauter, H., Steglich, W., Anke, T., *Strobilurins: Evolution of a New Class of Active Substances*, *Angewandte Chemie International Edition*, 38(10)1328–1349(1999).
- Slack, G.J., Puniani, E., Frisvad, J.C., Samson, R.A., Miller, J.D., *Secondary metabolites from Eurotium species, Aspergillus calidoustus and A. insuetus common in Canadian homes with a review of their chemistry and biological activities*, *Mycol. Res.*, 113(4)480–490(2009).
- Sullivan, R., Smith, J.E., Rowan, N.J., *Medicinal Mushrooms and Cancer Therapy translating a traditional practice into Western medicine*, *Perspect. Biol. Med.*, 49(2)159-170(2006).
- Şöhretoğlu, D., Huang, S., *Ganoderma lucidum Polysaccharides as An Anti-cancer Agent.*, *Anticancer Agents Med Chem.* 18(5)667-674(2018).
- Tylš, F., Páleníček, T., Horáček, J., *Psilocybin-summary of knowledge and new perspectives*, *Eur. Neuropsychopharmacol.*, 24(3)342-56(2014).
- Wang, K., Bao, L., Ma, Ke., Liu, N., Huang, Y., Ren, J., Wang, W., Liu H., *Eight new alkaloids with PTP1B and α -glucosidase inhibitory activities from the medicinal mushroom Hericium erinaceus*, *Tetrahedron*, 71(51)9557-9563(2015).
- Wasser, P. S., *Current findings, future trends, and unsolved problems in studies of medicinal mushrooms*, *Appl Microbiol Biotechnol.*, 89(5)1323–1332(2011).
- Wachtel-Galor, S., Yuen, J., Buswell, J.A., Benzie, I.F.F., *Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects*, CRC Press/Taylor & Francis, Boca Raton(2011).



Geliş(Received) :16/05/2018
Kabul(Accepted) :28/06/2018

Araştırma Makalesi
Doi:10.30708/mantar.424172

Edirne İli Söğütlük Ormanı Toprağında İzole Edilen *Aspergillus* Türlerinin Biyoçeşitliliği

Eda Gizem AYAN¹, Ahmet ASAN¹, Burhan SEN¹, Suzan OKTEN²

Sorumlu yazar:ahmetasan84@gmail.com

¹Trakya Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü. 22030 EDİRNE - TÜRKİYE

²Trakya Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji 22030 EDİRNE - TÜRKİYE

Öz: Çalışmamızda, Edirne ili orman topraklarından izole edilen *Aspergillus* türlerinin morfolojik-kolonyal ve moleküler yöntemlerle teşhis edilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, Edirne Söğütlük Ormanından, 2016 yılı Mart ayında Brown'un metodu kullanılarak toprak örnekleri alınmıştır. Toprakta fungus izolasyonu için "Toprağı Sulandırma Metodu" kullanılmıştır. Morfolojik çalışmalar için CZ, CYA, CY20S, MEA besiyerlerine yapılan ekimlerden sonra, mikroskopik ve makroskopik karakterler incelenmiştir. Moleküler çalışmalar için ise sırasıyla DNA izolasyonu, calmodulin gen bölgesini hedefleyen PCR işlemleri, PCR ürününün saflaştırılması, dizi analizi ve filogenetik analiz aşamaları uygulanmıştır. Çalışmalar sonucunda 7 adet *Aspergillus* türü tespit edilmiştir. Bu türler, *Aspergillus affinis* (Türkiye için yeni kayıt), *Aspergillus awamori*, *Aspergillus carbonarius*, *Aspergillus dimorphicus*, *Aspergillus europaeus* (Türkiye için yeni kayıt), *Aspergillus spelaesus* (Türkiye için yeni kayıt) ve *Aspergillus fischeri* dir.

Anahtar kelimeler: Toprak, *Aspergillus*, Calmodulin geni, Söğütlük Ormanı, Yeni kayıt, Edirne

Biodiversity Of *Aspergillus* Species Isolated From Sogutluk Forest Soil Of Edirne City

Abstract: We aimed to isolation and identification of *Aspergillus* species in Edirne Sogutluk Forest soil by morphological-colonial and molecular methods in our study. For this purpose, soil samples were taken by using Brown's Method in March, 2016 from mentioned forest soil. "Soil Dilution Method" was used for fungus isolation from soil. For the morphological studies, microscopic and macroscopic characters were examined after the operation of inoculating in CZ, CYA, CY20S, MEA media. For the molecular studies, DNA isolation, PCR operations that targeting Calmodulin gene region, purification of the PCR product, sequence analysis and phylogenetics analysis processes were performed respectively. Seven *Aspergillus* species were detected as a result of studies. These species are *Aspergillus affinis* (New record for Turkey), *Aspergillus awamori*, *Aspergillus carbonarius*, *Aspergillus dimorphicus*, *Aspergillus europaeus* (New record for Turkey), *Aspergillus spelaesus* (New record for Turkey) and *Aspergillus fischeri*.

Key words: Soil, *Aspergillus*, Calmodulin gene, Sogutluk Forest, New record, Edirne

Giriş

Toprak, bünyesinde çeşitli mikroorganizmaları barındırır (Asan ve Ekmekçi, 1994). Funguslar doğada çok yaygın olmalarına rağmen, sayı ve çeşit bakımından en bol oldukları habitat topraktır (Asan ve Ekmekçi, 1994; Asan, 2002; Asan ve Ark., 2010; Özdemir ve Ark., 2011). Toprak fungusları ile ilgili öncü araştırmacılarından biri Adametz'dir ve konuyla ilgili eserini 1886'da yayınlamıştır;

bu çalışmayla 11 fungus türü izole edilmiş ve toprağın karışık bir fungus florasına sahip olduğunu belirlenmiştir (Tresner ve Ark., 1954; Asan ve Ekmekçi, 1994; Paul, 2007; İlhan ve Asan, 2001). 1902 yılında Oedemans ve Koning tarafından toprak funguslarının ilk detaylı sınıflandırılması yapılmıştır (Paul, 2007; Waksman, 1927). Ülkemizde bu alandaki öncü çalışmalardan biri, 1970 yılında Öner tarafından başlatılmıştır. *Aspergillus* türleri,



birçok alanda yararlanılan birincil ve ikincil metabolitler üretmeleri sebebiyle ticari önemi olan funguslardandır (Domsch ve Ark. 1980). Ürettikleri enzim ve organik asitler dışında, biyoteknoloji alanında önem taşıyan birçok sekonder metabolit üretirler (Hasenekoğlu, 1991; Machida ve Gomi, 2010). Bu bileşikler arasında antibiyotikler, bağışıklık baskılayıcılar, kolesterol düşürücü maddeler ve mikotoksinler sayılabilir (Goldman ve Osmani, 2008). *Aspergillus* türlerinin bazıları ise özellikle bağışıklığı baskılanmış kişilerde hastalıklara (aspergillosis) ve alerjiye neden olabilirler (Klich, 2002). Bu enfeksiyon etkenlerinin başında *Aspergillus fumigatus* gelir (Klich, 2002; Machida ve Gomi, 2010). Bunu, *A. flavus*, *A. terreus*, *A. niger*, *A. nidulans* ve *A. ochraceus* takip eder (Klich, 2002). Bitki patojeni türlerden *A. niger* ise siyah çürüklük hastalığı sebebidir (Sümer, 2006). Tüm bunlar göz önüne alındığında *Aspergillus*'ları tür düzeyinde tanımlamanın önemli olduğu görülmektedir (Asan, 2004; İlhan ve Ark., 2006).

Çalışmamızda, orman toprağından izole edilen *Aspergillus* türlerinin hem mikroskobik- makroskobik özelliklerine dayalı morfolojik ve kolonyal yöntemlerle hemde calmodulin gen bölgesine dayalı moleküler yöntemlerle tespit edilmesi amaçlanmıştır.

Çolakoğlu (2002)'nun Belgrad Ormanı karaçam meşçerelerine ait topraklarda mikrofunguslar üzerine yaptığı çalışmada *Aspergillus* cinsine ait 2 tür bulunmuştur (Çolakoğlu, 2002). Kara (2005) Demirköy (Kırklareli) civarındaki Kuzey Trakya Dağlık Orman alanlarında mikrofunguslar ile ilgili araştırma gerçekleştirmiştir. Edirne ili orman topraklarında gerçekleştirilen Asan ve Ekmekçi (1994)'nin morfolojik-kolonyal yöntemlere dayalı yapılan çalışmasında *Aspergillus* cinsine ait 7 tür ve 2 varyete tespit edilmiştir.

Funguslar, uzun yıllar boyunca fenotipik karakterlere dayalı morfolojik özellikleri kullanılarak tanımlanmıştır (Waksman, 1952; Rossmann, Tulloss, Dell ve Thorn, 1998). Fakat bazı türleri teşhis etmek için bu özellikler yeterli değildir (Hasenekoğlu ve Sülün, 1990). Bu nedenle DNA tabanlı moleküler yaklaşımlar mikrofungusların teşhisinde önemli bir alternatif haline gelmiştir (Bıyık ve Ark., 2016; Bruns ve Ark., 1991). Moleküler yöntemler, çok sayıda *Aspergillus* türünün tanımlanmasında da yaygın olarak uygulanmıştır (Rodrigues ve Ark., 2007). Bizim çalışmamızda da *Aspergillus* türleri fenotipik karakterlere dayanan morfolojik ve moleküler çalışmalar ile tür düzeyinde tespit edilmiştir.

Materyal ve Metot

Toprak örnekleri

Toprak örnekleri, Mart 2016'da Edirne ili Söğütlük Ormanı'ndan alınmıştır. Edirne Söğütlük Ormanı, Meriç Nehri Kenarında, halka açık, piknik ve yürüyüş alanları içeren, özellikle Şubat-Mart dönemlerinde nehrin taşmasıyla birlikte nehirden gelen alüvyonlara maruz

kalan ve bu bakımdan verimli bir alandır. Toprak fungusları bakımından çeşitlilik beklendiğinden seçilmiştir. Toprak örneklerinin alınmasında Brown (1958)'un yöntemi kullanılmıştır. Alınan toprak örnekleri steril poşetler içerisinde laboratuvara getirilmiş ve 4°C'de muhafaza edilmiştir.

Funguslarının izolasyon işlemi "Toprağı Sulandırma Metodu" kullanılarak yapılmıştır. Bu metod, toprak mikrobiyolojisinde en fazla tercih edilen metoddur (Waksman, 1922). Toprak örneklerinin nem miktarı hesaplanmıştır. hassas terazi ile örneklerden 10 gram tartılmıştır daha sonra 105°C'de 24 saat tutulduktan sonra tekrar tartılmış ve böylelikle 25 gram kuru toprağı verecek yaş toprak miktarı bulunmuştur (Cireli ve Ark., 1973).

Ölçülen ağırlıkların yüzde nem miktarı aşağıdaki eşitlik yardımı ile belirlenmiştir.

$$\text{Nem miktarı (\%)} = \frac{\text{Yaş ağırlık-Fırın kuru ağırlık}}{\text{Fırın kuru ağırlık}} \times 100$$

Aspergillus Türlerinin İzolasyonu

Toprak örneklerinin ilk ekimi için Dichloran Glycerol Chloramphenicol (DG18) Agar besiyeri kullanılmıştır (Hocking ve Pitt, 1980). Yaş toprak tartılmış ve üzerine 250 mL'ye tamamlanacak şekilde Dilüsyon sıvısı Maximum Recovery Diluent (MRD) eklenmiştir. Elde edilen 1/10'luk toprak süspansiyonu, 150 rpm hızda 30 dakika boyunca çalkalanmıştır.

Dilüsyon serileri hazırlanmıştır. Ekim işlemlerinde 1/10.000'lik süspansiyon kullanılmıştır. 1/10.000'lik toprak süspansiyonundan, 1 mL örnek çekilmiş ve DG18 besiyerine aktarılmış, işlem 10 petri kabı için tekrarlanmıştır. Daha sonra besiyerleri inkübatöre kaldırılarak 25°C'de 7-10 gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyon süresi boyunca kurumayı engellemek için inkübatör içerisine su dolu küçük bir kap konulmuştur (Tansey ve Jack, 1976; Singh ve Sandhu, 1986). İnkübasyon süresi sonunda karışık fungus üremesi gözlenen petri kaplarından *Aspergillus* olduğu düşünülen koloniler seçilerek DG18 besiyerine üç nokta ekim tekniği ile aktarılmış (Raper ve Thom, 1974), sonra 25°C'de 7-10 gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır.

Aspergillus Türlerinin Fenotipik Tanısı

Makroskobik inceleme için, her bir küf izolatından Czapek Dox Agar (CZ), Czapek Yeast Agar (CYA25), % 20 sukrozlu Czapek Yeast Agar (CY20S) ve Malt Extract Agar (MEA) içeren petrilere üç nokta ekimi yapılmış, 25°C'de 7 gün süreyle inkübe edilmiştir. Czapek Yeast Agar (CYA37)'daki örnekler ise 37°C'de 7 gün bekletilmiştir. Daha sonra kolonilerin yapısı, şekli, alt ve üst rengi, büyüklüğü, eksudasyon ve pigmentasyon varlığı incelenmiştir. Türlerin vezikül yapısı, konidi rengi, şekli, büyüklüğü ve yapısı, konidiofor şekli, uzunluğu, genişliği,



çeper özelliği ve duvar yapısı, konidial başlık yapısı, fiyalid şekli, metula, sklerotia gibi yapılar ve hülle hücrelerinin varlığı, boyut ve şekilleri incelenmiştir. Türlerinin tanımlanmasında çeşitli eserlerden (Klich, 2002; Hasenekoğlu, 1991; Raper ve Fennell, 1965) eserlerinden yararlanılmıştır.

Aspergillus Türlerinin Genotipik Tanısı

DNA izolasyonundan sonra, PCR ile Calmodulin gen bölgesine özgü primerler kullanılarak ürün çoğaltılmış, elde edilen saf DNA örneklerinden dizi analizi ve filogenetik analiz yapılmıştır.

DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu işlemleri için Bioeksen Ar-Ge Teknolojileri Tic. Ltd. Şti.'den hizmet alımı gerçekleştirilmiştir. İşlem, Bio-Speedy™ Fungal DNA İzolasyonu Kiti kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

PCR Kurulumu

PCR işlemi için kalıp olarak kullanılacak DNA'nın sağlığı ve konsantrasyonları spektrofotometrik ölçümler yapılarak (MSP-100 Mikro Spektrofotometre; Inovia Teknoloji Ltd. Şti., Türkiye); miktarı en az 20 ng/μL ve absorbans değeri (ABS₂₆₀/ABS₂₈₀) 1,6-2,0 aralığında olan DNA örnekleri kullanılmıştır. PCR kurulumu için gerekli olan bileşenler ve miktarları Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. PCR kurulumu için gerekli olan bileşenler ve miktarları

Bileşenler	Kullanılan Miktar
2x-Mix	5 μL
OligoMix-10 μM (Forward Primer + Reverse Primer)	1 μL
MGW (Moleküler Ölçekli Su)	2 μL
Template (Kalıp DNA)	2 μL
Toplam Reaksiyon Hacmi	10 μL

Polimeraz Zincir Reaksiyonu

PCR işlemleri, Bio-Speedy™ Maya ve Küf Real-Time PCR Hızlı Tespit Kiti kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kit, Calmodulin gen bölgesini hedefleyen ileri 5'-GCKWAAAYAGGACAAGGATGG-3' ve geri 5'-CTGGTCVGCCTCACRAAT-3' primerlerini içermektedir. *Aspergillus* Calmodulin primeri dejenere bir primer olduğundan, standart PCR ile ürün elde edilememiş ve bu nedenle Touchdown PCR uygulanmıştır. Daha sonra PCR ürünleri saflaştırılmıştır.

Dizi Analizi ve Filogenetik Analiz

Dizi analizi için Trakya Üniversitesi Teknoloji Araştırma ve Geliştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi (TÜTAGEM)'nden hizmet alımı gerçekleştirilmiş, elde edilen fungal amplikonların dizi analizleri Sanger yöntemi ile tespit edilmiştir. Elde edilen dizilere karşılık gelen

diziler, <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/> adresindeki NCBI gen bankasından Blast yöntemi ile belirlenmiştir.

Sonuçlar

İzole edilen *Aspergillus* cinsine ait 52 izolatdan 7 *Aspergillus* türü tespit edilmiştir. Bunlar *Aspergillus affinis*, *A. awamori*, *A. dimorphicus*, *A. europaeus*, *A. spelaesus* ve *A. fischeri*'dir. Çalışılan örnekler ait morfolojik ve moleküler sonuçlar Tablo 2'de verilmiştir. 3 tür Türkiye için yeni kayıttır (Asan, 2004); bunlar: *Aspergillus affinis*, *A. europaeus* ve *A. spelaesus*'dur.

Elde edilen türlerden *Aspergillus carbonarius* ve *Aspergillus awamori*'nin tür düzeyinde morfolojik teşhisi yapılarak moleküler teşhis ile karşılaştırılmış ve doğrulanmıştır. *Aspergillus fischeri* morfolojik, *Aspergillus affinis*, *Aspergillus dimorphicus*, *Aspergillus europaeus*, *Aspergillus spelaesus* ise moleküler teşhis ile tanımlanmıştır.



Tablo 2. Morfolojik ve moleküler teşhis sonuçları

Kod	Morfolojik Teşhis	Moleküler Teşhis	Eşleşen Örneğin Accession Numarası	Benzerlik
1A	<i>Aspergillus</i> Section <i>Cremeri</i>	<i>Aspergillus dimorphicus</i>	EF652135.1	509/517 (%98)
2A	<i>Aspergillus</i> Section <i>Cremeri</i>	<i>Aspergillus dimorphicus</i>	LT158494.1	509/510 (%99)
3A	<i>Aspergillus</i> Section <i>Cremeri</i>	<i>Aspergillus dimorphicus</i>	EF652135.1	496/503 (%99)
4A	<i>Aspergillus</i> Section <i>Circumdati</i>	* <i>Aspergillus affinis</i>	JF805764.1	510/513 (%99)
5A	<i>Aspergillus</i> Section <i>Cremeri</i>	<i>Aspergillus dimorphicus</i>	EF652135.1	502/503 (%99)
6A	<i>Aspergillus</i> Section <i>Circumdati</i>	* <i>Aspergillus affinis</i>	GU721091.1	532/535 (%99)
7A	<i>Aspergillus</i> Section <i>Flavipedes</i>	* <i>Aspergillus spelaeus</i>	HG916745.1	508/510 (%99)
8A	<i>Aspergillus</i> Section <i>Cremeri</i>	<i>Aspergillus dimorphicus</i>	EF652135.1	496/503 (%99)
9A	<i>Aspergillus</i> Section <i>Circumdati</i>	* <i>Aspergillus affinis</i>	GU721091.1	531/535 (%98)
10A	<i>Aspergillus</i> Section <i>Circumdati</i>	* <i>Aspergillus affinis</i>	GU721091.1	534/537 (%98)
11A	<i>Aspergillus</i> Section <i>Cremeri</i>	* <i>Aspergillus europaeus</i>	LN909009.1	503/504 (%99)
12A	Teşhis Edilemedi	DNA İzolasyonu Yapılamadı	-	-
13A	<i>Aspergillus</i> Section <i>Cremeri</i>	* <i>Aspergillus europaeus</i>	LN909009.1	506/507 (%99)
14A	<i>Aspergillus</i> Section <i>Cremeri</i>	<i>Aspergillus dimorphicus</i>	LT158494.1	505/506 (%99)
15A	<i>Aspergillus</i> Section <i>Cremeri</i>	<i>Aspergillus dimorphicus</i>	EF652135.1	453/458 (%99)
16A	<i>Aspergillus</i> Section <i>Cremeri</i>	<i>Aspergillus dimorphicus</i>	EF652135.1	497/504 (%99)
17A	<i>Aspergillus</i> Section <i>Cremeri</i>	* <i>Aspergillus europaeus</i>	LN909009.1	503/504 (%99)
18A	<i>Aspergillus</i> Section <i>Cremeri</i>	<i>Aspergillus dimorphicus</i>	LT158494.1	507/508 (%99)
19A	<i>Aspergillus</i> Section <i>Cremeri</i>	* <i>Aspergillus europaeus</i>	LN909009.1	504/506 (%99)
20A	<i>Aspergillus</i> Section <i>Cremeri</i>	* <i>Aspergillus europaeus</i>	LN909009.1	506/507 (%99)
21A	<i>Aspergillus awamori</i>	<i>Aspergillus awamori</i>	FN394670.1	508/509 (%99)
22A	<i>Aspergillus</i> Section <i>Nigri</i>	Dizileme yapılamadı	-	-



23A	<i>Aspergillus</i> Section <i>Nigri</i>	<i>Aspergillus welwitschiae</i> <i>Aspergillus awamori</i>	LT558746.1 KJ777809.1	508/509 (%99)
		<i>Aspergillus niger</i>	JF838354.1	507/509 (%99)
24A	<i>Aspergillus</i> Section <i>Nigri</i>	<i>Aspergillus tubingensis</i> <i>Aspergillus phoenicis</i> <i>Aspergillus niger</i>	KP739458.1 KJ123904.1 KJ123900.1	507/508 (%99)
25A	<i>Aspergillus</i> Section <i>Nigri</i>	<i>Aspergillus welwitschiae</i> <i>Aspergillus awamori</i>	LT558746.1 KJ777809.1	507/508 (%99)
		<i>Aspergillus niger</i>	JF838354.1	506/508 (%99)
26A	<i>Aspergillus</i> Section <i>Nigri</i>	Dizileme yapılamadı	-	-
27A	<i>Aspergillus carbonarius</i>	<i>Aspergillus carbonarius</i>	KR020714.1	501/502 (%99)
28A	<i>Aspergillus carbonarius</i>	<i>Aspergillus carbonarius</i>	KR020714.1	503/505 (%99)
29A	<i>Aspergillus carbonarius</i>	<i>Aspergillus carbonarius</i>	KR020714.1	502/503 (%99)
30A	<i>Aspergillus</i> Section <i>Cremeri</i>	<i>Aspergillus dimorphicus</i>	LT158494.1	505/506 (%99)
31A	<i>Aspergillus</i> Section <i>Cremeri</i>	<i>Aspergillus dimorphicus</i>	EF652135.1	499/506 (%99)
32A	<i>Aspergillus</i> Section <i>Cremeri</i>	<i>Aspergillus dimorphicus</i>	EF652135.1	499/506 (%99)
33A	<i>Aspergillus</i> Section <i>Cremeri</i>	<i>Aspergillus dimorphicus</i>	EF652135.1	497/504 (%99)
34A	<i>Aspergillus</i> Section <i>Cremeri</i>	* <i>Aspergillus europaeus</i>	LN909009.1	507/509 (%99)
35A	<i>Aspergillus</i> Section <i>Cremeri</i>	* <i>Aspergillus europaeus</i>	LN909009.1	506/507 (%99)
36A	<i>Aspergillus</i> Section <i>Cremeri</i>	* <i>Aspergillus europaeus</i>	LN909009.1	506/507 (%99)
37A	<i>Aspergillus</i> Section <i>Cremeri</i>	* <i>Aspergillus europaeus</i>	LN909009.1	506/507 (%99)
38A	<i>Aspergillus</i> Section <i>Cremeri</i>	<i>Aspergillus dimorphicus</i>	LT158494.1	505/506 (%99)
39A	<i>Aspergillus</i> Section <i>Cremeri</i>	<i>Aspergillus dimorphicus</i>	LT158494.1	505/506 (%99)
40A	<i>Aspergillus</i> Section <i>Cremeri</i>	* <i>Aspergillus europaeus</i>	LN909009.1	504/506 (%99)
41A	Teşhis Edilemedi	Dizileme yapılamadı	-	-
42A	<i>Aspergillus</i> Section <i>Cremeri</i>	<i>Aspergillus dimorphicus</i>	EF652135.1	499/506 (%99)
43A	<i>Aspergillus</i> Section <i>Cremeri</i>	<i>Aspergillus dimorphicus</i>	EF652135.1	500/507 (%99)
44A	<i>Aspergillus fischeri</i>	Dizileme yapılamadı	-	-



45A	Teşhis Edilemedi	Dizileme yapılamadı	-	-
46A	<i>Aspergillus Section Cremei</i>	<i>Aspergillus dimorphicus</i>	EF652135.1	501/508 (%99)
47A	<i>Aspergillus Section Cremei</i>	<i>Aspergillus dimorphicus</i>	EF652135.1	503/504 (%99)
48A	<i>Aspergillus fischeri</i>	DNA İzolasyonu Yapılamadı	-	-
49A	<i>Aspergillus Section Cremei</i>	<i>Aspergillus dimorphicus</i>	EF652135.1	499/506 (%99)
50A	<i>Aspergillus Section Cremei</i>	<i>Aspergillus dimorphicus</i>	EF652135.1	499/506 (%99)
51A	<i>Aspergillus Section Cremei</i>	<i>Aspergillus dimorphicus</i>	LT158494.1	505/506 (%99)
52A	<i>Aspergillus Section Cremei</i>	<i>Aspergillus dimorphicus</i>	EF652135.1	499/506 (%99)

*Türkiye için yeni kayıt.

Tür Düzeyinde Teşhis Edilen *Aspergillus* Türleri

Türlerle ilgili elde edilen bilgiler aşağıda verilmiştir (Şekil 1-7). 3 örnek ise *Aspergillus Section Nigrifide* olduğu görülmüş ancak tür düzeyinde teşhis edilememiştir.

Aspergillus affinis Davolos, Persler, Pietrangeli & Maggi 2011:

7 günlük inkübasyon sonunda koloni çapı CYA25 besiyerinde 35-37 mm, MEA besiyerinde 34-35 mm, CZ besiyerinde 26-30 mm, DG18 besiyerinde 47-48 mm'dir. CYA37 besiyerinde ise mikrokoloniler görülür.

Aspergillus awamori Nakaz. 1907

7 günlük inkübasyon sonunda koloni çapı CYA25 besiyerinde 60-70 mm, MEA besiyerinde 60-70 mm, CY20S besiyerinde 60-70 mm, CYA37 besiyerinde 65-70 mm ve CZ besiyerinde 30-60 mm'dir.

Aspergillus carbonarius (Bainier) Thom 1916

7 günlük inkübasyon sonunda koloni çapı CYA25 besiyerinde 65-70 mm, MEA besiyerinde 55-70 mm, CY20S besiyerinde 68-70 mm, CYA37 besiyerinde 10-30 mm ve CZ besiyerinde 35-45 mm'dir.

Aspergillus dimorphicus B.S. Mehrotra & R. Prasad 1969

7 günlük inkübasyon sonunda koloni çapı CYA25 besiyerinde yaklaşık 30-35 mm, MEA besiyerinde 25-30 mm, CY20S besiyerinde 40-50 mm ve CZ besiyerinde 25-30 mm'dir.

Aspergillus europaeus Hubka, A. Nováková, Samson, Houbraken, Frisvad & M. Kolařík 2016

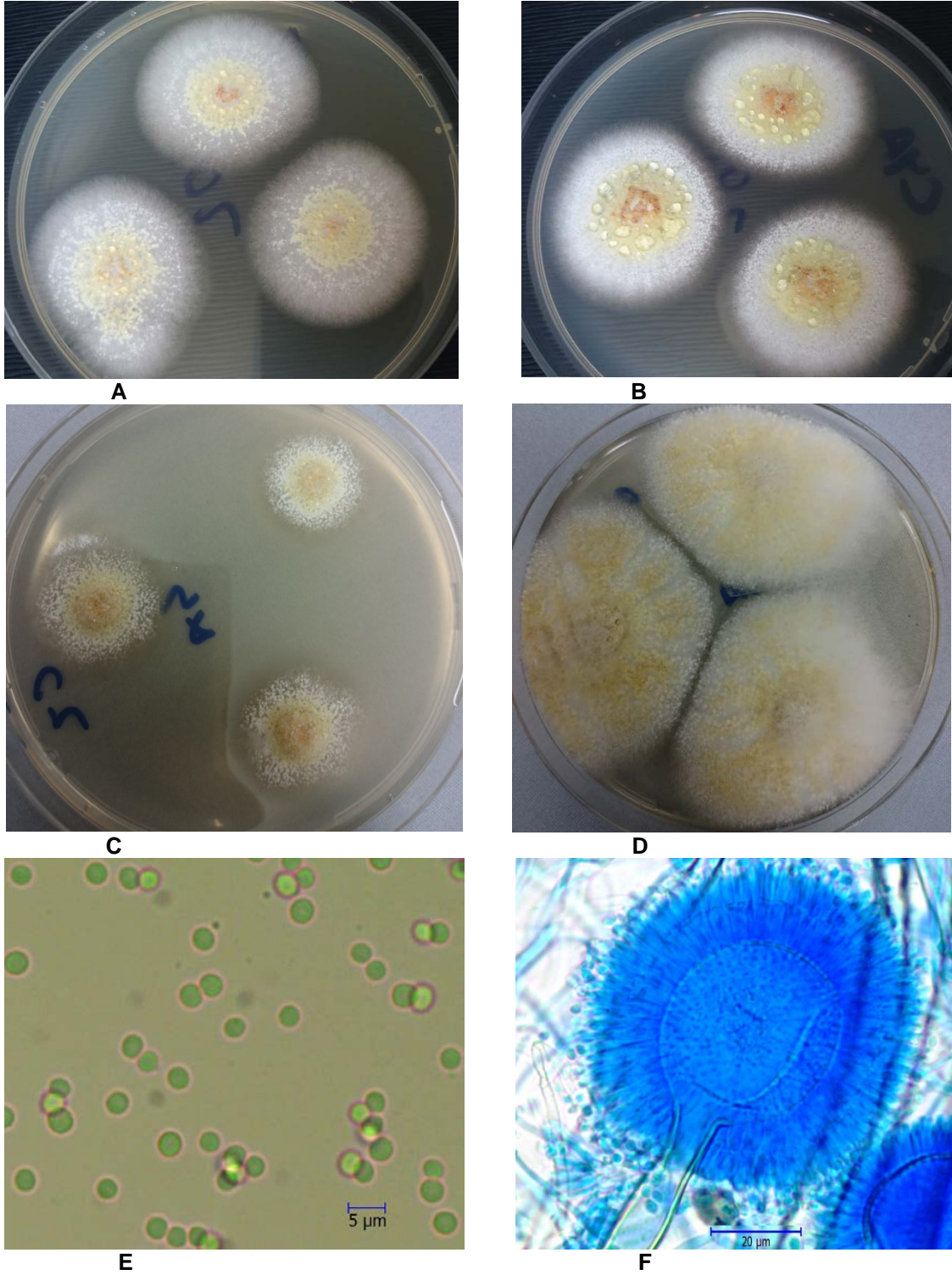
7 günlük inkübasyon sonunda koloni çapı CYA25 besiyerinde 32-45 mm, MEA besiyerinde 21-30 mm, CZ besiyerinde 25-38 mm, CY20S besiyerinde 53-65 mm'dir.

Aspergillus spelaesus A. Nováková, Hubka, M. Kolařík & S.W. Peterson 2015

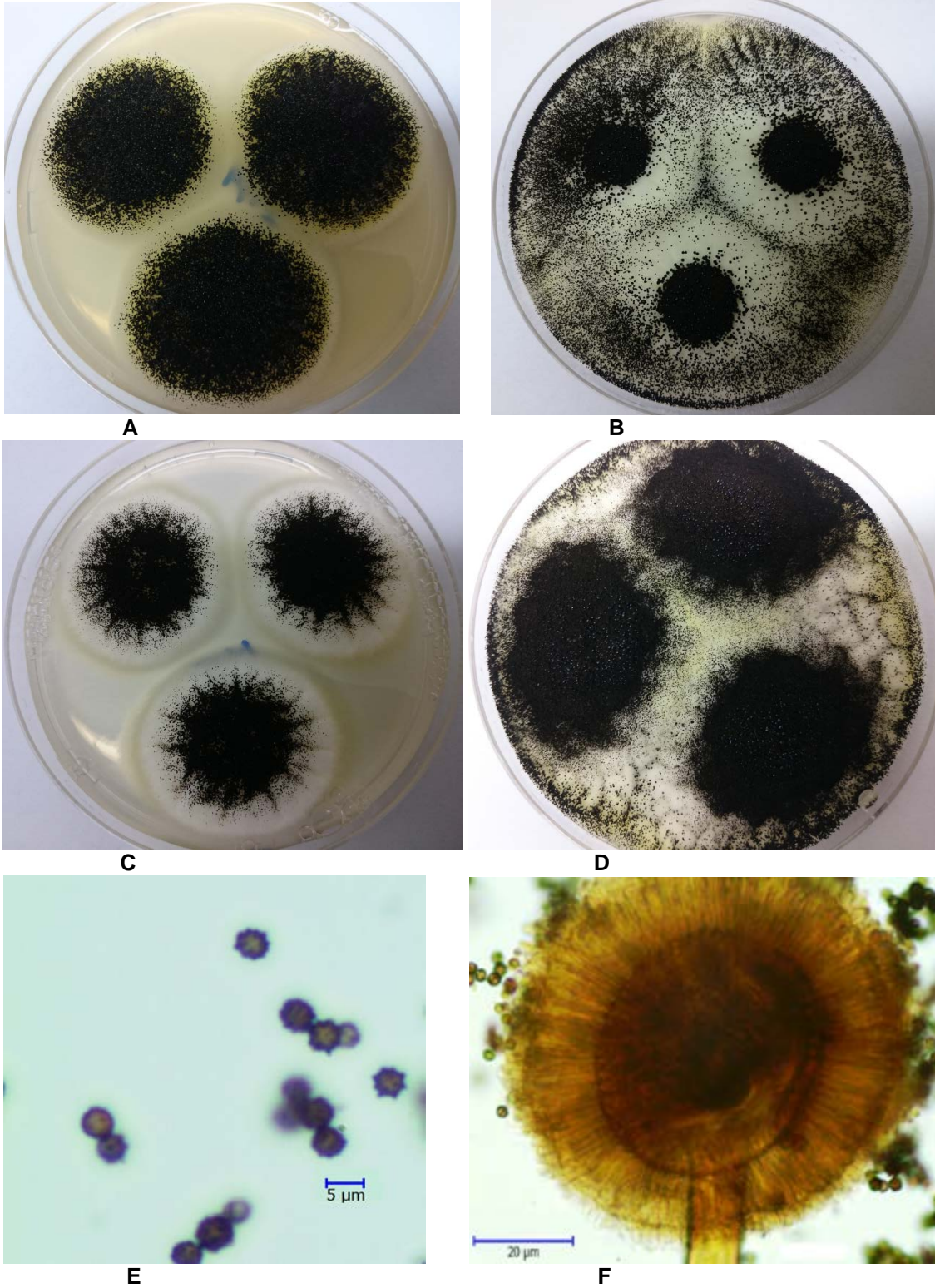
7 günlük inkübasyon sonunda koloni çapı CYA25 besiyerinde 16-30 mm, MEA besiyerinde 15-32 mm, CZ besiyerinde 6-26 mm'dir.

Aspergillus fischeri Wehmer 1907

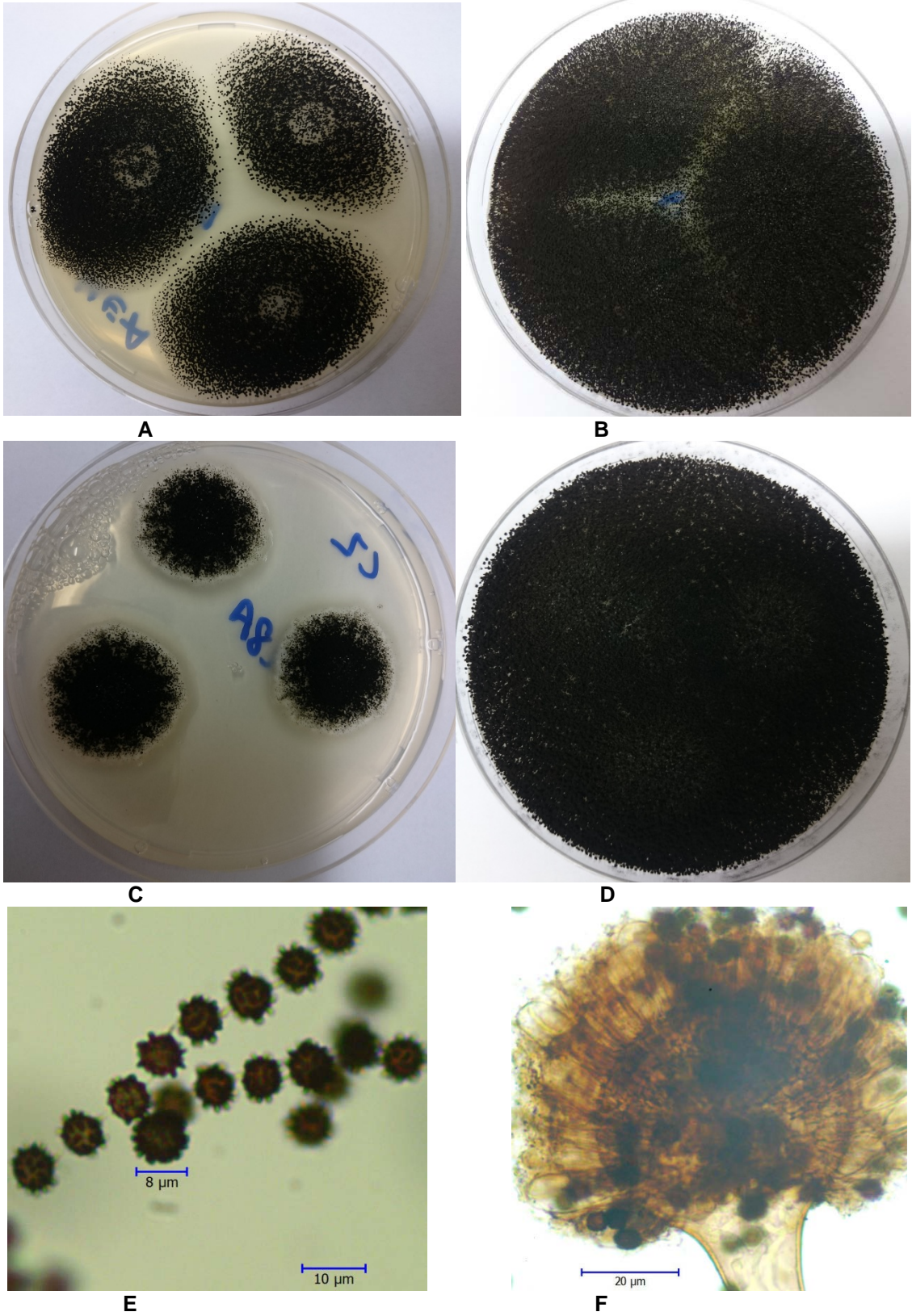
7 günlük inkübasyon sonunda koloni çapı CYA25 besiyerinde 60-70 mm, CYA37 besiyerinde 60-70 mm MEA besiyerinde 65-70 mm, CZ besiyerinde 53-60 mm, CY20S besiyerinde 60-70 mm'dir.



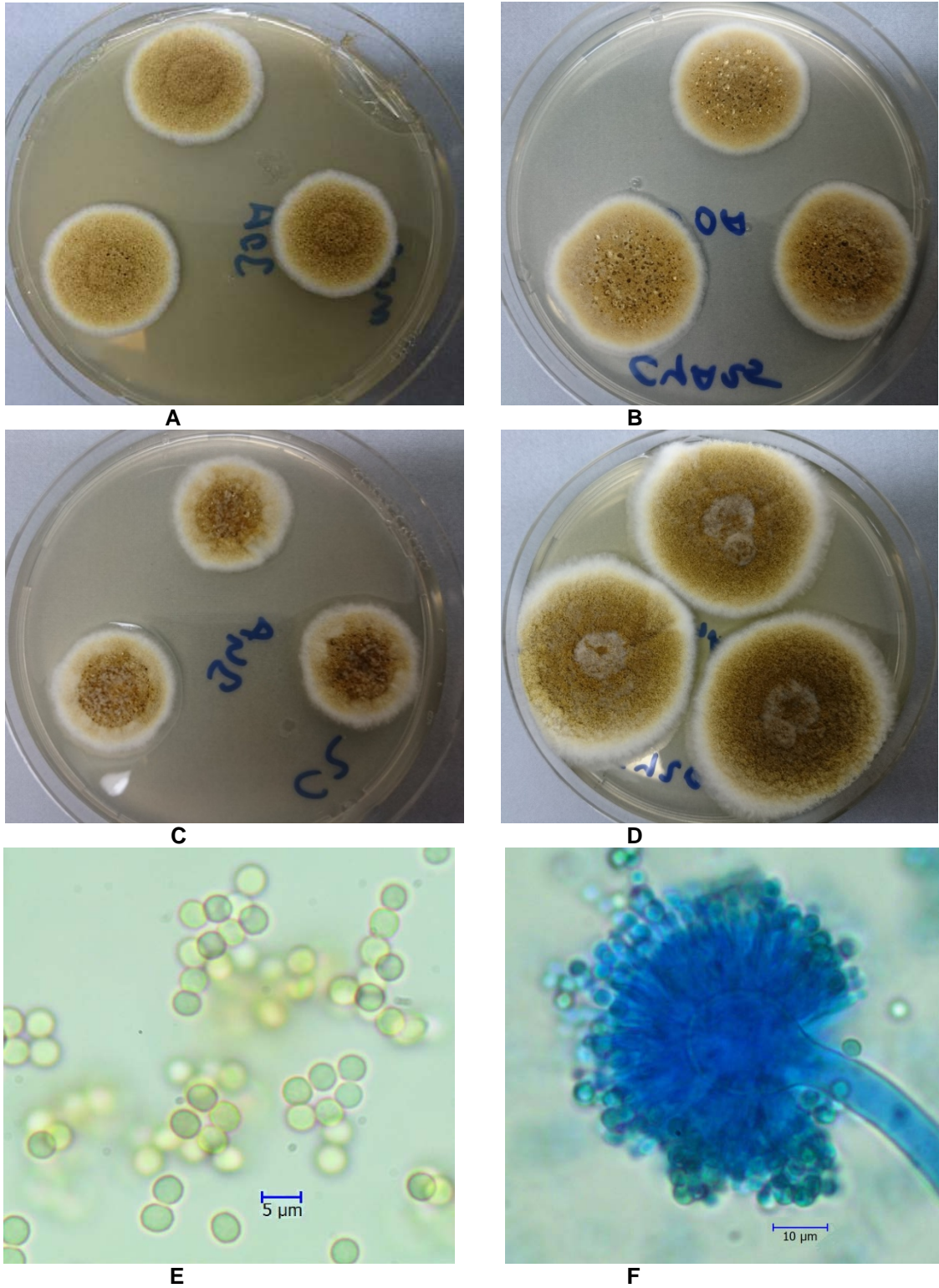
Şekil 1. *Aspergillus affinis* A. MEA B. CYA25 C. CZ D. CY20S besiyelerinde 7 günlük koloni görünümleri E. Spor yapısı $\times 40$ F. Konidial baş $\times 40$



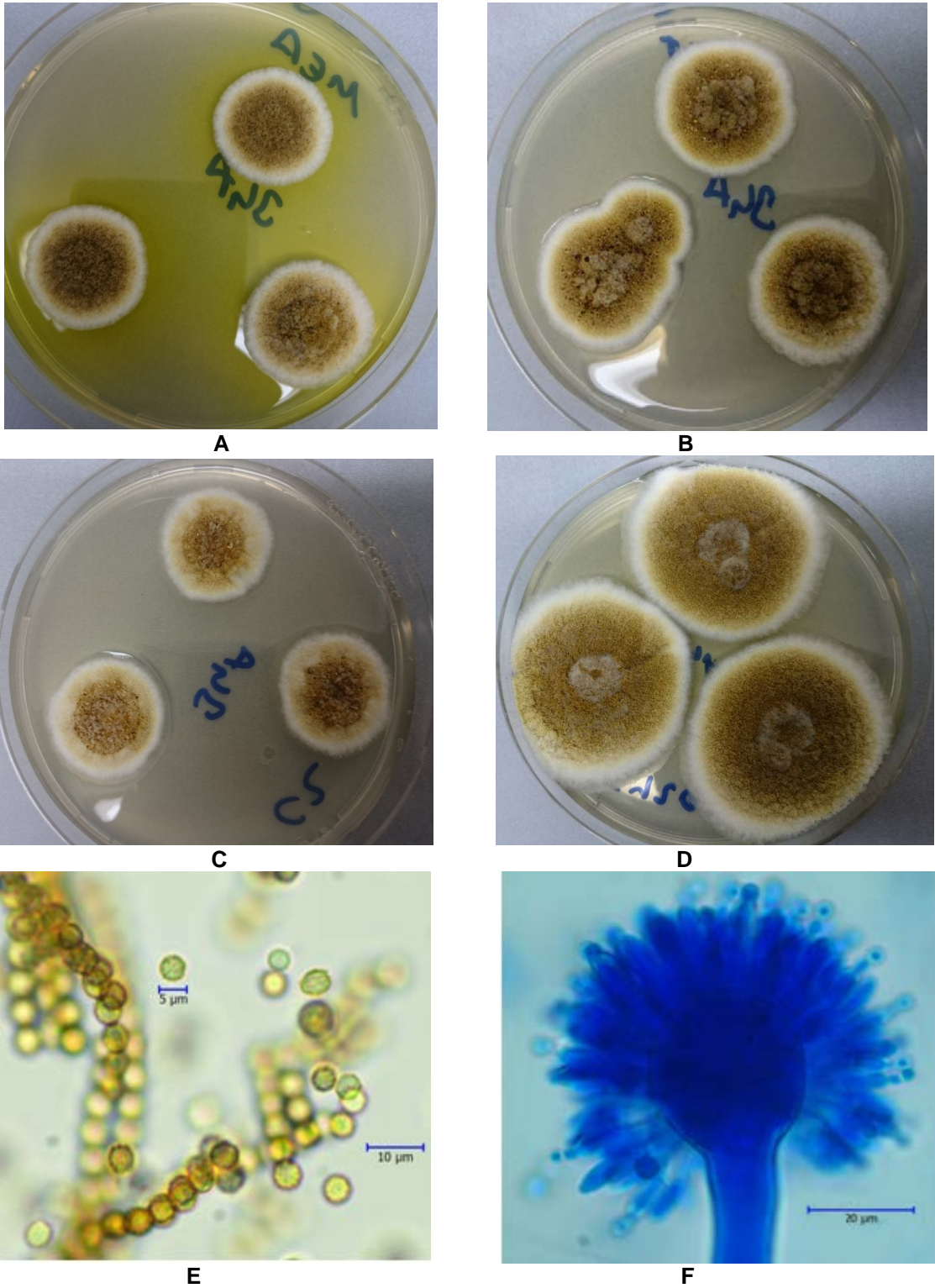
Şekil 2. *Aspergillus awamori* A. MEA B. CYA25 C. CZ D. CY20S besiyerlerinde 7 günlük koloni görünüşleri E. Spor yapısı $\times 40$ F. Konidial baş $\times 40$



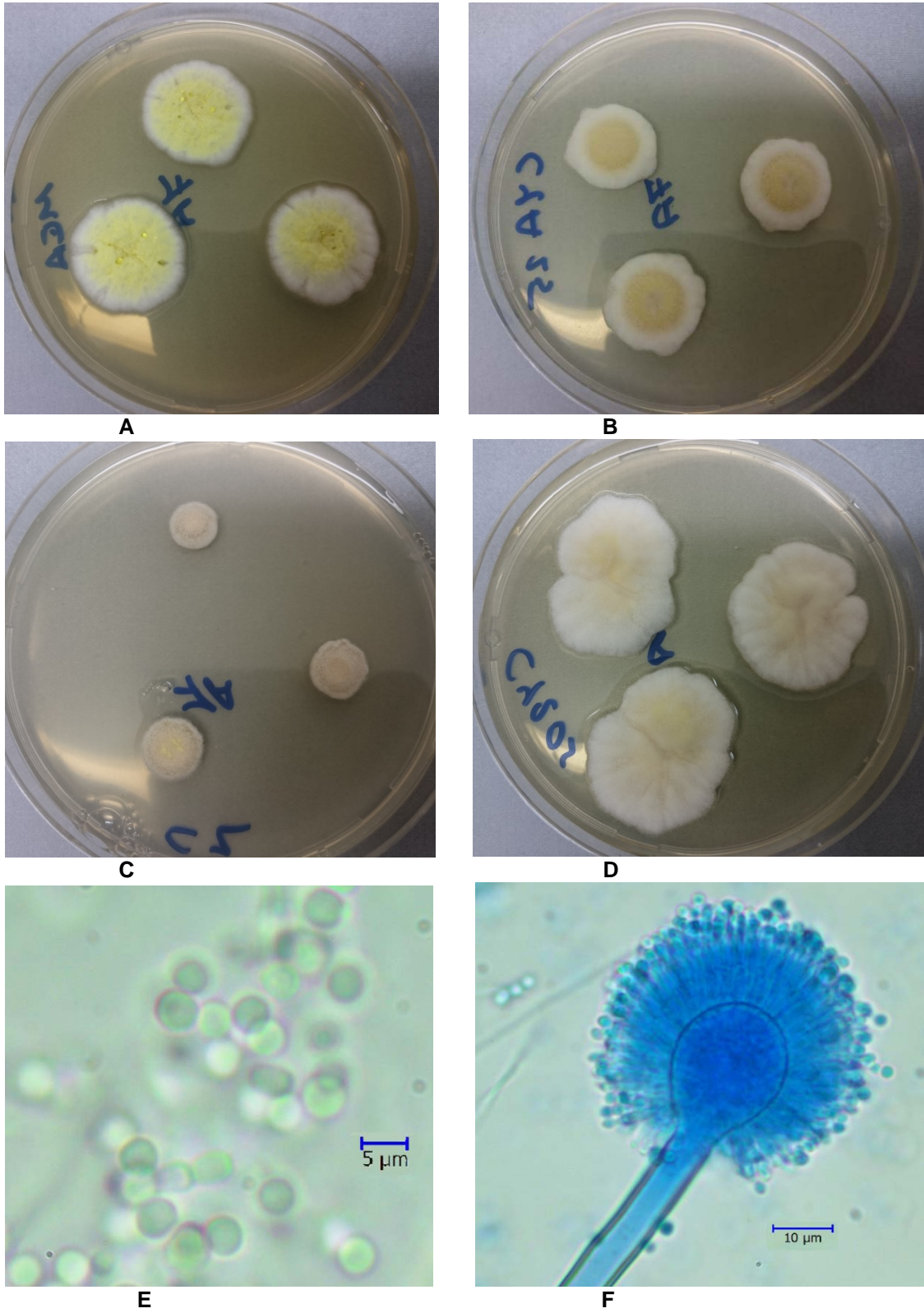
Şekil 3. *Aspergillus carbonarius* A. MEA B. CYA25 C. CZ D. CY20S besiyerlerinde 7 günlük koloni görünüşleri E. Spor yapısı $\times 40$ F. Konidial baş $\times 40$



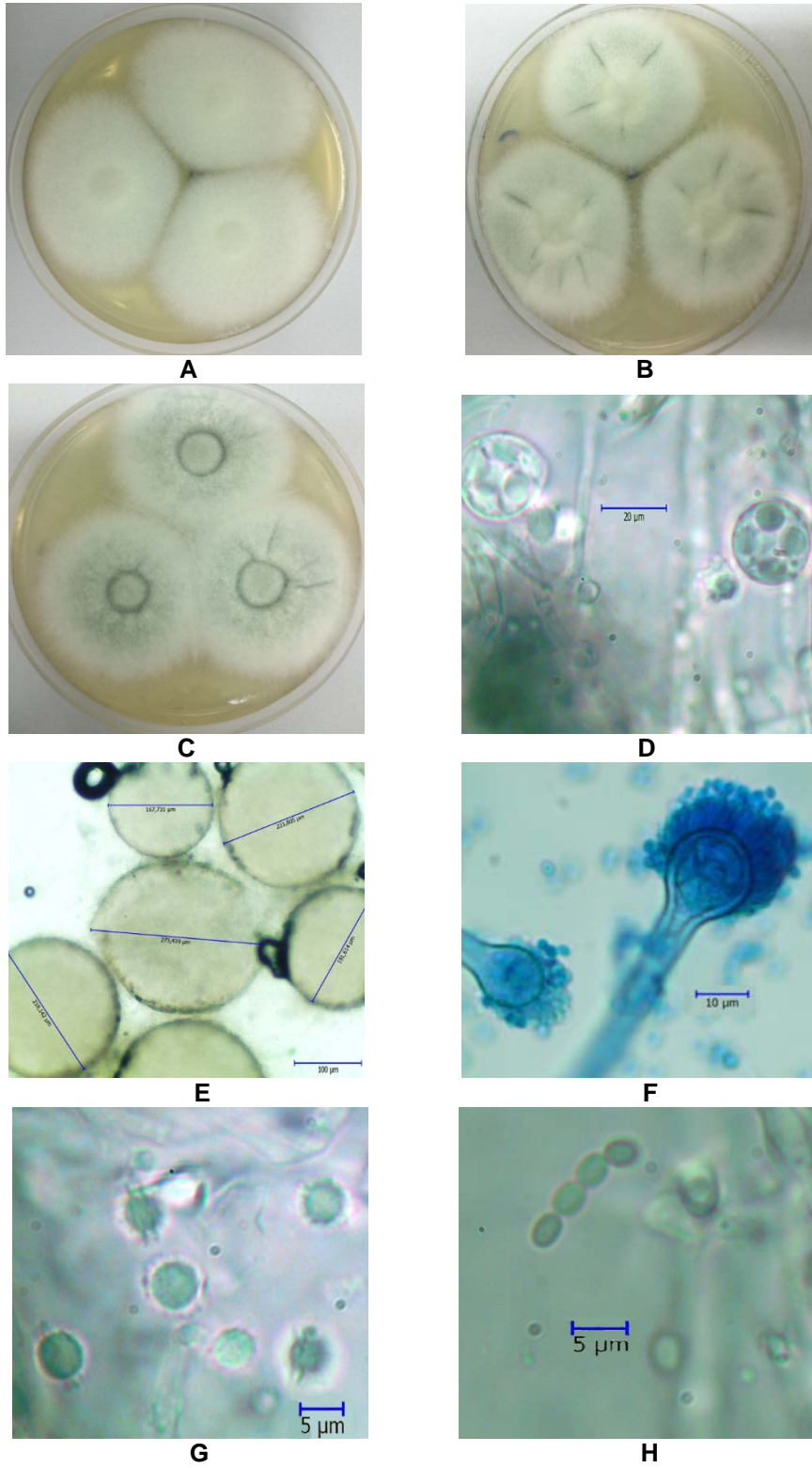
Şekil 4. *Aspergillus dimorphicus* A. MEA B. CYA25 C. CZ D. CY20S besiyerlerinde 7 günlük koloni görünüşleri E. Spor yapısı $\times 100$ F. Konidial baş $\times 40$



Şekil 5. *Aspergillus europaeus* A. MEA B. CYA25 C. CZ D. CY20S besiyerlerinde 7 günlük koloni görünüşleri E. Spor yapısı $\times 40$ F. Konidial baş $\times 40$



Şekil 6. *Aspergillus spelaesus* A. MEA B. CYA25 C. CZ D. CY20S besiyerlerinde 7 günlük koloni görünüşleri E. Spor yapısı $\times 100$ F. Konidial baş $\times 40$



Şekil 7. *Aspergillus fischeri* A. MEA B. CYA25 C. CY20S besiyelerinde 5 günlük koloni görünüşleri D. Askus x100 E. Kleistotesyum x10 F. Konidial baş x40 G. Askospor x100 H. Konidiospor x100



Tartışma

İzolasyon için kullanılan "Toprağı Sulandırma Metodu", ilk olarak bakteri izolasyonu için uygulanmaya başlanmış, daha sonra funguslara uyarlanmıştır. Bu yöntem *Aspergillus* cinsi gibi fazla spor üreten fungusların izolasyonunda avantaj sağlamaktadır. Fazla spor üretiminden dolayı diğer bazı türlerin üremesinin baskılanması söz konusu olabilir. Bu durum, petri kabına daha fazla paralel ekim yapılarak azaltılabilir, nitekim çalışmamızda ekimler 10 adet petri kabıyla yapılmıştır.

Elde edilen 52 adet fungal izolat üzerinde morfolojik ve moleküler tanımlama çalışmaları yapılmış ve 7 *Aspergillus* türü tespit edilmiştir. Fenotipik olarak tür düzeyinde tanımlanamayan türlerin varlığı moleküler veriler ile belirlenmiştir. *Aspergillus dimorphicus*'un morfolojik olarak *Aspergillus* Section *Cremeri*'ye ait olduğu bulunarak, tür düzeyinde teşhisi moleküler yöntem ile yapılmıştır. *Aspergillus affinis*'in *Aspergillus* Section *Circumdati*, *Aspergillus europaeus*'un *Aspergillus* Section *Cremeri* ve *Aspergillus spelaeus*'un *Aspergillus* Section *Flavipedes* bölümlerine ait oldukları bulunarak, tür düzeyinde teşhisleri moleküler yöntem ile yapılmıştır. *Aspergillus affinis*, *Aspergillus europaeus*, *Aspergillus spelaeus* türleri Türkiye için yeni kayıtlardır (Asan, 2004). Morfolojik çalışmalar ile teşhis edilemeyen bazı türler, moleküler yöntemlerle de ayırt edilememiştir. Morfolojik yöntemler ile bu örneklerin yalnızca *Aspergillus* Section *Nigri* üyesi türler oldukları tespit edilmiştir. 22A ve 26A kodlu örneklerin dizi analizleri yapılamamıştır. 23A ve 25A kodlu örneklerin blast analizleri sonucunda aynı Ident ve Query cover oranına sahip üç adet tür görülmektedir. Bunlardan *Aspergillus welwitschiae* ve *Aspergillus awamori* aynı Max score değerine sahiptir. 24A kodlu örneğin blast analizleri sonucunda aynı Ident ve Query cover oranı ve aynı Max score değerine sahip üç adet tür görülmektedir.

Teşhis için morfolojik, kolonyal ve moleküler tekniklerin birlikte kullanılması yararlıdır ve kıyaslama imkanı da vermektedir. Moleküler yöntemler gitgide gelişmesine rağmen yine de morfolojik ve kolonyal çalışmalar önemini korumaktadır (Asan, 2007).

Aspergillus tanımlamaları morfolojik tekniklere dayanmasına rağmen, DNA tabanlı moleküler çalışmalar da hız kazanmıştır (Gupta, 2016). Özellikle PCR yöntemleri, türe özgü primerler kullanarak hedef fungal gen bölgesini çoğaltan duyarlı yöntemlerdir (Goldman ve Osmani, 2008). Evrensel ribozomal DNA bölgelerine ITS (Internal Transcribed Spacer), büyük ribozomal alt birim D1-D2, β -tubulin (BenA) ve calmodulin (CaM) örnek

gösterilebilir (Balajee ve Ark., 2007). Bunların içinde ITS, fungusların resmi DNA barkodu olarak nitelendirilir. Ancak bu lokus bütün *Aspergillus* türlerini doğru tanımlamak için yeterli değildir (Gupta, 2016). Bazı durumlarda yakın türlerin ayırımını yapabilecek nükleotid farklılıklarına sahip değildir (Katoch ve Kapoor, 2014). Son dönemlerde filogenetik çalışmalarda, oldukça değişken intron bölgelerine sahip protein kodlayan genler tercih edilmektedir. Bu genlere, elongation factor 1 alpha, calmodulin, β -tubulin, actin ve histone genleri örnek gösterilebilir. Bunlar ITS'ye göre daha çok çeşitlilik gösterir ve daha elverişlidir. Çalışmamızda kullanılan calmodulin bölgesi, *Aspergillus* türlerinin ayırımında oldukça yararlıdır (Gupta, 2016).

Aspergillus cinsine bağlı türler toprakda bol bulunur. Birçok çalışmada en sık izole edilen toprak fungusları olarak görülmektedir. Örneğin; Çolakoğlu (2001)'nin İstanbul Belgrad Ormanı'nda yaptığı çalışmada, araştırma alanındaki topraklarda tür bakımından en zengin cins % 23.66 oranla *Aspergillus* olarak belirlenmiştir. Hasenekoğlu ve Sülün (1993) tarafından yapılan çalışma ve Eltem ve Ark. (2009) tarafından yapılan çalışmalarda da *Aspergillus carbonarius* ve *Aspergillus awamori* türleri tespit edilmiştir. *Aspergillus carbonarius*, Çöl (2006)'ün çalışmasında ve Göçmen ve Özkan (2001)'in çalışmasında tespit edilmiştir. *Aspergillus awamori*, Asan (1997)'in çalışmalarında tespit edilmiştir. *Aspergillus fischeri*, Öner (1970, 1973)'nin Çiğden ve Ekmekçi (1994)'nin ve Kara ve Bolat (2007)'in çalışmalarında da bulunmuştur. Çalıştığımız bölgede, Asan ve Ekmekçi (1994)'nin daha önce yaptığı çalışma da mevcuttur ancak sözkonusu çalışma moleküler yöntemlerle desteklenmediğinden, biyoçeşitliliği tam olarak yansıtmadığı düşünülmüş, nitekim iki araştırma arasında tür çeşitliliği bakımından farklılık olduğu görülmüştür.

Toprak fungusları, bakterilerle beraber topraktaki organik maddeleri parçalamaları bakımından toprak verimliliğinde önemlidirler. Toprak mikrobiyal çeşitliliği ve sayısının tespiti toprak verimliliğinin de durumda olduğuyla ilgili bize değerli bilgiler verir. Çalışmamızda, toprakda bol olduğu bilinen *Aspergillus* türleri üzerinde durularak, çalışılan bölgedeki biyoçeşitliliği araştırılmış, çeşitliliğin yüksek olduğu görülmüştür. Fungus açısından çok zengin olan toprak çalışmalarına çeşitliliği ortaya koymak oldukça zordur. Çalışmamızda yeni kayıtların tespit edilmiş olması kullanılan yönteminin biyoçeşitlilik çalışmaları için uygun olduğunu göstermektedir. Çalışılan bölgenin nehir taşmaları nedeniyle alüvyon bakımından zengin olması, *Aspergillus* tür çeşitliliğini desteklemiş olabilir.

Kaynaklar

- Adametz, L. Untersuchungen uber die niederen Pilze der Acker - krume. Inaugural-Dissertation. Leipzig, 78 pp, 1886. (Bu makalenin orijinaline ulaşılamamış, bilgiler Tresner ve Ark., 1954 ve Kanauja ve Ark., 1977'den alınmıştır).
- Asan, A., Ekmekçi, S., The Determination of *Penicillium* and *Aspergillus* in Edirne Soils and Their Seasonal distribution. *Turk. J. Biol.* 18 (4): 291-303, 1994.
- Asan, A. Trakya Bölgesi mısır tarlaları mikrofungal florası üzerinde araştırmalar-1. *Turk. J. Biol.* 21: 89-101, 1997.



- Asan, A., Ekmekçi, S. Contribution to the colonial and morphological characteristics of Some *Aspergillus* species isolated from soil. *J. Fac. Sci. Ege Univ.* 25 (1): 121-139, 2002.
- Asan, A. *Aspergillus*, *Penicillium* and related species reported from Turkey. *Mycotaxon.* 89 (1): 155-157, 2004 (Son güncelleme tarihi: 10 Şubat, 2015).
- Asan, A. Tıpta önemli mantarların filogenetik ve sistematigi. *İnf. Derg.* 21 (2): 21-31, 2007.
- Asan, A., Sarıca Ökten, S., Şen, B. Airborne and soilborne microfungi in the vicinity Hamitabat Thermic Power Plant in Kırklareli City (Turkey), their seasonal distributions and relations with climatological factors. *Environ. Mon. Assessment.* 164 (1-4): 221-231, 2010.
- Balajee, S. A., Houbraeken, J., Verweij, P. E., Hong, S-B., Yaghuchi, T., Varga, J., Samson, R. A. *Aspergillus* species identification in the clinical setting. *Stud. In Mycol.* 59 (1): 39-46. 2007.
- Bıyık, H., Törün, B., Geroğlu, Y., Poyrazoğlu Çoban, E., Başbülbul, G. Preservation and molecular identification of *Aspergillus* and *Penicillium* species with ITS-PCR. *Eur. J. Biotechnol. Biosci.* 4 (11): 4-7, 2016.
- Brown, J. C. Soil fungi of some British sand dunes in relation to soil type and successions. *Ecology.* 46: 641-664, 1958.
- Bruns, T. D., White, T. J., Taylor, J. W. Fungal molecular systematics. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 22: 525-564, 1991.
- Cireli, B., Öztürk, M. Bitki ekolojisi uygulamaları. Ege Üniv Fen Fak. Yay. 21-25, 1973.
- Çiğden, N., Ekmekçi, S. Yamanlar Dağı güney yamacı mikrofungus florasının araştırılması. *XII. Ulusal Biyoloji Kongresi. Botanik sekiyonu posterler kitabı.* Cilt II, 137-140, Edirne, 1994.
- Çolakoğlu, G. İstanbul/Belgrad Ormanı'nda karaçam (*Pinus nigra* Arnold.) ve meşe (*Quercus* spp.) meşçerelerinin topraklarındaki mikrofungus floraları ve bunların karşılaştırılması üzerine bir araştırma. *İstanbul Üniv. Orman Fak. Derg.* 51 (1): 95-116, 2001.
- Çolakoğlu, G. Karaçam (*Pinus nigra* Arnold.) meşçerelerinin topraklarındaki mikrofungus florası üzerinde araştırmalar. *İstanbul Üniv. Orman Fak. Derg.* 52 (1): 115-124, 2002.
- Çöl, A. Değişik ekolojik koşullarda saksı toprağında bulunan alerjik küf florasının saptanması. YL tezi. Marmara Üniv. Fen Bil. Enst. İstanbul, 2006.
- Domsch, K. H., Gams, W., Anderson, T. H. Compendium of soil fungi, Vol. 1, pp. 77-124, Academic Press, London, 1980.
- Eltem, R., Taşkın, E., Pazarbaşı, S. Biodiversity and flora of microfungi from sultana-type vineyard soils in Turkey. *Fres. Environ. Bull.* 18 (1): 82-86, 2009.
- Games, W., Van der Aa, H. A., Van der Plaast-Niterink, A. J., Samson, R. A., Stallpers, J. A. CBS Course of mycology. CBS-Centraalbureau Voor Schimmelcultures Baarn, p. 137, 1987.
- Goldman, G. H., Osmani, S. A. The *Aspergilli* genomics, medical aspects, biotechnology, and research methods. CRC Press Taylor & Francis Group, 2008.
- Göçmen, H., Özkan, V. K. A research on the microfungus flora of some greenhouse soils in the vicinity of Lapseki Çanakkale, Turkey. *Mycopathol.* 153 (2): 103-112, 2001.
- Gupta, V. K. New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering: *Aspergillus* system properties and applications. Chapter 3: Molecular Evolution of *Aspergillus*, Elsevier, 41-51 pp., 2016.
- Hasenekoğlu, İ., Sülün, Y. Erzurum Aşkale çimento fabrikasının kirlettiği toprakların mikrofungus florası üzerine bir araştırma. *Turk. J. Bot.* 15 (1): 20-27, 1990.
- Hasenekoğlu, İ. Toprak Mikrofungusları, Cilt I, Atatürk Üniv. Yay. No: 689, Kazım Karabekir Eğitim Fak. Yayınları No: 11, Erzurum, 1991.
- Hocking, A. D., Pitt, J. I. Dichloran-glycerol medium for enumeration of xerophilic fungi from low-moisture foods. *Appl. Environ. Microbiol.* 39: 488-492, 1980.
- İlhan, S., Asan, A. Soilborne fungi in wheat fields of Kırka Vicinity (Eskişehir-Turkey). *Biologia.* 56 (4): 363-371, 2001.
- İlhan, S., Demirel, R., Asan, A., Bayçu, C., Kınacı, E. Colonial and morphological characteristics of some microfungus species isolated from agricultural soils in Eskişehir Province (Turkey). *Turk. J. Bot.* 30 (2): 95-104, 2006.
- Kanaujia, R.S., Singh, C.S. Studies on certain ecological aspects of soil fungi VI. Fungi in relation to locality type, cover vegetation and physico-chemical characters of the soils. *Sydowia.* 30: 112-121, 1977/1978.
- Kara, Ö., Kuzey Trakya dağlık yetişme ortamı bölgesindeki meşe, kayın ve karaçam ormanlarındaki toprak mikrofungusları. *Anadolu Üniv. Bil. Teknol. Derg.* 6 (2): 167-174, 2005.
- Kara, Ö., Bolat, İ. Influence of soil compaction on microfungus community structure in two soil types in Bartın Province, Turkey. *J. Basic Microbiol.* 47: 394-399, 2007.
- Katoch, A., Kapoor, P. Recent concepts in fungal taxonomy: A review. *Research and Reviews: J. Agr. Allied Sci.* 3 (2): 23-35, 2014.
- Klich, M. A. Identification of common *Aspergillus* Species. 1. Baskı. 122 pp., Published by the Centraalbureau voor Schimmelcultures-CBS, Utrecht, The Netherlands, 2002.
- Machida, M., Gomi, K. *Aspergillus*: Molecular biology and genomics. Chapter 1: An overview of the genus *Aspergillus*. Joan W. Bennett, Caister Academic Press, 2010.
- Öner, M. Soil microfungi of Turkey. *Mycopathol. Mycol. Appl.* 42: 81-87, 1970.
- Öner, M. Atatürk Üniversitesi Erzurum Çiftliği Eğirli Dağı kuzey yamacı ve Trabzon-Hopa sahil şeridi mikrofungus florası ile ilgili bir araştırma. Atatürk Üniv. Yay. No: 158, Sevinç Matbaası, Ankara, 1973.
- Özdemir, B. G., Bıyık, H., Kalyoncu, F., Kalmış, E., Oryaşın, E., Aydın. İzmir ve Manisa illerinde endüstriyel atıksular ile kirlenmiş toprakların mikrofungus florasının belirlenmesi. *Ekoloji.* 20(80): 66-73, 2011.
- Paul, E. A., Soil microbiology, ecology and biochemistry. Elsevier Academic Press, 2007.
- Raper, K. B., Fennell, D. I. The Genus *Aspergillus*. The Williams and Wilkins Company, 686 pp., Baltimore, USA, 1965.
- Raper, K. B., Thom, C. A manual of Penicillia. The Williams and Wilkins Company, Baltimore, 1949.



- Rodrigues, P., Soares, C., Kozakiewicz, Z., Paterson, R. R. M., Lima, N., Venâncio, A. Identification and characterization of *Aspergillus flavus* and aflatoxins. Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology, A. Mendez-Vilas Ed., Formatex, p.527-534, 2007.
- Rossmann, A., Tulloss, R., Dell, T., Thorn, R. G. Protocols for an all taxa biodiversity inventory of fungi in a Costa Rican conservation area. Parkway Publishers, pp. 195, Inc. Boone, North Carolina, 1998.
- Samson, R.A., Houbraken, J., Thrane, U., Frisvad, J.C., Andersen, B. Food and indoor Fungi, CBS KNAW Biodiversity Center, Utrecht, 2010.
- Samson RA, Visagie CM, Houbraken J, Hong SB, Hubka V, Klaassen CH, Perrone G, Seifert KA, Susca A, Tanney JB, Varga J, Kocsubé S, Szigeti G, Yaguchi T, Frisvad JC. Phylogeny, identification and nomenclature of the Genus *Aspergillus*. *Stud. In Mycol.* 78: 141-173, 2014.
- Singh, S., Sandhu, D. K. Thermophilous fungi in port blair sails. *Can. J. Bot.* 64: 1018-1026, 1986.
- Sülün, Y., Hasenekoğlu, İ. A study on *Aspergillus* Mich ex Fr. and *Penicillium* Link ex Gray flora of the soils of Northeast Anatolia. Türkiye. *Turk. J. Bot.* 17: 49-60, 1993.
- Sümer, S. Genel Mikoloji. 1. Basım, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara, 2006.
- Tansey, M. R., Jack, M. A. Thermophilic fungi in sun-heated soils. *Mycologia.* 68: 1061-1075, 1976.
- Tresner, H.D., Backus, M.P., Curtis, J.T. Soil microfungi in relation to the hardwood forest continuum in Southern Wisconsin. *Mycologia.* 46 (3): 314-333, 1954.
- Waksman, S. A. A method counting the numbers of fungi in the soil. *J. Bact.* 7: 339-341, 1922.
- Waksman, S. A. Principles of soil microbiology. The Williams & Wilkins Company, 1927.
- Waksman, S. A. Soil Microbiology, John Wiley and Sons Inc., p. 356, New York, 1952.



Geliş(Received) :26/04/2018
Kabul(Accepted) :02/07/2018

Research Article
Doi:10.30708/mantar.418912

Septoria Sacc. (Mycosphaerellales) Species Determined in Aladağlar and Bolkar Mountains (Turkey)

Şanlı KABAKTEPE¹, Ilgaz AKATA*²

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

¹Malatya Turgut Özal University, Battalgazi Vocat Sch., Battalgazi, Malatya, Turkey

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

Abstract: In the current study, nine *Septoria* species were determined in Aladağlar and Bolkar Mountains (Turkey) on the ten different host plants. Among them, *Septoria alnicola* Cooke on *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. (*Betulaceae*) and *Septoria antirrhini* Desm. on *Antirrhinum majus* L. (*Plantaginaceae*) are new records for Turkish mycobiota and also *Cyclamen cilicium* is the new host for *Septoria cyclaminis* Durieu & Mont. Short descriptions of the newly reported species were provided together with macro and microphotographs and discussed briefly.

Key words: *Septoria*, Aladağlar, Bolkar mountains, New records, Turkey

Aladağlar ve Bolkar Dağları'ndan Belirlenen *Septoria* Sacc. (*Mycosphaerellales*) Türleri

Öz: Mevcut çalışmada, Aladağlar ve Bolkar Dağları'ndan (Türkiye) 10 farklı konakçı bitki üzerinden 9 *Septoria* türü belirlenmiştir. Bu türlerden *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. (*Betulaceae*) üzerinde *Septoria alnicola* Cooke ve *Antirrhinum majus* L. (*Plantaginaceae*) üzerinde *Septoria antirrhini* Desm. Türkiye mikobiyotası için yeni kayıttır ve ayrıca *Cyclamen cilicium* Boiss. & Heldr. *Septoria cyclaminis* Durieu & Mont. için yeni konakçısıdır. Yeni kayıt olarak verilen türlere ait kısa tanımlamalar ile makro ve mikrofotoğrafları verilerek kısaca tartışılmıştır.

Anahtar kelimeler: *Septoria*, Aladağlar, Bolkar Dağları, yeni kayıtlar, Türkiye

Introduction

Aladağlar and Bolkar Mountains are situated in the C5 grid square according to the system adopted by Davis (1965). The region is located in the eastern part of the Central Taurus Mountains complex in southern Anatolia and surrounded by Kayseri in the north east, Niğde and Ereğli in the north west, Karaman in the west, Mersin in the south and Adana in the south east (Figure 1). The southern slopes of the study area has the characteristics of Mediterranean climate features, while the northern slopes of the study area reflects the semi-arid climate (Akman, 1999; Gemici, 1994).

Septoria Sacc. is an anamorphic and very large genus of pycnidia-producing fungi causing a range of disease symptoms including leaf and fruit spots in many cultivated and wild plants. More than 3000 published names of species including many synonyms have been listed under the genus; however, some estimates of true

numbers of this genus range from 1000 to 2000 (Kirk et al., 2008; Seifbarghi et al., 2009; Verkley et al., 2013). Teleomorphs are known just for a small number of species which are classified in *Mycosphaerella* Johanson and *Sphaerulina* Sacc. (Priest, 2006).

According to literature (Hüseyin and Selçuk, 2002; Hüseyin et al., 2016; Selçuk et al., 2009; Ekici et al., 2012; Erdoğdu et al., 2017; Kabaktepe and Bahçecioğlu, 2006; Kabaktepe et al., 2013), there is not any record of *Septoria alnicola* Cooke and *Septoria antirrhini* Desm. in Turkey.

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

Materials and methods

Infected plant samples were collected from Aladağlar and Bolkar mountains (Kayseri, Niğde, Konya, Karaman, Mersin, Adana) in Turkey between 2013 and 2016. Host plants were identified using the Flora of Turkey and East

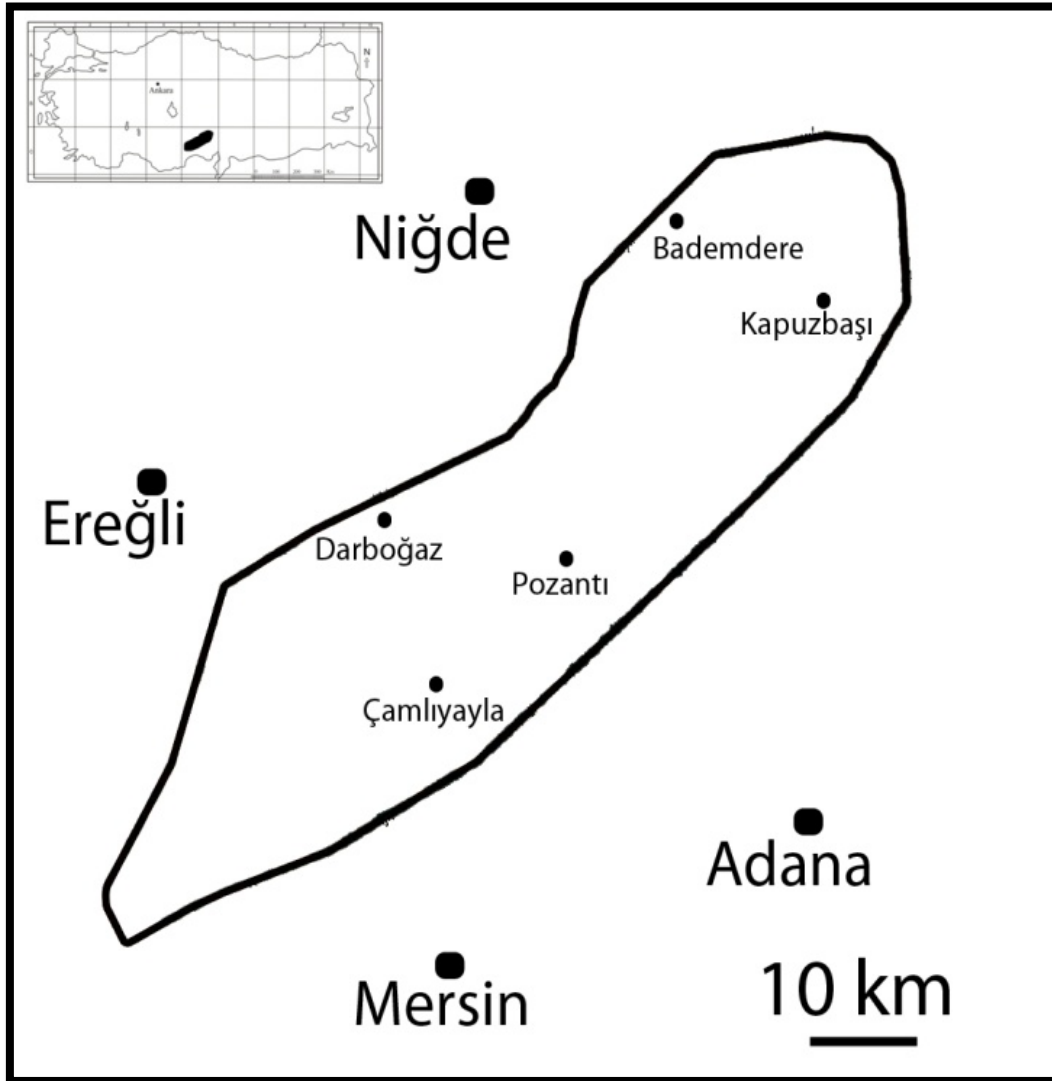


Figure 1. Map of study area

Aegean Islands (Davis, 1965-1988). The fungal specimens were examined microscopically. Spores were scraped from dried host specimens. Macro photographs were taken under a stereo microscope (Novex trinocular zoom stereo microscope RZT-SF). Micro photographs were taken under a light microscope (Noveks B series 1000). Analysis LS Starter software was used for sizing the spores and sporophores. The current names of fungi were given according to Ur1. Names of host plants and families were given according to Ur2. The microfungi were identified using the relevant literature (Saccardo 1884, Priest, 2006; Sutton, 1980). All specimens examined were kept in the İnönü University Herbarium (INU) in Malatya (Turkey).

Results

Ascomycota

Dothideomycetes

Mycosphaerellales

Mycosphaerellaceae

Septoria Sacc.

1. ***Septoria alnicola*** Cooke, Handb. Brit. Fungi 1: 451 (1871). Figure 2.

Spots amphigenous, rounded, 5–7 mm long, light brown-black. Pycnidia minute, 40-70 μm in diameter, scattered over the spots, semi-innate, black, pierced at the apex. Conidia oblong, attenuate both ends, straight to curved, 18–50 \times 2–3.5 μm , 1–3-septate, usually 2-septate, hyaline.



Specimen examined: On *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. (*Betulaceae*), Mersin: Tarsus, Söğütlü Village, 575 m, 08.10.2013, Ş. Kabaktepe & I. Akata 7335; Mersin: Sebil, 980 m, 26.04.2014, Ş. Kabaktepe & I. Akata 7388; Mersin: Çamlıyayla, between Olukkaya-Fakılar, 560 m,

22.05.2014, Ş. Kabaktepe & I. Akata 7482; Mersin: Çamlıyayla, Kadıncık valley, Kuzbağı located, 1300-1350 m, 26.06.2015, Ş. Kabaktepe & I. Akata 8140; Mersin: Çamlıyayla, Fakılar, Kadıncık valley 9. km, 680-700 m, 26.08.2015, Ş. Kabaktepe & I. Akata 8194.



Figure 2. *S. alnicola* on *Alnus glutinosa* A- dried herbarium specimen; B- infected plant leaves; C- LM view of Pycnidium; D- LM view of Conidiospores.



2. *S. antirrhini* Desm., Notul. Pl. Crypt.: 3, no. 2175 (1825). Figure 3.

Spots amphigenous, rounded to oblong, 2–3 mm long, light brown. Pycnidia amphigenous, 45–90 μm in diameter, common, immersed, brown. Conidia cylindrical to oblong, attenuate or acute both ends,

straight to slightly curved, 15–30 \times 2–2.5 μm , 4–7-septate, hyaline.

Specimen examined: On *Antirrhinum majus* L. (*Plantaginaceae*), Niğde: Ulukışla, 8–10 km south Emirler village, 1800–1900 m, 13.07.2014, Ş. Kabaktepe & I. Akata 7528.



Figure 3. *S. antirrhini* on *Antirrhinum majus* A- dried herbarium specimen; B- infected plant; C- LM view of Pycnidium; D- LM view of Conidia



3. *S. convolvuli* Desm., Annls Sci. Nat., Bot., sér. 2 17: 108 (1842).

Specimen examined: On *Convolvulus arvensis* L. (*Convolvulaceae*), Mersin: Çamlıyayla, Kadıncık valley, Papazın bahçesi located, 820-850 m, 26.06.2015, Ş. Kabaktepe & I. Akata 8155. Mersin: Tarsus, 2 km from Gülek to Karboğazı, 1300-1350 m, 22.05.2014, Ş. Kabaktepe & I. Akata 7496; On *Convolvulus sepium* L. Adana, Pozantı, Akçatekir plateau, 920-1000 m, 22.05.2014, Ş. Kabaktepe & I. Akata 7502.

4. *S. cyclaminis* Durieu & Mont., in Montagne, Syll. gen. sp. crypt. (Paris): 279 (1856).

Specimen examined: On *Cyclamen cilicium* Boiss. & Heldr. (*Primulaceae*) Kayseri: Yahyalı, Kapuzbaşı waterfall, 650-700 m, 18.09.2014, Ş. Kabaktepe & I. Akata 7494.

5. *S. dimera* Sacc., Michelia 2 (no. 6): 102 (1880).

Specimen examined: On *Silene* sp. (*Caryophyllaceae*) Kayseri: Yahyalı, Derebağ village, 1200-1400 m, 25.09.2013, Ş. Kabaktepe & I. Akata 7165; Adana: Aladağ, Gerdibi village, 27.09.2013 Ş. Kabaktepe & I. Akata 7239.

6. *S. elaeagni* (Chevall.) Desm., Annls Sci. Nat., Bot., sér. 3 21: 4 (1853).

Specimen examined: On *Elaeagnus angustifolia* L. (*Elaeagnaceae*) Mersin: Çamlıyayla, Kadıncık valley, Kozpınar located, 900-950 m, 26.06.2015, Ş. Kabaktepe & I. Akata 8136.

7. *S. ornithogali* Pass., in Thümen, Flora, Regensburg 60: 207 (1877).

Specimen examined: On *Ornithogalum montanum* Cirillo (*Asparagaceae*) Kayseri, Yahyalı, Derebağ waterfall, 1270 m, 17.09.2014, Ş. Kabaktepe & I. Akata 7758; Mersin:

Çamlıyayla, Sebil, Cehennem Deresi, Pınarlıbük located, 720-780 m, 01.11.2014, Ş. Kabaktepe & I. Akata 7975.

8. *S. rubiae* (Pat.) Bubák & Ranoj., Annls mycol. 8(3): 390 (1910).

Specimen examined: On *Rubia tinctorum* L. (*Rubiaceae*), Kayseri: Yahyalı, Kirazlı village, 1220 m, 05.10.2013, Ş. Kabaktepe & I. Akata 7271; Konya: Halkapınar, 5 km from Kayasaray to Çakıllar, 1350-1400 m, 14.07.2014, Ş. Kabaktepe & I. Akata 7564; Kayseri, Yahyalı, Derebağ waterfall, 1270 m, 17.09.2014, Ş. Kabaktepe & I. Akata 7759.

9. *S. verbenae* Roberge ex Desm., Annls Sci. Nat., Bot., sér. 3 8: 19 (1847).

Specimen examined: On *Verbena officinalis* L. (*Verbenaceae*), Mersin: Çamlıyayla, Kadıncık valley, Kozpınar located, 900-950 m, 26.06.2015, Ş. Kabaktepe & I. Akata 8135.

Discussion

As a result of the present study, 9 *Septoria* species on 10 different host plant species were determined. Among them, *S. alnicola* (on *Alnus glutinosa*), and *S. antirrhini* (on *Antirrhinum majus*) were reported for the first time from Turkey (Table 1).

Tracing to literature on Turkish *Septoria* (Hüseyin and Selçuk, 2002; Hüseyin et al., 2016; Selçuk et al., 2009; Ekici et al., 2012; Erdoğan et al., 2017; Kabaktepe and Bahçecioğlu, 2006; Kabaktepe et al., 2013) 85 species on 78 host plants have previously been reported from Turkey.

With the present study, *S. alnicola* and *S. antirrhini* are recorded for Turkish *Septoria* for the first time and *Cyclamen cilicium* was determined as a new host for *S. cyclaminis*. So the number of Turkish *Septoria* species and host plants increased to 87 and 81 respectively.

Table1. *Septoria* species and their host plants determined in the study area

	Species	Host species
1.	<i>S. alnicola</i>	<i>Alnus glutinosa</i>
2.	<i>S. antirrhini</i>	<i>Antirrhinum majus</i>
3.	<i>S. convolvuli</i>	<i>Convolvulus arvensis</i>
		<i>Convolvulus sepium</i>
4.	<i>S. cyclaminis</i>	<i>Cyclamen cilicium</i>
5.	<i>S. dimera</i>	<i>Silene</i> sp.
6.	<i>S. elaeagni</i>	<i>Elaeagnus angustifolia</i>
7.	<i>S. ornithogali</i>	<i>Ornithogalum montanum</i>
8.	<i>S. rubiae</i>	<i>Rubia tinctorum</i>
9.	<i>S. verbenae</i>	<i>Verbena officinalis</i>

Acknowledgements

We are indebted to TÜBİTAK (Project no. 113Z093) for its financial support.



References

- Akman Y., *İklim ve Biyoiklim (Biyoiklim Metodları ve Türkiye İklimleri)*, 1. Baskı, Kariyer Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara(1999).
- Davis P.H. (ed.), *Flora of Turkey and the east Aegean islands*, Vol. 1-10, Edinburgh Univ Press, Edinburgh(1965-1988).
- Ekici T, Erdoğan M, Aytaç Z, Suludere Z., *Septoria species in Kıbrıs Village Valley (Ankara, Turkey)*, Nova Hedwigia, 95: 483–491(2012).
- Erdoğan M., Suludere Z, Hüseyin E., *Additions to the leaf pathogenic fungi of Turkey*, Plant Pathology & Quarantine, 7(1): 16–19(2017).
- Gemici, Y., *Bolkar Dağlarının (Orta Toroslar) Flora ve Vegetasyonu Üzerine Genel Bilgiler*, Turkish Journal of Botany, 18(2):81–89(1994).
- Hüseyin E., Selçuk F., *A new species of Septoria*, Pakistan Journal of Botany, 34 (2):113-115(2002).
- Hüseyin E., Selçuk F., Churakov B.P., Romanova T.A., *Microfungi on forest trees and shrubs of Düzce Province (Turkey) and Ulyanovsk Region (Russia)*, Mikologiya I Fitopatologiya, 50 (1):35-42(2016).
- Kabaktepe Ç., Bahçecioğlu Z., *Microfungi identified from the flora of Ordu Province in Turkey*, Turkish Journal of Botany, 30: 251-265(2006).
- Kabaktepe Ş., Mutlu B., Karakuş Ş., *New records of microfungi from Malatya province in Turkey*, Hacettepe Journal of Biology and Chemistry, 41 (3): 221-224(2013).
- Kirk P., Cannon P.F., Minter D.W., Stalpers J.A., *Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi, 10th edn*, CAB International, Wallingford, UK(2008).
- Priest M.J., *Fungi of Australia: Septoria*, ABRS, Canberra, CSIRO Publishing, Melbourne, Australia (2006).
- Saccardo P.A., *Sylloge Fungorum Omnium Hucusque Cognitorum Vol 3*, J. W. Edwards, Patavii, Italy(1884).
- Seifbarghi S., Razavi M., Aminian H., Zare R., Etebarian H.R., *Studies on the host range of Septoria species on cereals and some wild grasses in Iran*, Phytopathologia Mediterranea, 48: 422-429(2009).
- Selçuk F., Erdoğan M., Akgül H., Hüseyin E., *The genus Septoria Sacc. in Turkey*, Mycopath, 7 (1): 21–28(2009).
- Sutton B.C., *The Coelomycetes*, Commonwealth Mycological Institute, Kew, UK(1980).
- Verkley G.J.M., Quaedvlieg W., Shin H.D., Crous P.W., *A new approach to species delimitation in Septoria*, Studies in Mycology, 75: 213–305(2013).
- Url. 1: <http://www.indexfungorum.org>. (accessed: 2 April 2018).
- Url2. <http://www.theplanlist.org>.(accessed: 2 April 2018).



Geliş(Received) :21/05/2018
Kabul(Accepted) :11/07/2018

Araştırma Makalesi
Doi:10.30708/mantar.425572

Erzincan Tulum Peynirlerinden İzole Edilen Fungal Türler

Gülçin ERKOL*, Günay Tülay ÇOLAKOĞLU**

Sorumlu yazar: gtcolak@marmara.edu.tr

* Biruni-Centro Laboratuvarları Gürsel Mh. Kağıthane Cd. 14/3 34400
Kağıthane/İSTANBUL

**Marmara Üniversitesi Göztepe Kampüsü Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü
34722 Kadıköy/İSTANBUL

Öz: Bu çalışma 2012-2013 yılları arasında yapılmıştır. Erzincan ilinde ilkbahar, yaz, sonbahar ve kış mevsimlerinde çeşitli üretim ve satım yerleri ile evlerden toplanan tulum peyniri örneklerinde gelişen mikrofungusların belirlenmesi amaçlanmıştır. Örneklerin bulunduğu bidonların üst kısımları steril misina ile kesilerek çıkartılmış ve hava ile temas etmeyen yüzeylerinden steril spatüller aracılığı ile alınarak steril tek kullanımlık örnek kaplarına koyulmuştur. Soğuk taşıma çantaları ile çalışılacak laboratuvar ortama getirilerek makroskopik ve mikroskopik incelemeler yapılmıştır. Peynirlerden 200 fungal izolat tespit edilmiş ve bunlardan 5 cinse (*Aspergillus*, *Fusarium*, *Geotrichum*, *Penicillium* ve *Cladosporium*) ait 14 tür (*Aspergillus flavus*, *A. niger*, *A. parasiticus*, *A. versicolor*, *Fusarium oxysporum*, *Geotrichum candidum*, *Penicillium chrysogenum*, *P. echinulatum*, *P. griseofulvum*, *P. palitans*, *P. roqueforti*, *P. solitum*, *P. verrucosum* ve *Cladosporium herbarum*) izole edilip tanımlanmıştır.

Anahtar kelimeler: Erzincan, Tulum peynirleri, fungus, Türkiye

Fungal Species Isolated from Erzincan Tulum Cheeses

Abstract: This study was carried out between 2012-2013 years. Aim of this study is to determine microfungi that developed from tulum cheese samples collected from various workshops, shops and houses in the spring, summer, autumn and winter seasons from Erzincan city. The tops of the containers in which the samples were excised with a sterile gutand the surfaces not in contact with the air taken through sterile spatula were placed into sterile disposable specimen containers. The taken samples were brought to the laboratory with cold carrier bags and macroscopic and microscopic investigations were carried out. 200 fungal isolates were identified from the cheeses and 14 species (*Aspergillus flavus*, *A. niger*, *A. parasiticus*, *A. versicolor*, *Fusarium oxysporum*, *Geotrichum candidum*, *Penicillium chrysogenum*, *P. echinulatum*, *P. griseofulvum*, *P. palitans*, *P. roqueforti*, *P. solitum*, *P. verrucosum* and *Cladosporium herbarum*) belonging to 5 genera (*Aspergillus*, *Fusarium*, *Geotrichum*, *Penicillium* and *Cladosporium*) were isolated and described.

Key words: Erzincan, Tulum cheeses, fungus, Turkey

Giriş

Peynirin tarihçesine baktığımızda ilk peyniri "Kanana" adında bir Arap seyyahın koyun midesinde yapılmış bir torbada taşıdığı sütün pıhtılaşp peynirleşmesiyle bulduğu söylenir. Herodot, Hypokrates, Strabo ve Nikolaus gibi birçok bilim adamları ise peynirin ilk kez İskit Türkleri tarafından kısrak sütünün ekşitilmesi yoluyla yapıldığını ileri sürmektedirler. Ayrıca İsviçre'de

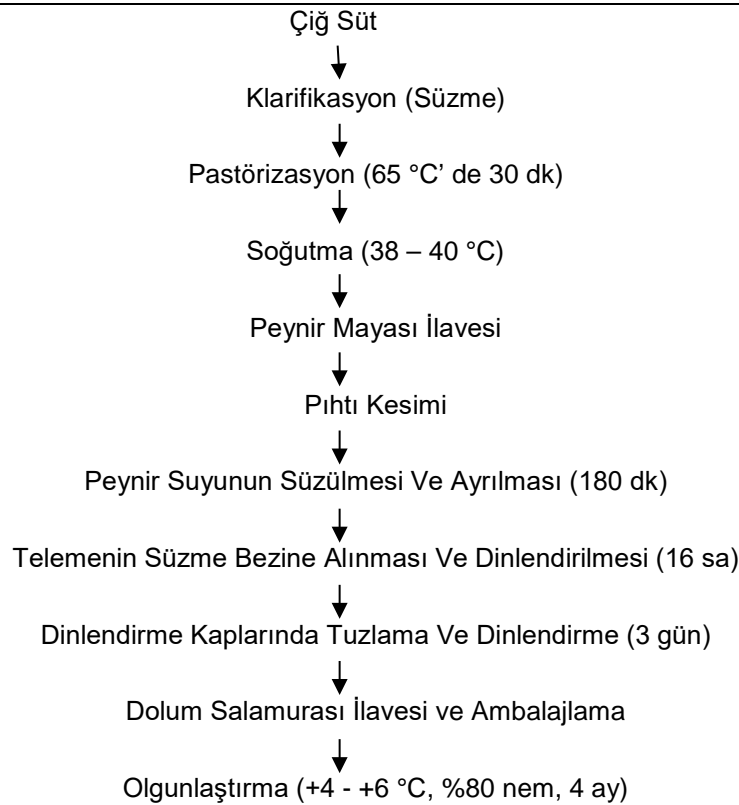
yapılan kazılarda göl kenarında yaşayan kavimlere ait mezarlarda sığır iskeletleri yanında peynir yapımında kullanılmış aletlere rastlanıldığı bildirilmektedir. Bu bilgiler ışığında peynirin geçmişinin 4000 yıl önceye dayandığı söylenebilir (Sert, 1985). Daha sonraları ise insanlar kendi buldukları yerlerdeki yaşam koşullarına, beslenme tarzlarına, örf ve adetlerine göre çeşitli şekillerde peynir üretmeye devam etmişlerdir.



Ülkemizde ise peynir çeşidi olarak en çok beyaz peynir, kaşar peyniri ve tulum peyniri (Tablo 1) üretilmektedir. Bunların yanı sıra yöresel farklılıklara sahip henüz tanımlanmamış pek çok peynir türü bulunmaktadır (Durlu-Özkaya ve Gün, 2007).

Doğu Anadolu Bölgesi'nde Erzincan ili ile özdeşleşmiş olan, adını üretildiği ve saklandığı materyalden alan tulum peyniri beyazdan sarıya kadar değişen renklerde olup bazıları hoş gitmeyen tat ve kokuya sahiptirler (Duman Aydın ve Gülmez, 2008).

Tablo 1. Erzincan Tulum Peyniri Üretim Akış Şeması (Tekinşen ve Akar, 2017)



Besin değeri yüksek olan tulum peyniri mikroorganizmaların yaşamaları için uygun bir ortamdır. Bu mikroorganizmaların bazıları endüstriyel olarak gıdanın üretilmesinde rol oynarken bazıları ise gıdanın kalitesinin düşmesine ve insanlarda gıda zehirlenmesine neden olmaktadır. Tulum peynirinde tat, koku, görüntü ve şekil bozukluklarına neden olarak ürün kalitesini bozan mikroorganizmalar arasında bakteri ve mikrofunguslar (küf ve mayalar) önemli yer tutmaktadır (Sert, 1985). Mikroorganizmaların sebep olduğu bozulmalar ürünlerin çeşitli bölgelerinde görüldüğü gibi tulum peynirlerinin genellikle üst yüzeylerinde ve tüketim aşamasına kadar saklandıkları materyal ile temas ettikleri yüzeysel bölgelerde görülmektedir.

Endüstriyel mikrobiyolojide bazı mikrofunguslardan değişik metodlar ve teknikler kullanılarak içkiler, gliserol, yağlar, organik asitler, vitaminler, antibiyotikler, enzimler ve çeşitli fermente ürünlerin üretildiği bilinmektedir (Topal, 1986a; Topal, 1986b).

Fakat 1960'lı yıllardan beri yapılan çalışmalarda bazı mikrofungusların toksik etkili metabolitler oluşturdukları ve bunların kanser yapıcı ajanlardan oldukları saptanmıştır (Korukluoğlu ve Ark.1998; Özkalp ve Durak,1998). Araştırmalarda 300.000' den fazla fungus türünün olduğu bulunmuş ve bunlardan 250 kadarının toksin sentezleyebildiği, yaklaşık 20 türün de oluşturdukları mikotoksinler ile insan ve hayvanlarda sağlık açısından önemli rahatsızlıklara yol açtığı saptanmıştır (Van-Egmond, 1991; Vural, 1984).

Peynirlerde yapılan çalışmalara göre izolatların % 86.1' inin *Penicillium*, % 3' ünün *Aspergillus*, % 10.9' unun diğer mikrofunguslar olduğu tespit edilmiştir (Topal, 1986b). Bunlardan ortaya çıkan mikotoksinlerden aflatoksin ve penisilinin fazlası, insanlar için çeşitli olumsuz etkileri ortaya çıkarmıştır (Ciegler, 1975).

Bu çalışmada Erzincan tulum peynirlerinde gelişen mikrofunguslar, Erzincan ilinin çeşitli üretim yerlerinden toplanan numuneler üzerinden izole edilip, tayin edilmiştir.



Numunelerde hangi mikrofungus türlerinin bulunduğu ve baskın olduğu saptanmıştır. Çalışma sonunda elde ettiğimiz bilgiler doğrultusunda ülkemizde üretim ve tüketimi yüksek olan tulum peynirinde hem kalitenin artması, hem tüketici beklentilerinin karşılanması hem de insan sağlığının korunması sağlanmıştır. Gıda endüstrisinde önemli unsurlardan biri olan hijyene gereken önemin verilmesi açısından üreticilere ışık tutulmuştur.

Materyal ve Metot

Bu çalışmada Erzincan ilinde çeşitli üretim yerlerinde 2012 - 2013 yıllarında imal edilen farklı tulum peyniri çeşitlerinden ve evlerden 250' şer gram 2012 - 2013 yılları arasındaki ilkbahar, yaz, sonbahar ve kış

mevsimlerinde her mevsim 8 adet olmak üzere toplam 32 adet tulum peyniri örneği alınmıştır. Örnekler mevsimlere uygun şekillerde Nisan, Temmuz, Ekim ve Ocak aylarında Tablo 2' de belirtilen yerlerden alınmıştır.

Örnekler alınırken misina yardımı ile tulum peynirinin üst yüzeyi kesilmiştir. Böylelikle tulum peynirlerinin hava ile temas etmeyen kısımlarından steril spatüller ile numuneler alınmış ve steril numune kaplarına koyularak soğuk taşıma çantalarında 2 - 8 °C sıcaklıkta muhafaza edilerek çalışılacak laboratuvar ortamına getirilmiştir. Örnekler teşhisleri yapıncaya kadar buzdolabında kapların ağız kısımları sıkıca kapatılarak birbirleriyle teması önlenecek şekillerde muhafaza edilmiştir (Sert, 1992).

Tablo 2. Örnek alınan yerler

1. Adile Erkol	5. Özeren Peynircilik
2. Saliha Erdoğan	6. Kemah peynircilik
3. Aliye Karakurt	7. Refahiye Peynircilik
4. Saliha Uğurcan	8. Kerer Peynircilik

Çalışma için toplanan tulum peyniri örneklerinden 1 g olacak şekilde hassas terazi ile tartılarak alınan numunelerin her biri 10 ml steril fizyolojik su ile yoğurt kıvamına gelene kadar homojenize edilmiştir. Örnekler bakteriyel üremeyi baskılamak amacı ile 30 mg/l rosebengal ve 30 mg/l streptomisin ilave edilmiş Pepton Dekstroz Agara ekilmiş, oda sıcaklığında (22-26 °C' de) 7-10 gün inkübe edilmiş ve izole edilmiştir. Daha sonra üreyen her bir fungus kolonisi Malt Ekstrakt Agar (MEA), Patates Dekstroz Agar (PDA) ve Czapek's Agar (CZ) besiyeri ortamlarına pasaj alınmıştır. Pasaj alınan Petrilere oda sıcaklığında (22-26 °C' de) 7-10 gün inkübasyona bırakılmıştır ve saf kültürler elde edilmiştir. İnkübasyon süresince kolonilerin şekil, renk, koloni çapları, eksüdasyon ve pigmentasyon yapma gibi makroskopik özellikleri kaydedilmiştir. Kolonilerin tersten ve yüzeyden görünüşleri izlenmiştir (Erdoğan ve Ark. 2001).

Elde edilen saf kolonilerin mikroskopik yapılarının incelenmesi için lam-lamel arası preparatlar

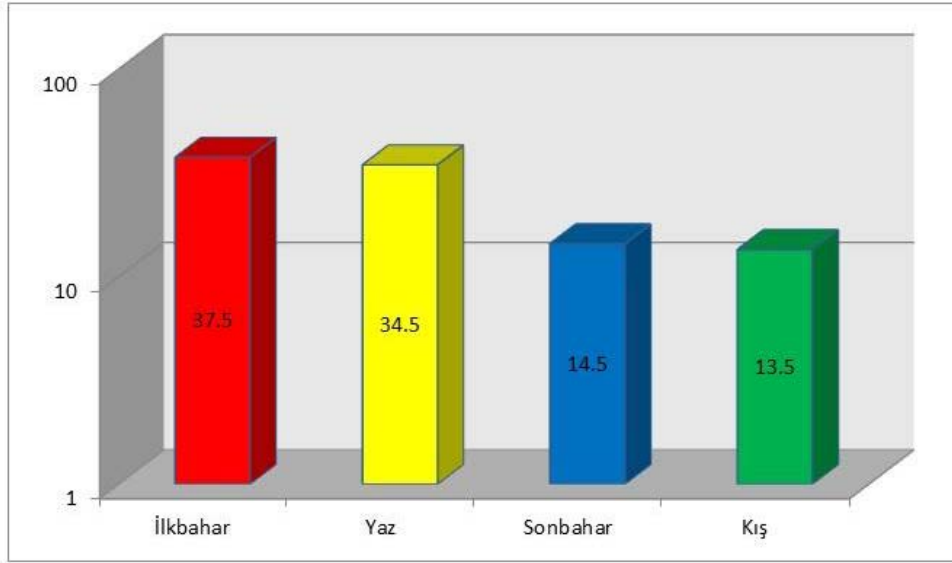
hazırlanmıştır. Mikrofungusların yapılarının rahat gözlemlenebilmesi amacıyla pikrik asitli laktofenol çözeltisi kullanılmıştır. Lam üzerine birkaç damla laktofenol damlatılarak üzerine steril öze ile alınan mikrofunguslar yerleştirilmiş ve üstleri lamel ile kapatılmıştır. Daha sonra hazırlanan preparatta lamellerin kenarları oje ile kapatılmıştır. Elde edilen saf kültürlerden hazırlanan preparatlardaki mikrofunguslar Olympus Cx22 marka mikroskopun okülerine yerleştirilen mikrometrik oküler disk kullanılarak mikronlarla ölçülmüştür. Her bir mikrofungusun bütün organları 50 kere ölçülmüş, ortalaması alınmış, yabancı eserlerden (Klich, 2002; Samson ve Ark., 2002) yararlanılarak teşhisleri yapılmıştır.

Bulgular

Erzincan ilinden 2012 - 2013 yılları arasındaki ilkbahar, yaz, sonbahar ve kış mevsimlerinde her mevsim 8 adet olmak üzere toplam 32 adet tulum peyniri örneğinden 200 koloni (Tablo 3, Şekil 1), 5 cinse (Tablo 4, Şekil 2) ait 14 tür (Tablo 5, Şekil 3) elde edilmiştir.

Tablo 3. Erzincan İlinde 2012 - 2013 Yılları Arasında İzole Edilen Fungusların Mevsimlere Göre Koloni Sayısı ve Yüzde Oranları

Mevsimler	Koloni Sayısı	%
İlkbahar	75	37.5
Yaz	69	34.5
Sonbahar	29	14.5
Kış	27	13.5
Toplam	200	100



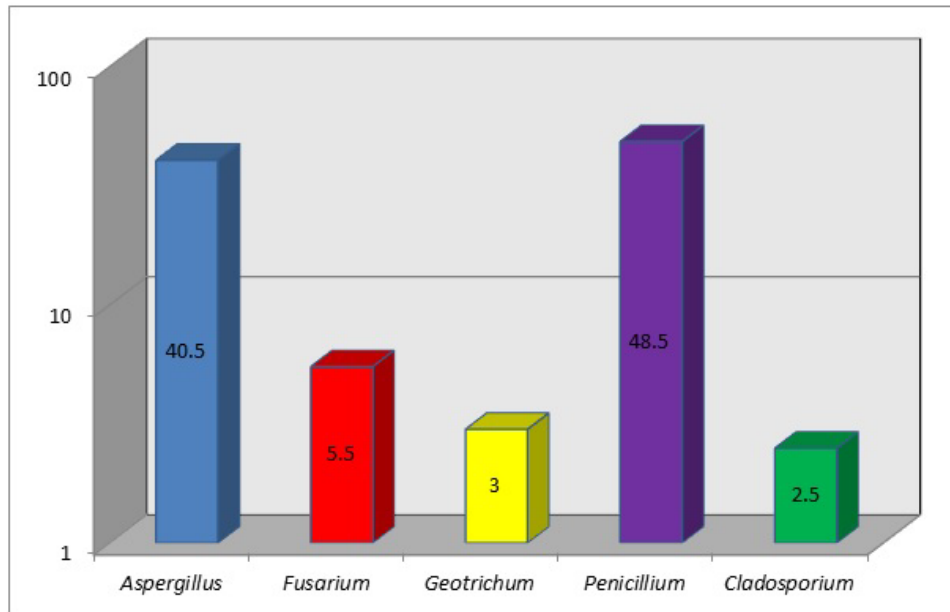
Şekil 1. Erzurum ilinde 2012-2013 yılları arasında izole edilen fungus kolonilerinin mevsimlere göre yüzde oranları

Toplamda en fazla izole edilen fungus cinsi % 48.5 oranla *Penicillium* olup, bunu % 40.5 oranla *Aspergillus*,

% 5.5 oranla *Fusarium*, % 3 oranla *Geotrichum* ve % 2.5 oranla *Cladosporium* takip etmiştir (Tablo 4, Şekil 2).

Tablo 4. Erzurum İlinde 2012 - 2013 Yılları Arasında İzole Edilen Fungus Cinslerinin Koloni Sayısı ve Yüzde Oranları

Cins	Koloni Sayısı	%
<i>Aspergillus</i>	81	40.5
<i>Fusarium</i>	11	5.5
<i>Geotrichum</i>	6	3
<i>Penicillium</i>	97	48.5
<i>Cladosporium</i>	5	2.5
Toplam	200	100



Şekil 2. Erzurum ilinde 2012-2013 yılları arasında izole edilen fungus cinslerinin yüzde oranları

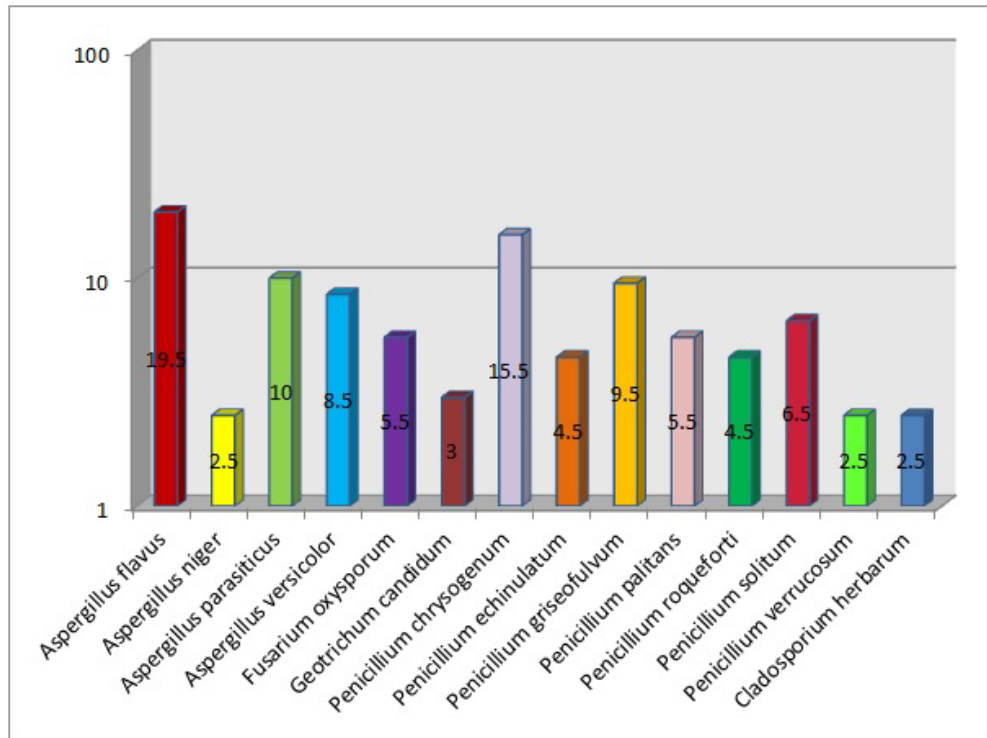


Çalışma sonucunda en fazla izole edilen tür % 19.5 oranla *Aspergillus flavus* olup, bunu % 15.5 oranla *Penicillium chrysogenum*, % 10 oranla *Aspergillus parasiticus*, % 9.5 oranla *Penicillium griseofulvum*, % 8.5 oranla *Aspergillus versicolor*, % 6.5 oranla *Penicillium solitum*, % 5.5 oranla *Penicillium palitans* ve *Fusarium*

oxysporum, % 4.5 oranla *Penicillium roqueforti* ve *Penicillium echinulatum*, % 3 oranla *Geotrichum candidum*, % 2.5 oranla *Aspergillus niger*, *Penicillium verrucosum* ve *Cladosporium herbarum* takip etmektedir (Tablo 5, Şekil 3).

Tablo 5. Erzincan İlinde 2012 - 2013 Yılları Arasında İzole Edilen Fungus Türlerinin Koloni Sayısı ve Yüzde Oranları

Tür	Koloni Sayısı	%
<i>Aspergillus flavus</i>	39	19.5
<i>Aspergillus niger</i>	5	2.5
<i>Aspergillus parasiticus</i>	20	10
<i>Aspergillus versicolor</i>	17	8.5
<i>Fusarium oxysporum</i>	11	5.5
<i>Geotrichum candidum</i>	6	3
<i>Penicillium chrysogenum</i>	31	15.5
<i>Penicillium echinulatum</i>	9	4.5
<i>Penicillium griseofulvum</i>	19	9.5
<i>Penicillium palitans</i>	11	5.5
<i>Penicillium roqueforti</i>	9	4.5
<i>Penicillium solitum</i>	13	6.5
<i>Penicillium verrucosum</i>	5	2.5
<i>Cladosporium herbarum</i>	5	2.5
Toplam	200	100



Şekil 3. Erzincan ilinde 2012-2013 yılları arasında izole edilen fungus cinslerinin yüzde oranları



Tartışma ve Sonuç

Erzincan tulum peyniri üretiminde kullanılan sütün temin edildiği hayvanların (inek veya koyun) açık alanlarda beslenmesi, havada bulunan mikroorganizmalar ile temas etmiş ürünleri tüketmesi ve hayvanların otlama işleminden sonra süt sağım aşamasına geçildiğinde memelerinin dezenfekte edilmemesi gibi unsurlar nedeni ile ilkbahar ve yaz aylarında izole edilen fungus oranı diğer mevsimlere göre artış göstermiştir (Tablo 3). Saprotik mikrofunguslar içinde *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* ve *Mucor* ların büyük önem taşıdığı ve bu mikrofungusların her iklimde geliştiği bildirilmiştir (Özçakmak ve Dervişoğlu, 2011) (Tablo 4). Çalışmada da *Penicillium* ve *Aspergillus* cins ve türleri dominant olarak izole edilmiştir (Tablo 4, Tablo 5). Çalışma sonucundaki verilerde *Penicillium* cins ve türleri diğer cins ve türlere oranla daha baskın durumdadır (Tablo 4, Tablo 5). Hava sıcaklığı ve nem gibi unsurların etkisi ile sonbahar ve kış mevsimlerinde izole edilen funguslarda en baskın cinsin *Penicillium* olması diğer çalışmalar ile paralellik göstermektedir. Araştırmalara göre *Cladosporium* türlerinin sıcak iklimlerde yüksek miktarda izole edildiği görülmüştür (Mitakasis ve Quest, 2001; Çolakoğlu, 2001). İzole edilen *Cladosporium herbarum* en fazla ilkbahar ve yaz mevsimlerinde görülmüştür (Tablo 5).

Peynirlerde bozulma etmeni hakim floranın *Penicillium* sp. ve bununla birlikte *Aspergillus* sp., *Mucor* sp., *Geotrichum* sp., *Rhizopus* sp., *Alternaria* sp., *Cladosporium* sp., *Trichoderma* sp. ve *Scopulariopsis* sp. cinsleri olduğu bildirilmiştir (Kure ve Ark., 2004; Rusu ve Sindilar, 2004; Nasser, 2001; Kure ve Skaar, 2000). *Penicillium* cinsi araştırma periyodu boyunca en çok bulunan mikrofungus olmuştur (Tablo 4).

Hymery ve Ark. (2014), Zerfirides (1985) ve Chapman ve Ark.(1981) peynirlerde mikrofungusların oluşturdukları mikotoksinlerle ilgili çalışmalar yapmışlardır. *Penicillium* cinsine ait 150 kadar tür ve bunlara ait 97 çeşit toksin tespit edilmiştir (Sert, 1992, Topal, 1987). Bunlardan okratoksin, penisilik asit, patulin, PR toksin, rokfortin, sitrinin, rubratoksin, siklopiazonik asit, izofumigaklavin, mikofenolik asit, penitrem gibi mikotoksinlerin peynirlerde oluşabileceği kaydedilmiştir (Sert, 1992). Çalışmada 32 adet tulum peynirinden izole edilen *Penicillium*' un koloni sayısı 97 ve oranı % 48.5 (Tablo 4) olup, mikrofunguslarla kontamine olmuş peynirleri tüketirken dikkatli olmak gerekmektedir.

Penicillium chrysogenum' un mikotoksini rokfortin C ve penisilin (Samson ve Ark., 2002) olup Tablo 5' te görüldüğü gibi % 15.5 oranında bulunmuştur. Mikotoksinler olarak, *Penicillium echinulatum*' un territrems, *Penicillium griseofulvum*' un rokfortin C, siklopiazonik asit, patulin, griseofulvin, *Penicillium palitans* 'in siklopiazonik asit, fumigaklavin A ve B ve *Penicillium solitum*' un siklofenin, siklofenol, siklopeptin metaboliti ürettikleri bildirilmiştir (Samson ve Ark., 2002). Bu mikrofungus türleri çalışmada izole edilmiştir (Tablo 5).

Penicillium roqueforti' nin (Tablo 5) bazı suşları rokfortin C, izofumigaklavin A ve B, PR toksin gibi

mikotoksinleri oluşturmaktadırlar (Samson ve Ark., 2002). PR toksin' in farelerde intraperitoneal yoldan 11 mg/kg, oral yoldan 115 mg/kg miktarlarının letal doz (LD₅₀) olduğu bulunmuştur (Sert, 1992). *P. roqueforti*' nin ürettiği toksik madde farelere enjekte edildiğinde nörotoksik etki yarattığı da görülmüştür (Topal, 1986b). Bu türün toksik olmayan suşları birçok ülkede peynirlere aroma kazandırmak için starter kültür olarak kullanılmaktadır.

Peynir yüzeyinde küflenmeye neden olan kontamine türler içinde okratoksin A (OTA) ve sitrinin gibi mikotoksinleri üretme yeteneğine sahip olan tür *Penicillium verrucosum* (Tablo 5) olup, OTA hem insan hem kümes hayvanlarında böbrek hastalıklarına neden olan nefrotoksik bir mikotoksindir (Kamber, 2008; Larsen ve Ark., 2001). Ayrıca *Penicillium verrucosum* var. *cyclopium*' un siklopiazonik asit ürettiği ve bunun insanlarda böbrek, kalp ve karaciğer gibi çeşitli organlarda alındığı doz ile yaş ve cinse bağlı olarak lezyonlara neden olduğu bildirilmiştir (Özkalp ve Durak,1998; Frazier ve Westhoff, 1988; Topal, 1987).

Aflatoksinler başlıca *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* türleri tarafından sentezlenen mikotoksinlerdir (D'Mello ve Macdonald, 1997). *Aspergillus flavus* aflatoksin B₁, siklopiazonik asit, *A.niger* okratoksin A, *Aspergillus parasiticus* aflatoksin B₁,B₂,G₁,G₂, *A.versicolor* toksik metabolit sterigmatosistin üretmektedirler (Klich, 2002; Samson ve Ark., 2002; Özkalp ve Durak,1998). *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* türleri yüksek oranlarda elde edilmiştir (Tablo 5). Hayvanların (inek, manda, koyun ve keçi) yemlerle aldığı ve kanserojen etkisi yüksek olan aflatoksin B₁ sindirim sistemlerinde metabolize olarak sütlerine aflatoksin M₁(AFM₁) olarak geçmektedir. Böyle süt ve süt ürünlerini tüketen insanların, özellikle bebek ve çocukların sütte bulunan M₁(AFM₁) toksinine maruz kalma riskinin yüksek olduğu bildirilmiştir (Anonim, 2008).

%5.5 oranında izole edilen *Fusarium oxysporum*' un önemli mikotoksin olarak fusarik asit ve moniliformin ürettiği (Samson ve Ark., 2002), %3 oranında elde edilen *Geotrichum candidum*' un peynir yüzeyinde küflenmeye neden olan kontamine bir tür olduğu (Samson ve Ark., 2002; Pitt ve Hocking, 1999) ve %2.5 oranında bulunan *Cladosporium herbarum*' un epiklodosporik asit oluşturduğu saptanmıştır (Sert, 1992) (Tablo 5).

Peynir, uygunsuz üretim, depolama ve sevkiyat gibi işlemler sırasında kolaylıkla mikroorganizmalar bulaşabilmektedir. Erzincan tulum peynirinin mavi ve yeşil renkte küflenmiş olanları yöre halkı tarafından daha lezzetli bulunmakta ve mikrofunguslarla kontamine olmuş tulum peynirinin sağlığa yararlı olduğuna inanılmaktadır. Bu nedenle tulum peynirindeki mikrofungus florası belirlenmiş ve bunların insan sağlığı açısından etkileri literatürler ışığında belirtilmiştir.

Sonuç olarak tulum peyniri üretiminde insan sağlığı ve ürün kalitesi açısından hayvanların ilkbahar ve yaz mevsimlerinde otlama ortamlarının koşullarına, sonbahar ve kış mevsimlerinde ise verilen yemlerin kalitesi ile



yemlerin depolanma koşullarının uygun hale getirilmesine dikkat edilmelidir. Üretim aşamasında sütün pastörizasyonu, ortamın sterilizasyonu ve çalışan kişinin hijyen koşulları gibi unsurlar kontrol edilmelidir. Peynirin olgunlaştırma sırasında depolanan bölgenin sıcaklık ve neminin sabit tutulması son derece önemlidir. Daha sağlıklı, kaliteli ve kontaminasyon riski az olan tulum peyniri üretimi için modern üretim teknikleri uygulanmalıdır.

Kaynaklar

- Anonim, *Gıda Maddelerindeki Bulaşanların Maksimum Limitleri Hakkında Tebliğ*. Türk Gıda Kodeksi, Resmi Gazete, Başbakanlık Basımevi, Ankara, Sayı: 26879(2008).
- Chapman W.B., Sara J.C., Norton D.M., Filliams A.P., Jarvis B., *Mycotoxin in Mould-Spoiled Cheese*. Int. Symp. Workshop Mycotoxins. Cairo, Egypt, Sept. 6-16, 38-39(1981).
- Ciegler A., *Mycotoxins Occurrence, Chemistry, Biological Activity*. Lloydia, 38(1): 21-35(1975).
- Çolakoğlu G., *Fungal (Mantar) Büyüme İçin Kimyasal ve Fiziksel Çevre Koşulları*. İkinci Baskı, Marmara Üniv. Yay. No. 613, Fen-Ed. Fak. Yay. No. 36, Marmara Üniv. Döner Sermaye İşletmesi Teknik Eğitim Fak. Matbaa Birimi, İstanbul, Türkiye, XVI + 272(2001).
- D'Mello J.P.F., Macdonald A.M.C. *Mycotoxins*. Anim. Feed Sci. Technol., 69(1-3): 155-166(1997).
- Duman Aydın B., Gülmez M., *Erzincan Tulum Peyniri Üretiminde Alternatif Yöntemlerin Araştırılması*. Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg., 14(1): 67-73(2008).
- Durlu-Özkaya F., Gün İ., *Anadolu'da Peynir Kültürü*. Uluslararası Asya ve Kuzey Afrika Çalışmaları Kongresi Kitabı, Ankara, 485(2007).
- Erdoğan A., Gurses M., Turkoğlu H., Sert S., *The Determination of Mould Flora of Some Turkish Cheese Types (Kasar, Civil, Lor, Tulum)*. Atatürk Üniv. Gıda Mühendisliği Fakültesi Erzurum. Pakistan J. Biol. Sci., 4(7): 884-885(2001).
- Frazier W.C., Westhoff D.C., *Food Microbiology*. Mc Graw-Hill Book Company, Fourth Edition, New York, 327-447(1988).
- Hymery N., Vasseur V., Coton M., Mounier J., Jany J.L., Barbier G., Coton E., *Filamentous Fungi and Mycotoxins in Cheese: A Review*. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 13(4): 437- 456(2014) doi: 10.1111/1541-4337.12069
- Kamber U., *The Traditional Cheeses of Turkey: Cheeses Common to All Regions*. Food Rev. Int. 24(1): 1-38(2008).
- Klich M.A., *Identification of Common Aspergillus Species*. Centraalbureau Voor Schimmelcultures-Utrecht, The Netherlands, 46-105(2002).
- Korukluoğlu M., Göçmen D., Şahin, İ., *Tulum ve Küp Peynirlerinde Bulunan Küf Mantarları Üzerinde Bir Araştırma*. Gıda Mühendisliği Kongresi, Gaziantep, 47-55(16-18 Eylül 1998).
- Kure C.F., Skaar I., Brendehaug J., *Mould Contamination in Production of Semi-hard Cheese*. Int J Food Microbiol., 93(1): 41-49(2004).
- Kure C.F., Skaar I., *Mould Growth on the Norwegian Semi-hard Cheeses Norvegia and Jarlsberg*. Int J Food Microbiol., 62(1-2): 133-137(2000).
- Larsen T.O., Svendsen A., Smedsgaard J., *Biochemical Characterization of Ochratoxin A-Producing Strains of the Genus Penicillium*. Appl. Environ. Microbiol., 67(8): 3630-3635 (2001).
- Mitakasis T.Z., Quest D.I., *A Fungal Spore Calendar for the Atmosphere of Melbourne, Australia, for the year 1993*. Aerobiologia, 17: 171-176(2001).
- Nasser L.A., *Fungal Contamination of White Cheese at the Stage of Consumption in Suudi Arabia*, Pakistan J. Biol. Sci., 4(6): 733-735(2001).
- Özçakmak S., Dervişoğlu M., *Peynirlere Kontamine Olan Küflerin Bazı Esansiyel Yağlar İle İnhibisyonu*. Gıda (The Journal of Food), 36(3): 177-184(2011).
- Özkalp B., Durak Y., *Konya ve Cıvırı Küflü Peynirlerinde Küf Florasının Araştırılması*. Tr. J. of Biology., 22: 341-346(1998). © TÜBİTAK.
- Pitt J.I., Hocking A.D., *Fungi and Food Spoilage*. An Aspen Publication, Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg, Maryland, 505-507(1999).
- Rusu V., Sindilar E., *Research Concerning the Contamination of Cascaval Cheese with Fungi*. Medicina Veterinara, Universitatea de Stiinte Agricole si Medicina Veterinara "Ion Ionescu de la Brad" Iasi, 47(6): 274-277(2004).
- Samson R.A., Hoekstra E.S., Frisvad J.C., Filtenborg O. *Introduction to Food-and Airborne Fungi*. Centraalbureau Voor Schimmelcultures-Utrecht, The Netherlands, 64-338(2002).
- Sert S., *Bazı Peynir Çeşitlerinde Küf Florası ve Aflatoksin İçerikleri İle Aflatoksin Potansiyellerinin Araştırılması: I. Küf Florası (1)*. Atatürk Üniv. Zir. Fak. Derg. 23(2): 89-100(1992).
- Sert S., *Mikotoksin Üretimine Tesir Eden Faktörler*. Atatürk Üniv. Zir. Fak. Derg. 16(1-4): 147-159(1985).
- Tekinşen K. K., Akar D., *Erzincan Tulum Peyniri*. Atatürk Üniv. Vet. Bil. Derg. 12(2): 218-226 (2017).
- Topal Ş., *Kaşar Peyniri Olgunlaşma Evresinde Gelişen Yüzey Küfleri ve Mikotoksin Riskleri*. Gıda, 12(3): 199-207(1987).
- Topal Ş., *Penicillium, Aspergillus, Fusarium Toksinleri*. İst. Üniv. Fen Fak. Döner Ser. İşt. Dr. Nazım Terzioğlu Basım Atölyesi, Diyabet Yıllığı, 3: 301-311(1986a).
- Topal Ş., *Gıdalarda Bulunan Önemli Toksik Küfler ve Sağlık Açısından Değerlendirilmesi*. Gıda, 11(6): 345-349(1986b).
- Vural N., *Toksikoloji*. Ankara Üniv., Eczacılık Fak.Yay., Ankara, 56: 391-393(1984).
- Van-Egmond H.P., *Mycotoxins*. Inter. Dairy Fed. Special Issue, 9101: 131-145(1991).
- Zerfiridis G.K., *Potential Aflatoxin Hazards to Human Health From Direct Mold Growth On Teleme Cheese*. J. Dairy Sci. 68(9): 2184-2188(1985).

Teşekkür

Bu çalışma Gülçin Erkol'un "Erzincan Tulum Peynirlerinden İzole Edilen Funguslar Üzerine Araştırmalar, 2015" isimli Yüksek Lisans Tezinin bir bölümüdür. Çalışma ayrıca Proje No: FEN-C-YLP-191212-0362, 2012, Başlama: 2012, Bitiş: 2015 projesidir. Projeye destek veren Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu'na (BAPKO, İstanbul) teşekkür ederiz.



Geliş(Received) :21/05/2018
Kabul(Accepted) :12/07/2018

Research Article
Doi:10.30708/mantar.425533

Plectania ericae, a New Record for Turkey from *Sarcosomataceae*

Yasin UZUN¹, Abdullah KAYA*¹

*Corresponding author:kayaabd@hotmail.com

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

Abstract: *Plectania ericae* (Donadini) Roqué, was recorded for the first time from Turkey. Short description of the species is provided together with its photographs related to its macro and micromorphology.

Key words: Macrofungi, new record, *Plectania*, Turkey

Plectania ericae, *Sarcosomataceae*'den Türkiye İçin Yeni Bir Kayıt

Öz: *Plectania ericae* (Donadini) Roqué, Türkiye'den ilk kez kaydedilmiştir. Türe ait kısa betim, türün makro ve mikromorfolojisine ilişkin fotoğrafları ile birlikte verilmiştir.

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

Introduction

Plectania Fuckel is a genus of fungi within the family *Sarcosomataceae* (Pezizales). The genus was circumscribed by Fuckel (1870) and has a widespread distribution with 17 conformed species (Kirk et al., 2008; www.indexfungorum.org; accessed 25 June 2018).

Five members of *Sarcosomataceae*, *Plectania melastoma* (Sowerby) Fuckel, *Pl. rhytidia* (Berk.) Nannf. & Korf, *Pseudoplectania sphagnophila* (Pers.) Kreisel, *Ps. vogesiaca* Seaver and *Strobiloscypha cupressina* B. Perić & Pfister have so far been reported from Turkey (Allı et al., 2011; Akata et al., 2012; Türkoğlu and Yağız, 2012; Kaya and Uzun, 2018).

During a field trip at Tuzla district (İstanbul), some black and cupulate ascomas were collected under *Erica* sp., Later on they were identified as *Plectania ericae* (Donadini) Roqué. Tracing the current checklists (Sesli and Denchev, 2014; Solak et al., 2015) and the latest contributions (Demirel et al., 2017; Işık and Türkekel, 2017, 2018; Kaşık et al., 2017; Keleş and Oruç, 2017; Öztürk et al., 2017; Sesli and Topcu Sesli, 2017; Türkekel and Işık, 2017; Uzun et al., 2017; Çolak and Kaygusuz, 2018; Sadullahoğlu and Demirel, 2018; Uzun and Acar, 2018; Uzun et al., 2018) it was found that, the taxon has not been reported from Turkey before.

The study aims to make a contribution to Turkish mycobiota.

Materials and Methods

Fungal specimens were collected from Tuzla district of İstanbul province in 2018. The fruit bodies were photographed at their natural habitats and required morphological and ecological characteristics were recorded. Then the collected specimens were transferred to the fungarium within paper bags. The microscopic studies were based on dried specimens. Microscopic investigations were carried out under Nikon Eclipse Ci trinocular light microscope. The specimens were mounted in water and Melzer's reagent. The samples were identified by comparing the obtained data with Donadini (1987), Boccoardo et al. (2014) and Carbone et al. (2014). The samples are kept at Karamanoğlu Mehmetbey University, Kamil Özdağ Science Faculty, Department of Biology.

Results

The systematics of the species is given in accordance with Kirk et al. (2008) and the Index Fungorum (www.indexfungorum.org; accessed 15 May 2018). The taxon is presented with a brief description, habitat and locality.



Ascomycota Caval.-Sm.

Pezizales J. Schröt.

Sarcosomataceae Kobayasi

Plectania Fuckel

Plectania ericae (Donadini) Roqué (Figure 1)

Syn: [*Pseudoplectania ericae* Donadini]

Macroscopic and microscopic features:

Ascomata 4-11 mm in diameter, cupulate to spreading in age, sessile to short stalked, hymenial surface smooth, black, margin smooth, thinner, outer surface concolorous, finely tomentose to pubescent, hairs cylindrical and dark brownish black to dark brown. Flesh blackish. Excipular cells are globose to prismatic and thick walled. Asci 250-300 x 12-14 μ m, cylindrical, operculate and eight spored. Paraphyses, filiform, sometimes anastomosing, 2 or 3 times bifurcated, some trifurcated, slightly enlarged at the apex and generally exceeding asci. Ascospores 11.5-12 (-13) μ m, spherical, smooth, with a large guttule at maturity.

Ecology: *Plectania ericae* was reported to grow on roots of *Erica arborea* L. (Boccardo et al., 2014), on bare soil in the presence of lichens where *Cistus monspeliensis* L., *C. salviifolius* L. and *Erica arborea* L. exist (Donadini, 1987).

Specimen examined: İstanbul, Tuzla, around İstanbul Park, on soil with *Erica* sp. roots, 40°57'N-29°25'E, 175 m, 07.03.2018, Yuzun 6297.

Discussions

Plectania ericae was reported for the first time from Turkey and the existing taxa number of *Plectania* and *Sarcosomataceae* increased to three and six respectively. General morphology of the identified sample is in agreement with the descriptions of Donadini (1987) and Boccardo et al. (2014).

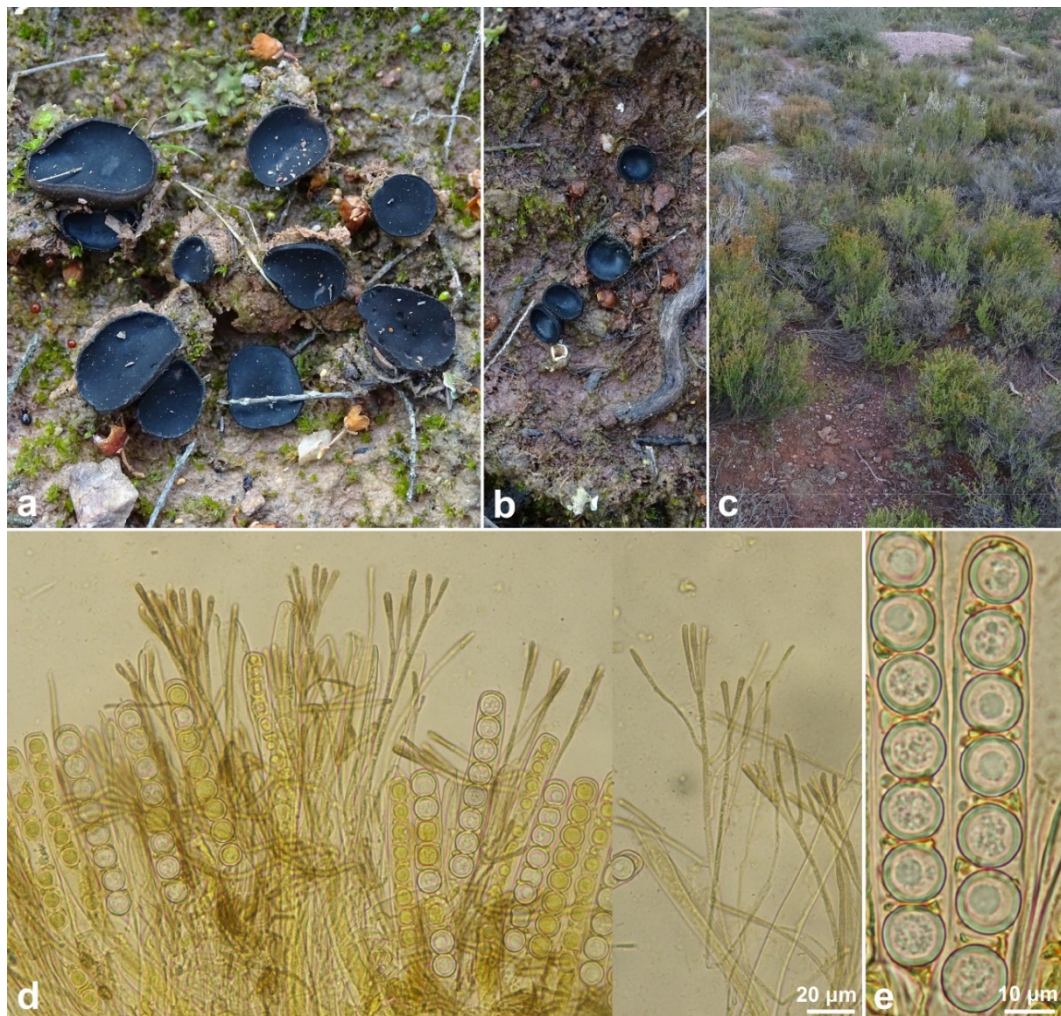


Figure 1. *Plectania ericae*: a,b- ascocarps, c- habitat, d- asci and paraphyses (Melzer), e- ascospores (Melzer)



Plectania ericae is similar to *Pseudoplectania affinis* M. Carbone, Agnello & P. Alvarado, *Ps. nigrella* (Pers.) Fuckel and *Ps. tasmanica* M. Carbone, Agnello & P. Alvarado. The larger apothecia, more diverticulate paraphyses tips and straighter external hairs differs *Ps. affinis* from *Pl. ericae*. *Ps. nigrella* can easily be differentiated from *Pl. ericae* by the forked paraphyses and non coniferous habitat of the *Pl. ericae*. *Ps. tasmanica* differs from *Pl. ericae* mainly by its larger size, and the straighter and numerous external hairs (Carbone et al., 2014). *P. ericae* also have some similarities with *Pl.*

melaena in terms of micromorphology, but the black content of the paraphyses and the coniferous habitat of *Pl. melaena* differs it from *Pl. ericae* (Medardi, 2006; Iturriaga et al., 2012; Van Vooren et al., 2013).

Acknowledgement

The authors would like to thank Ömer UZUN for his kind help during field study, and Alfredo Vizzini, Matteo Carbone and Nicolas Van Vooren for providing literature.

References

- Akata I., Kaya A., Uzun Y. *New Ascomycete records for Turkish macromycota*. Turkish Journal of Botany, 36(4): 420-424 (2012).
- Allı H., Işıloğlu M., Solak, M.H. *New ascomycete records for the macrofungi of Turkey*. Turkish Journal of Botany, 35(3): 315-318 (2011).
- Boccardo F., Carbone M., Vizzini A. *Pseudoplectania ericae, una rara specie rinvenuta in Liguria (Italia)*. Bollettino AMER, 92: 3-9 (2014).
- Carbone M., Agnello C., Alvarado P. *Phylogenetic and morphological studies in the genus Pseudoplectania (Ascomycota, Pezizales)*. Ascomycete.org, 6 (1): 17-33 (2014).
- Çolak Ö.F., Kaygusuz O. *First record of Scutellinia legaliae (Ascomycota, Pyrenomataceae) from relict endemic Liquidambar orientalis forest in Turkey*. Czech Mycology 70(1): 57-65 (2018).
- 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).
- Donadini J.C. *Etude des Sarcoscyphaceae ss. Le Gal (1). Sarcosomataceae et Sarcoscyphaceae ss. Korf. Le genre Pseudoplectania emend. nov.* Mycologia Helvetica, 2 (2): 217-246 (1987).
- Fuckel L. *Symbolae mycologicae. Beiträge zur Kenntnis der rheinischen Pilze*. Jahrbücher des Nassauischen Vereins für Naturkunde, 23(4): 323 (1870).
- Index Fungorum (2018). <http://www.indexfungorum.org/Names/Names.asp>. Accessed 15 May 2018.
- Işık H., Türkel İ. *A new record for Turkish mycota from Akdağmadeni (Yozgat) province: Russula decolorans (Fr.) Fr.* Anatolian Journal of Botany, 1(1): 1-3 (2017).
- Işık H., Türkel İ. *A New Record for Turkish Mycota from Tokat Province: Arachnopeziza aurelia (Pers.) Fuckel*. The Journal of Fungus, 9(1): 54-57 (2018).
- Iturriaga T., Mardones M., Urbina H. *A new species of Pseudoplectania (Sarcosomataceae, Pezizales) from Venezuela*. Tomo 37(1): 73-78 (2012).
- 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).
- Kaya A., Uzun Y. *New Contributions to the Turkish Ascomycota*. Turkish Journal of Botany, 42(5)644-652(2018).
- Keleş A., Oruç Y. *Leucocoprinus brebissonii (Godey) Locq, A New Record for Turkish Mycobiota*. Anatolian Journal of Botany, 1(2): 49-51 (2017).
- Kirk P.M., Cannon P.F., Minter D.W., Stalpers J.A. *Dictionary of the Fungi*, 10th ed., CAB International Wallingford (2008).
- Medardi G. *Atlante Fotografico degli Ascomiceti d'Italia*. Centro Studi Micologici, Vicenza (2006).
- Öztürk C., Pamukçu D., Aktaş S. *Macrofungi of Nallıhan (Ankara) District*. The Journal of Fungus, 8(1): 60-67 (2017).
- Sadullahoğlu C., Demirel K. *Flammulina fennae Bas, A new record from Karz Mountain (Bitlis)*. Anatolian Journal of Botany 2(1): 19-21 (2018).
- Sesli E., Denchev C.M. *Checklists of the myxomycetes, larger ascomycetes, and larger basidiomycetes in Turkey*. 6th edn. Mycotaxon Checklists Online (<http://www.mycotaxon.com/resources/checklists/sesli-v106-checklist.pdf>): 1-136 (2014).
- Sesli E., Topçu Sesli A. *Entoloma majaloides (Entolomataceae): A New Record for the Turkish Mycota*. The Journal of Fungus, 8(2): 85-89 (2017).
- Solak M.H., Işıloğlu M., Kalmış E., Allı H. *Macrofungi of Turkey, Checklist, Volume- II*. Üniversiteler Ofset, Bornova, İzmir (2015).
- Türkel İ., Işık H. *Bozatalan (Tokat) Yöresi Makrofungusları*. Kafkas University Institute of Natural and Applied Science Journal, 9(1): 5-11 (2017).
- Türkoğlu A., Yağiz D. *Contributions to the macrofungal diversity of Uşak Province*. Turkish Journal of Botany, 36(5): 580-589 (2012).
- Uzun Y., Acar İ. *A New Inocybe (Fr.) Fr. Record for Turkish Macrofungi*. Anatolian Journal of Botany, 2(1): 10-12 (2018).
- Uzun Y., Acar İ., Akçay M.E., Kaya A. *Contributions to the macrofungi of Bingöl, Turkey*. Turkish Journal of Botany, 41(5): 516-534 (2017).
- Uzun Y., Karacan İ.H., Yakar S., Kaya A. *New bryophilic Pyrenomataceae records for Turkish Pezizales from Gaziantep province*. Anatolian Journal of Botany, 2(1): 28-38 (2018).
- Van Vooren N, Moyne G, Carbone M, Moingeon JM. *Pseudoplectania melaena (Pezizales): taxonomical and nomenclatural note*. Ascomycete.org, 5(1): 47-52 (2013).



Geliş(Received) :23/06/2018
Kabul(Accepted) :13/07/2018

Research Article
Doi:10.30708/mantar.435710

Effect of Combinations of Salt and Temperature on Morphological Characteristics of Microfungi

Orkun KAYIŞ¹, Semra İLHAN², Rasime DEMİREL^{3*}

* Corresponding Author:rasime.demirel@gmail.com

¹ Eskişehir Osmangazi University, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Department of Biology, TR26480, Eskişehir/Turkey

² Eskişehir Osmangazi University, Faculty of Sciences, Department of Biology, TR26480, Eskişehir/Turkey

³ Eskişehir Technical University, Faculty of Science, Department of Biology, TR26470, Eskişehir/Turkey

Abstract

Aim of this study is investigation of effects of different salt and temperature combinations on morphological characteristics of microfungi that were isolated and identified with traditional and molecular methods from Çamaltı Saltern/İzmir. A total of 37 species as 3 species belong to *Alternaria*, 13 *Aspergillus*, 2 *Chaetomium*, 5 *Cladosporium*, 9 *Penicillium*, and 1 species belong to each species as *Acremonium*, *Arthrimum*, *Biscogniauxua*, *Diaporthe*, *Fusarium* were used in this study. Using aseptic techniques, each of the microfungi were inoculated on Mat Extract Agar medium that was added 8%, 16%, 24% NaCl. Each concentration media was incubated at 17, 27, 37 °C at 7 days. After incubation of each cultures were investigated spore formation, mycelium diameter, colony front and back colour, colony texture, colony diameters, sclerotium and cleistothecium. All results were collected in a table and photographed. As a result of the study, we showed that combination of different NaCl concentrations and temperatures have affected on colony properties. Furthermore, these effects revealed morphological differences between closely related fungi such as members of section *Versicolor*, *Aspergillus*, *Clavati*, *Circumdati*, *Flavi*, *Penicillium* subgenus *Penicillium*.

Key words: Salt, Temperature, Microfungi, Combine effect

Mikrofungusların Morfolojik Karakterleri Üzerine Tuz Ve Sıcaklık Kombinasyonlarının Etkisi

Öz: Bu çalışmanın amacı, farklı tuz ve sıcaklık kombinasyonlarının Çamaltı Tuzlası/İzmir'den izole edilen, geleneksel ve moleküler yöntemlerle tanımlanmış mikrofungusların morfolojik karakterleri üzerindeki etkilerinin araştırılmasıdır. Bu çalışmada 3 *Alternaria*, 13 *Aspergillus*, 2 *Chaetomium*, 5 *Cladosporium*, 9 *Penicillium* ve *Acremonium*, *Arthrimum*, *Biscogniauxua*, *Diaporthe*, *Fusarium* cinlerinin her birinden 1'er tane olmak üzere toplam 37 tür kullanılmıştır. Aseptik teknikler kullanılarak, mikrofungusların her biri, %8, %16, %24 NaCl eklenmiş Mat Ekstrakt Agar plaklarına aşılanmıştır. Her konsantrasyon ortamı 17, 27, 37°C'de 7 gün boyunca inkübe edilmiştir. Her kültürün inkübasyonundan sonra spor oluşumu, miselyum çapı, koloni ön ve arka rengi, koloni dokusu, koloni çapı, sklerotium ve kleistothecium varlığı incelenmiştir. Bütün sonuçlar bir tabloda toplanmış ve fotoğraflanmıştır. Çalışmanın sonucunda, farklı NaCl konsantrasyonu ve sıcaklık kombinasyonlarının koloni özelliklerine etki ettiği gösterilmiştir. Ayrıca, bu etkiler, *Versicolor*, *Aspergillus*, *Clavati*, *Circumdati*, *Flavi*, *Penicillium* subgenus *Penicillium* üyeleri gibi yakın ilişkili mikrofunguslar arasında morfolojik farklılıklar ortaya çıkarmıştır.

Anahtar kelimeler: Tuz, Sıcaklık, Mikrofungi, Kombine etki



Introduction

Microfungi are common microorganisms found in range habitats from soil, air, water and various food products to extreme environments (Krijgsheld et al., 2013; Selbmann et al., 2013; Houbraken et al., 2014; Egbuta et al., 2015; Chavez et al., 2015). In addition, they are well known as decomposer of organic materials, producer of some product in industrial and food fields, producer of important mycotoxins, reason major economic and health effects on plant, animal and human life (Asan, 2004; Shukri et al., 2015; Egbuta, 2015; Demirel, 2016; Shukri et al., 2017). Owing to their numerous impacts, studies on the identification of microfungi are vitally important.

There are numerous identification methods for microfungi based on morphological characters or molecular assays (Ciardo et al., 2007; Papagianni, 2014; Becker et al., 2014; Shukri et al., 2015). Molecular assays based on the DNA have been developing day by day and they are very successful on correct identification of microfungi. However, these assays are expensive, labour-intensive, require to interdisciplinary experiences and including a high risk for both environment and life due to using chemicals and radiation (Guarro et al., 1999; McClenny 2005; Tsui et al., 2011; Becker et al., 2014). In addition, experiences of researchers about morphological properties of investigating microfungi are necessary for correct identification, understanding of contamination, selection of PCR primers and workflow on phylogeny (Samson et al., 2010). Morphological typing methods are the phenotypic approach including macroscopic and microscopic investigation of observable characters and have been used for many years (Raper and Thom, 1949; Raper and Fennell, 1965; Pitt, 1979; Pitt, 2000; Klich, 2002; Samson et al., 2010). Morphological typing methods have critical limitations such as taking very long time, labour-intensive, effects of experiences and decisions of researchers, losing of some morphological characters and more than these factors (Guardo et al., 1999; Verweij et al., 2007; Samson et al., 2010; Sharma and Pandey, 2010; Becker et al., 2014; Demirel 2016; Hase and Nasreen, 2017). Although these negative qualifications of morphological identification techniques and continuing to improve and become more readily available of molecular identification techniques, conventional techniques based on microscopy and culture the primary laboratory tools for detecting and identification of microfungi (McClenny, 2005).

The development of new methods will ensure that traditional identification methods are improved and help to distinguish of especially closely related microfungi. Therefore, the purpose of the present study was to determination effects on phenotypic properties of microfungi of combination of salt and temperature conditions. Furthermore, we will discuss on the potential to be a conventional identification criterion of the investigated conditions.

Material and Method

Fungal Strains

The isolates that were used in this study were from a collection archived in the Eskisehir Osmangazi University, Department of Biology. All of the isolates used in this study were isolated from Camaltı Saltern/Izmir province and identified using the molecular and traditional methods in previous studies (GenBank accession numbers; KU958178, KX014873, KX022485-KX022492, KX056227-KX056238, KX426682-KX426702). Cultures were maintained at 4°C on potato dextrose agar (PDA).

Media, Growth Conditions and Determination of Growth Characteristics

A modified Malt Extract Agar (Merck 1.05398) with the different NaCl concentrations as 8, 16 and 24 % that were selected according to previous some studies (Ventosa and Arahall, 2009; Gunde-Cimerman et al., 2009, Gunde-Cimerman and Zalar, 2014) was used as the growth medium for all isolates. For the inoculation of microfungi, spore suspension was prepared in 0.1% Tween 80 and then 3 µl of spore suspension were used as three points on medium. After inoculation, the plates were incubated at 17, 27 and 37 °C (Hedi et al., 2009; Ventosa and Arahall, 2009; Gunde-Cimerman et al., 2009, Gunde-Cimerman and Zalar, 2014) for 7 days. For each of the isolates, one of the MEA without NaCl was incubated at 27 °C for 7 days and used as positive growth control. End of the incubation period, mycelial properties, colony diameter, colony colour, texture, soluble pigment, exudate and reverse colour were investigated and evaluated.

Result and Discussion

Morphological analysis in this study showed a wide range of microfungal species belong to the genera *Acremonium* (1 strain, 2.7% of total strain), *Alternaria* (3 strains, 8.1%), *Arthrinium* (1 strain, 2.7%), *Aspergillus* (13 strains, 35.1%), *Biscogniauxia* (1 strain, 2.7%), *Chaetomium* (2 strains, 5.4%), *Cladosporium* (5 strains, 13.5%), *Diaporthe* (1 strain, 2.7%), *Fusarium* (1 strains, 2.7%) and *Penicillium* (9 strains, 24.3%). All of the presented as generic concept at below. The comparing photographs of tested fungi were shared as representing genus if investigated genus have colony formatted and had more than one species.

Generic concept of *Aspergillus* members

In this study, 13 different species belong to *Aspergillus* genera were investigated and we discussed our results as section by section.

Aspergillus tamarii, *A. sclerotium* and *A. melleus* belong to *Circumdati* section were investigated. When they were compared with their controls (without NaCl, incubation at 27 °C), *A. sclerotium* and *A. melleus* showed increasing colony diameter on 8% NaCl and at 27 °C as



from 47 mm to 65 mm and from 48 mm to 60 mm, respectively. Furthermore, *A. melleus* clearly distinguished from other section members with no colony formation at the other temperatures. *A. tamarii* showed same colony diameter (as 24 mm) and same colony properties with the control on 8% NaCl at 27 °C.

A. sclerotium distinguished from other members of the section with formed a colony on same NaCl concentration at 17 °C as 20 mm and 16% NaCl at 27 °C as 13 mm, sporulation decreased from heavy to poor. When the results of the incubation on 8% NaCl at 37 °C were investigated, we determined that colony size of species clearly smaller than other conditions. In the same conditions, *A. sclerotium* showed velvety colony texture rather than cotton differently from control. Colony formation and sporulation properties prominently decreased together with increasing of NaCl concentration. Apart from that, there were not a colony on 16% NaCl at 17 and 37 °C, 24% NaCl at all temperatures.

Aspergillus versicolor and *A. sydowii* belong to *Versicolor* section are very similar in terms of morphological properties (Samson et al., 2010). As result of combination of different salt and temperature levels, *A. sydowii* (Figure 1; I-A) clearly distinguished from *A. versicolor* (Figure 1; I-B) with heavy sporulation and increasing colony diameter as 35 mm on 8% NaCl at 27 °C. Both of two species formed similar micro colony on 16% NaCl at 27 °C and there was not a colony formation at the other conditions. Section *Nidulanti* is known as one of the similar section to members of *Versicolor* section (Samson et al., 2014) and include less halotolerant members (Samson et al., 2010). We investigated *A. quadrilineatus* from this section and determined that the species formed smaller and moderately sporulated colonies (40 mm and 38 mm on 8% NaCl at 27 °C and 37 °C) than control (65 mm at 27 °C) but bigger than members of *Versicolor* section.

Other investigated species are *A. amstelodami* and *A. glaucus* belong to section *Aspergillus*. It is very clear that *A. amstelodami* showed colony formation with large colony and heavy sporulation on 8% (62 mm) and 16% NaCl (44 mm) at 37 °C, but *A. glaucus* occurred only small colony and very poor sporulation on 8% NaCl at 37 °C.

The section *Clavati* and section *Fumigati* are known as closely related members of *Aspergillus* genus as consequence of phylogeny studies (Samson et al., 2014). The control of *A. clavatus* formed 45 mm colony diameter and heavy sporulation like *A. fumigatus* that formed 70 mm colony diameter and heavy sporulation. As result of combined salt and temperature, they were clearly distinguished as *A. fumigatus* formed still large colony as 60 mm diameter and heavy sporulation while *A. clavatus* formed very small as 15 mm and moderately sporulation on 8% NaCl at 37 °C.

One of the characteristic situation were determined for *A. flavus* that is member of section *Flavi*. This species showed heavy sporulation and large colony formation as

70 mm on MEA without NaCl at 27 °C. Colony properties of this species were determined as moderately sporulation and small colony as 47 mm and 20 mm on 8% NaCl at 27 °C and 16% NaCl at 37 °C., respectively. Furthermore, *A. flavus* occurred very large colony as 75 mm on 8% NaCl at 37 °C. This shown that combined of salt and temperature have a distinctive potential.

Similarly, *A. niger* belong to section *Nigri* shown increasing of colony diameter and sporulation together with increasing of NaCl concentration and temperature. This species formed moderately sporulation, 65 and 80 mm colonies on 8% NaCl at 27 °C and 34 °C while control of this species formed 55 mm diameter colony and heavy sporulation at 27 °C.

A. terreus that is a member of section *Terrei* is a worldwide common microfungus and an important human pathogen. Already, in applied experiment condition, investigated *A. terreus* isolate has perfectly grown up at 37 °C on both 8% NaCl (68 mm) and 16% NaCl (24 mm). Similarly, this species formed strong colony formation at 27 °C on both 8% NaCl (50 mm) and 16% NaCl (11 mm). We reported as sporulation performance decreased as parallel of colony diameter. In addition, this member exhibited only micro colony formation at 17 °C on 8% NaCl. Furthermore, this species did not form a colony on 24% NaCl at all tested temperatures.

Generic concept of *Penicillium* members

In this study, 9 different species belong to *Penicillium* genera were investigated and all of them belonged to *Penicillium* subgenus *Penicillium*. Investigated species were mainly showed colony formation at 17 and 27 °C, % 8 and 16 NaCl concentration. Between NaCl concentration/temperature and sporulation degree were determined opposite interaction. In addition, we were observed equal or small size of colony than control with increasing NaCl concentration and temperature. The other common properties of investigated species, reverse colony colour, poor green and white colony colours and velvety colony texture were steady although NaCl concentration and temperature were changed.

Only *P. spinulosum* among investigated *Penicillium* members showed good colony formation at 8 % NaCl concentration and both 17 and 27 °C as 30 mm and 15 mm, respectively. *P. griseofulvum*, *P. nalgiovense*, *P. corylophilum*, *P. oxalicum*, *P. olsonii*, *P. citrinum* and *P. commune* formatted colonies at 8 and 16 % NaCl and 17 and 27 °C until 16 mm. Among *Penicillium* members, *P. griseofulvum*, *P. nalgiovense*, *P. camemberti*, *P. citrinum* and *P. commune* were distinguished with colony formation and sporulation at 8 % NaCl and 37 °C as from 7 mm to 26 mm and from poor to heavy sporulation. In addition, *P. citrinum* and *P. commune* distinctively formatted micro colony at 16 % NaCl concentration and 37 °C. In this point, *P. camemberti* and *P. commune* are of the similar species belong to *Penicillium* subgenus *Penicillium* (Samson et al.,



2010). We exhibited an option for distinguish of these two similar species. Another of the closely related species to *P. commune* (Figure 1; II-A) is *P. corylophilum* (Figure 1; II-B) and our results showed that these two species distinguished by using of parameter of micro colony formation at 16 % NaCl concentration and 37 °C of *P. commune*.

Generic concept of other microfungi

In this study, 15 different species belong to 8 genera were investigated and we discussed our results as genus by genus and comparing with controls.

The *Acremonium* genus is consist of septate hyphae giving rise to thin, for this reason, distinguish of them under microscope is difficult (Summerbell et al., 2011). The isolate *Acremonium implicatum* was investigated and this isolate formed micro colony (5 mm) with poor sporulation at only 8% NaCl concentration and 27 °C. The control formed colony diameter 20 mm and heavy sporulation. As different from control, the colony and reverse colours of this isolate changed as pale and colony texture was come to woody from bouquet at 8% NaCl concentration and 27 °C.

We investigate 3 different species of *Alternaria* genus as *A. alternata* and *A. tenuissima* members of section *Alternata* and *A. brassicicola* member of section *Brassicicola* (Woudenberg et al., 2013). *A. tenuissima* species group have often been misidentified as *A. alternata*. *A. alternata* differs by some microscopic properties such as branching conidial chains via short secondary conidiophores from apex in addition to central and basal cell of the conidium body (Samson et al., 2010). We found one more cultural differences between these two closely related *Alternaria* species. While *A. tenuissima* were not grow up on 8% NaCl and 17 °C (Figure 1; III-A), *A. alternata* formed colony diameter of 17 mm on same conditions (Figure 1; III-B). As different from control inoculation, this colony recorded as poor sporulation, pale reverse colour.

Arthrinium arundinis that is one of the endophyte present on the range substrate (Crous and Groenewald, 2013) exhibited colony formation on 8% NaCl at 27 and 17 °C. When colony properties compared with control condition, this species showed less colony diameter (to 25 mm from 75 mm), sporulation (to absent from moderately) and increased mycelium than control. In addition, *A. arundinis* distinguished with chancing colony texture to cottony from velvety.

While *Biscogniauxia mediterranea* formed colony on control condition as 75 mm colony diameter, slightly sporulation and heavy mycelium, growing on condition included NaCl at any concentration did not show.

The genus *Chaetomium* was described by Kunze based on *C. globosum* and because of the poorly information original description, identification of members of this genus was difficult and description process was repeated again and again (Wang et al., 2016). Investigated two species belong to *Chaetomium* genus as *C. globosum* and *C. subaffine*, identified species level, did not form colony while control inoculation grown up as diameter of 70 and 80 mm, respectively, heavy sporulation, brownish reverse colour, greenish colony colour and velvety texture for *C. globosum*, poor sporulation, media reverse colour, white mycelial colour dominate and woody colony texture for *C. subaffine*.

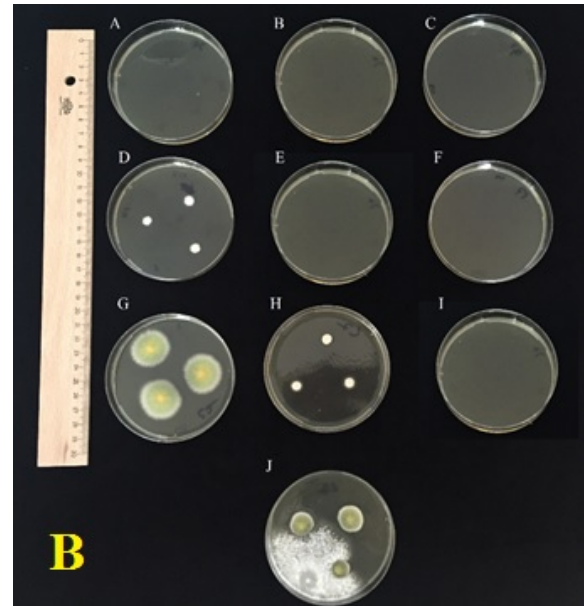
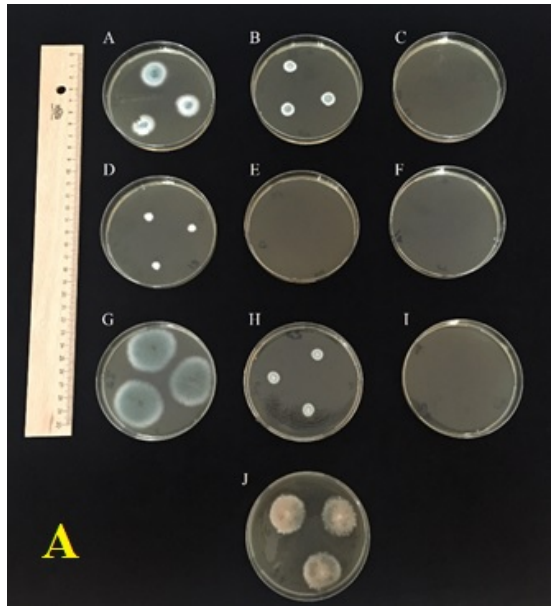
Totally five species of *Cladosporium* genus as *C. cladosporioides*, *C. herbarum*, *C. ramotenellum*, *C. sphaerospermum* and *C. variable*, were investigated. Application of different NaCl concentrations under different incubation temperatures showed that *C. variable* distinctly distinguished from other genus members with micro colony formation only on 8% NaCl at 27 °C. In addition, *C. herbarium* showed very clear distinctive result as 25 mm colony formation with moderately sporulation on 8% NaCl at 27 °C. One more clear result obtained for *C. sphaerospermum*. This species did not grown up on NaCl presence while control exhibited 11 mm diameter colony and heavy sporulation. Among investigated species, *C. ramotenellum* (Figure 1; IV-A) and *C. cladosporioides* (Figure 1; IV-B) formed colony on 8% NaCl concentration at 17 and 27 °C. When morphologically compared with control, the control exhibited colony in 14-26 mm diameter with heavy sporulation. On NaCl concentration, small colonies occurred as micro -22 mm with poor or moderately sporulation.

Diaporthe foeniculina showed growing on 8% NaCl concentration at 27 and 17 °C. When colony formation of this isolate compared with control and itself, colony diameter and sporulation dramatically decreased in the presence NaCl and at low temperature as 25 mm on control, 20 mm on 8% NaCl at 27 °C, 14 mm on 8% NaCl at 17 °C and heavy sporulation on control, moderately on 8% NaCl at 27 °C, slightly on 8% NaCl at 17 °C.

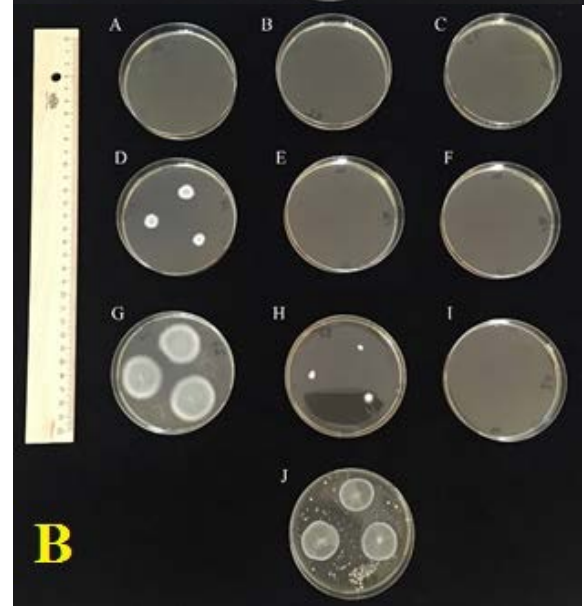
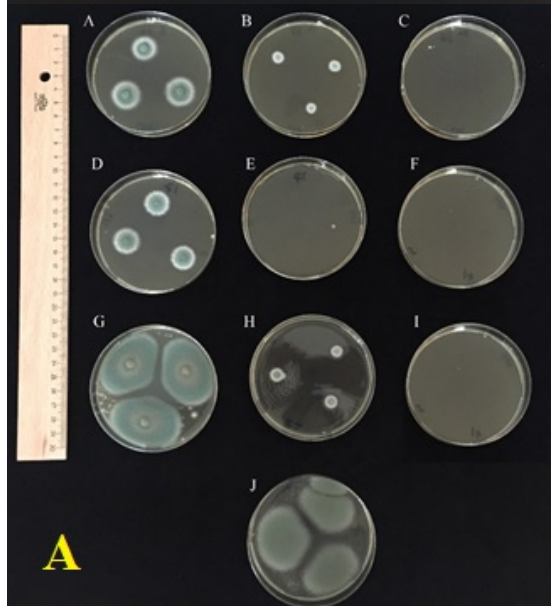
Fusarium proliferatum exhibited colony formation on 8% NaCl and at 27 and 37 °C. When we compared colony properties with control, we determined that colony diameter, sporulation and mycelial properties decreased to 22 mm from 62 mm on 8% NaCl, to slightly from heavy, to 2mm from 7 mm, respectively and to 7 mm on 8% NaCl and at 37 °C. The result indicated that colony diameter, sporulation, mycelial wideness decreased together with NaCl presence, in addition, sporulation loosed with increasing incubation temperature. For this species, both presence of 8% NaCl and incubation at 37 °C exhibited distinguish characters.



I)

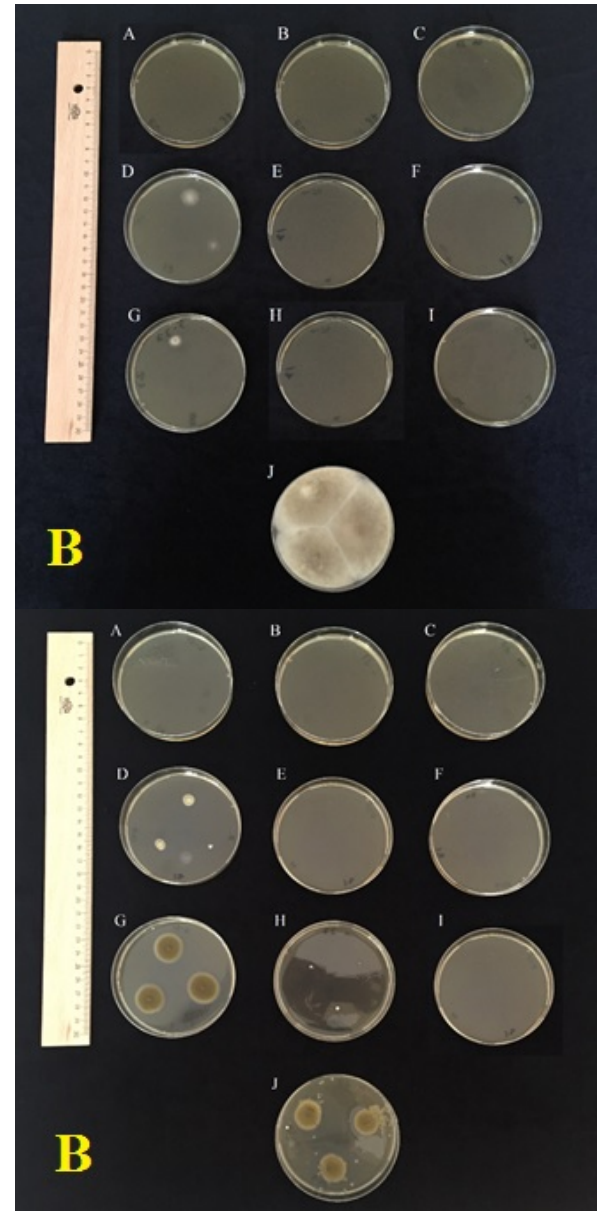
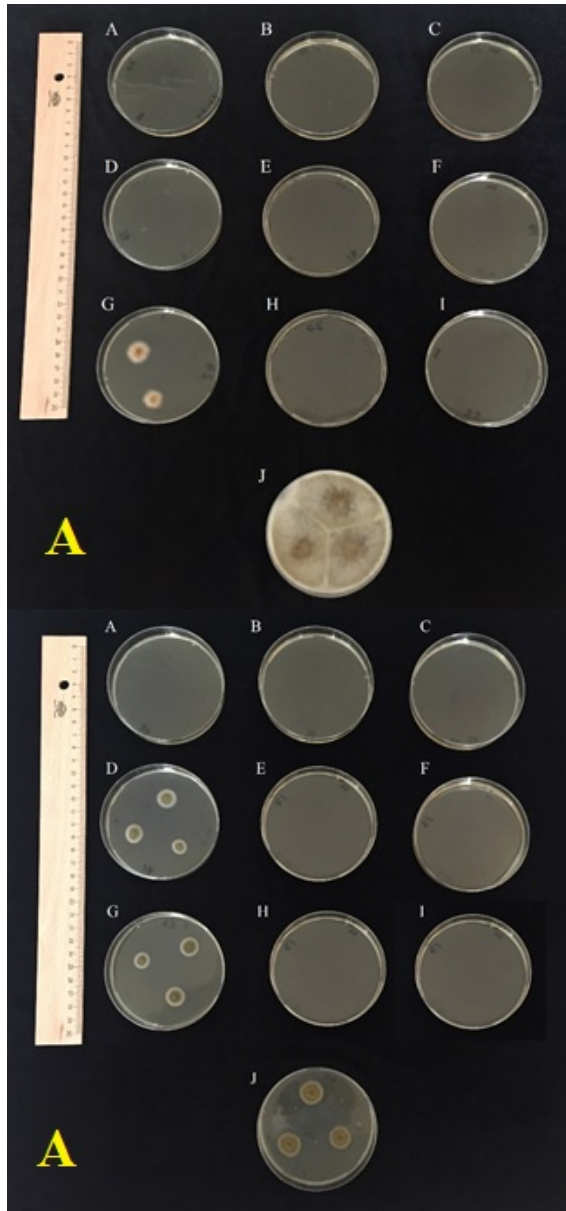


II)





III)



IV)

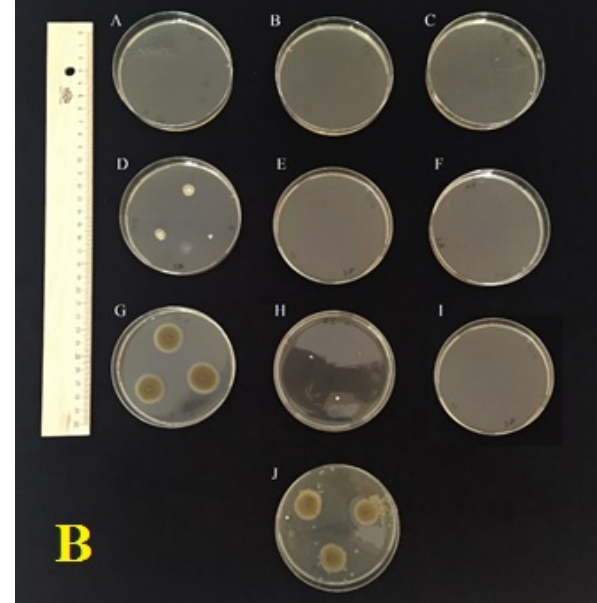
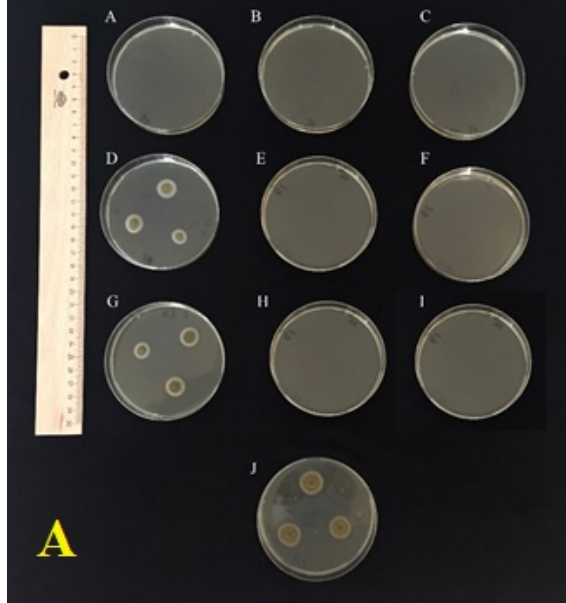


Figure 1. Colony characteristics of some tested fungi on different NaCl concentrations and temperatures; **I) A)** *Aspergillus sydowii* **B)** *Aspergillus versicolor*; **II) A)** *Penicillium commune*, **B)** *Penicillium corylophilum*; **III) A),** *Alternaria tenuissima* **B)** *Alternaria alternata*; **IV) A)** *Cladosporium ramotenellum* **B)** *Cladosporium cladosporioides* **a)** 8% NaCl, **b)** 16% NaCl, **c)** 24% NaCl at 37°C **d)** 8% NaCl, **e)** 16% NaCl, **f)** 24% NaCl at 17°C **g)** 8% NaCl, **h)** 16% NaCl, **i)** 24% NaCl at 27°C **j)** 0% NaCl at 27°C

Conclusion

Morphologically investigation and identification processes have always given successful result as dependent to researchers and used media. How many different media and incubation conditions are used, obtained results will be highly reliable. In addition, the researchers will easily reach the conclusion. In the present study showed that using of the combination of different NaCl concentration and incubation temperatures distinctly distinguish closely related fungi such as members of section *Versicolor*, *Aspergillus*, *Clavati*, *Circumdati*, *Flavi*,

Penicillium subgenus *Penicillium* and some other microfungi. Mainly, increasing of the NaCl concentration decreased colony formation and sporulation. There are very limited species that formed colony and sporulation on high NaCl concentration and at temperature. This result may have effective of distinguish, identification and description of some microfungi.

Acknowledgements

We are very grateful to project team of "Determination of Fungus Diversity in İzmir Çamaltı



Saltern Mycobiota: *Dematiaceae*, Project Number is: 201319A101” financially supported by “Eskisehir Osmangazi University, Scientific Research Projects” for

Dematiaceae isolates and research team of “Determination of Fungus Diversity in İzmir Çamaltı Salt: *Moniliaceae* and Teleomorphs.

References

- Asan A., *Aspergillus, Penicillium and related species reported from Turkey*, Mycotaxon, 89(1), 155-157 (2004).
- Becker P., de Bel A., Martiny D., Ranque S., Piarroux R., Cassagne C., Detandt M., Hendrickx M., *Identification of filamentous fungi isolates by MALDI-TOF mass spectrometry: Clinical evaluation of an extended reference spectra library*. Med. Mycol. 52: 826-34 (2014).
- Chavez R. & Fierro F. García Rico R., Inmaculada V., *Filamentous fungi from extreme environments as a promising source of novel bioactive secondary metabolites*. Front Microbiol. 9 (6): 903 (2015).
- Ciarlo D.E., Schär G., Altwegg M., Böttger E.C., Bosshard P.P., *Identification of moulds in the diagnostic laboratory—an algorithm implementing molecular and phenotypic methods*. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 59: 49–60 (2007).
- Crous P.W., Groenewald J.Z., *A phylogenetic re-evaluation of Arthrinium*. IMA Fungi, 4 (1): 133-154 (2013).
- Demirel R., *Comparison of rDNA regions (ITS, LSU, and SSU) of some Aspergillus, Penicillium, and Talaromyces spp.*, Turk. J. Botany, 40, 576-583 (2016).
- Egbuta M.A., Mwanza M., Njobeh P.B., Phoku J.Z., Chilaka C.A., Dutton M.F., *Isolation of Filamentous Fungi Species Contaminating Some Nigerian Food Commodities*, Journal of Food Research, 4 (1): 38-50 (2015).
- Guarro J., Gene J., Stchigel A.M., *Developments in Fungal Taxonomy*. Clin. Microbiol. Rev., 454–500 (1999).
- Gunde-Cimerman N., Ramos J., Plemenitas A., *Halotolerant and halophilic fungi*, Mycol. Res., 113: 1231–1241, (2009).
- Gunde-Cimerman N., Zalar P., *Extremely Halotolerant and Halophilic Fungi Inhabit Brine in Solar Salterns around the Globe*, Food Technol. Biotechnol. 52 (2): 170–179 (2014).
- Hedi A., Sadfi N., Fardeau M.L., Rebib H., Cayol J.L., Ollivier B., Boudabous A., *Studies on the Biodiversity of Halophilic Microorganisms Isolated from El-Djerid Salt Lake (Tunisia) under Aerobic Conditions*, Int J Microbiol., 1-17 (2009).
- Hase V., Nasreen S., *Influence of different culture media on growth of plant pathogenic fungi*. International Journal of Multidisciplinary Research and Development. 4 (1): 67-70. (2017).
- Houbraken, J., Visagie, C.M., Meijer, M., Frisvad, J.C., Busby, P.E., Pitt, J., Seifert, K.A., Louis-Seize, G., Demirel, R., Yilmaz, N., Jacobs, K., Christensen, M., Samson, R.A., *A taxonomic and phylogenetic revision of Penicillium section Aspergilloides*, Stud. Mycol., 78: 373–451 (2014).
- Klich M.A., *Identification of Common Aspergillus Species*, 1. Edition. 122 pp. Published by The Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands, (2002).
- Krijghsheld P., Bleichrodt R.J., Veluw G.J van, Wang F, Müller W.G, Dijksterhuis J., Wösten H.A.B., *Development of Aspergillus*. Stud. Mycol. 74: 1–29 (2013).
- McClenny N., *Laboratory detection and identification of Aspergillus species by microscopic observation and culture: the traditional approach*. Med. Mycol., 43 (1-1): 125–128 (2005).
- Papagianni M. (2014). *Characterization of Fungal Morphology using Digital Image Analysis Techniques*. J Microb Biochem Technol., 6:4
- Pitt J.I., *The Genus Penicillium and its teleomorphic states Eupenicillium and Talaromyces*, Academic Press INC, London, (1979).
- Pitt J.I. *A Laboratory Guide to Common Penicillium Species*, 3th edition, Food Science, Australia, (2000).
- Raper KB, Fennell D.L., *The Genus Aspergillus*. The Williams Wilkins Company, Baltimore, USA, 686 pp., (1965).
- Raper KB, Thom C., *A Manual of Penicillia*. The Williams Wilkins Company, Baltimore, USA, 704 pp., (1949).
- Samson R.A., Houbraken J., Thrane U., Frisvad J.C., & Andersen B., *Food and Indoor Fungi*. 390 pp. CBS KNAW Fungal Diversity Centre, Utrecht, The Netherlands, (2010).
- Samson R.A., Visagie C.M., Houbraken J., Hong S.B., Hubka V., Klaassen C.H.W., et al., *Phylogeny, identification and nomenclature of the genus Aspergillus*. Stud. Mycol., 78, 141–173 (2014).
- Selbmann L., Egidi E., Isola D., Onofri S., Zucconi L., de Hoog G.S., Chinaglia S., Testa L., Tosi S., Balestrazzi A., Lantieri A., Compagno R., Tignini V., Varese G.C., *Biodiversity, evolution and adaptation of fungi in extreme environments*, Plant Biosyst., 147 (1): 237-246 (2013)
- Sharma G, Pandey R.R., *Influence of culture media on growth, colony character and sporulation of fungi isolated from decaying vegetable wastes*, J. Yeast Fungal Res. 1(8): 157-164 (2010)
- Shukri S. M., Fauzi S. M., Zainon M. N., & Zaidah Z. A., *Morphotypic and molecular identification of filamentous fungi from animal agricultural farm contaminated peat soil*. Advances in Environmental Biology, 9(22 S3), 1-6, (2015).
- Shukri S. M., Fauzi S. M., Zainon M. N., & Zaidah Z. A., *Isolation and Characterisation of Filamentous Fungi from Animal Agricultural Farm Soil*, Pertanika J. Sci. & Technol. 25 (S): 19 – 28 (2017).
- Summerbell R.C., Gueidan C., Schroers H-J., de Hoog G.S., Starink M., Arocha Rosete Y., Guarro J. Scott J.A., *Acremonium phylogenetic overview and revision of Gliomastix, Sarocladium, and Trichothecium*. Stud. Mycol. 68: 139–162 (2011).
- Tsui C.K.M., Woodhall J., Chen W., Lévesque C.A., Lau A., Schoen C.D., Baschien H., Najafzadeh M.J., de Hoog G. S., *Molecular techniques for pathogen identification and fungus detection in the environment*, IMA Fungus 2 (2): 177-189 (2011).
- Ventosa A., Arahal D.R., *Physico-chemical characteristics of hypersaline environments and their biodiversity*, Extremophiles, 2,1–6, (2009).
- Verweij P.E., van der Lee H.A.L., Rijs A.J.M.M., *The Role of Conventional Diagnostic Tools*, In: *Diagnosis of Fungal Infections* Edited by Maertens JA, Marr KA, Informa Healthcare USA, (2007).
- Wang X.W., Lombard L., Groenewald J.Z., Li J., Videira S.I.R., Samson R.A. Liu X.Z., Crous P.W., *Phylogenetic reassessment of the Chaetomium globosum species complex*. Persoonia 36: 83–133 (2016).
- Woudenberg J.H.C., Groenewald J.Z., Binder M., Crous P.W., *Alternaria redefined*. Stud. Mycol.,75:171-212 2013



Geliş(Received) :26/05/2018
Kabul(Accepted) :24/07/2018

Research Article
Doi:10.30708/mantar.427457

Investigation of Oxidant and Antioxidant Status of Edible Mushroom *Clavariadelphus truncatus*

Mustafa SEVİNDİK^{1*}

*Corresponding author: sevindik27@gmail.com

¹Akdeniz University, Faculty of Science, Department of Biology, Antalya, 07058, Turkey.

Abstract: In the present study, total antioxidant status (TAS), total oxidant status (TOS) and oxidative stress index (OSI) of *Clavariadelphus truncatus* Donk mushroom ethanol extracts that were collected in Kütahya province (Turkey) were determined. Rel Assay Diagnostics kits were used to determine TAS, TOS and OSI values. It was determined that the TAS value of the mushroom was 2.415 ± 0.176 mmol/L, the TOS value was 3.367 ± 0.155 μ mol/L and the OSI was 0.140 ± 0.005 . The study findings demonstrated that the region of growth of the mushroom exhibited adequate oxidative stress levels. It was also thought that the mushroom might be a natural antioxidant source due to its antioxidant potential.

Keywords: *Clavariadelphus truncatus*, edible mushroom, antioxidant, oxidant, oxidative stress

Yenilebilir Mantar *Clavariadelphus truncatus*'un Oksidan ve Antioksidan Durumunun Araştırılması

Öz: Bu çalışmada Kütahya (Turkey) ilinden toplanan *Clavariadelphus truncatus* Donk mantarının etanol özütlerinin toplam antioksidan seviyesi (TAS), toplam oksidan seviyesi (TOS) ve oksidatif stres indeksi (OSI) belirlenmiştir. TAS, TOS ve OSI değerleri Rel Assay Diagnostics kitler kullanılarak belirlenmiştir. Yaptığımız çalışma sonucunda mantarın TAS değeri 2.415 ± 0.176 mmol/L, TOS değeri 3.367 ± 0.155 μ mol/L ve OSI değeri 0.140 ± 0.005 olarak belirlenmiştir. Elde edilen bu sonuçlar mantarın toplandığı bölgenin yetişmesi açısından uygun oksidatif stres seviyelerinde olduğunu göstermektedir. Ayrıca tespit edilen antioksidan potansiyelinden dolayı mantarın doğal antioksidan kaynağı olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: *Clavariadelphus truncatus*, yenilebilir mantar, antioksidan, oksidan, oksidatif stres

Introduction

Reactive oxygen species (ROS) are produced by the cellular metabolism of living organisms. Oxidative stress results from the imbalance between the ability of living organism to repair metabolic disorders that could be induced by reactive oxygen species in biological systems. They play a role in physiological cell processes at low to moderate ROS concentrations. However, high levels of reactive oxygen species have adverse effects on cell components such as lipids, proteins and DNA. Reactive oxygen species such as O_2^- (superoxide radical), OH (hydroxyl radical) and H_2O_2 (hydrogen peroxide) can lead

to adverse effects such as DNA breakdown and deterioration of cellular signaling mechanisms (Aprioku 2013; Ozougwu 2016; Thapa and Carroll 2017; Korkmaz et al., 2018).

As a result of the oxidative stress induced by reactive oxygen species, serious health problems such as cancer, Parkinson's and Alzheimer's diseases, cardiovascular diseases, chronic fatigue, depression could be observed in humans (Sarrafchi et al., 2015; Ozougwu 2016). Antioxidant compounds produced by living organisms play an important role in inhibition of oxidative stress. In cases where these antioxidants produced by the



living organism are inadequate, intake of supplementary antioxidant sources are very important in preventing oxidative stress-induced diseases (Dias et al., 2013; Riaz et al., 2018). Since ancient times, people have searched for nutrients and mushrooms became significant natural nutrients. They are rich in protein and amino acids with a low-calorie content in addition to their texture and taste and thus, they are considered to have high nutritious value (Yılmaz et al., 2016). Along with their nutritive properties, mushrooms have also been reported to possess several medicinal properties such as antioxidant, antimicrobial, antifungal, antibacterial, anticancer, anti-inflammatory properties (Imtiajet al., 2007; Khan et al., 2010; Smiderle et al., 2014; Akgül et al., 2016; Sevindik et al., 2017). Therefore, it was considered that the mushrooms, a significant natural source, can be used as a natural antioxidant sources in reducing oxidative stress. The present study aimed to determine total antioxidant status, total oxidant status and oxidative stress index of *C. truncatus* mushroom collected in Kütahya province (Turkey). Thus, antioxidant capacity of *C. truncatus*

mushroom was determined in the present study to assess its use as a natural antioxidant source.

Material and Method

The *C. truncatus* samples were collected in *Fagus orientalis* Lipsky and *Pinus nigra* L. mixed forest in the province of Kütahya/Turkey (Domaniç district, Çatalalç location) (Figure 1). Morphological (shape, color, size) and ecological properties of the samples were recorded at the field. Microscopic characteristics of the samples that were transported to the laboratory under adequate conditions were determined by light microscopy using a 3% KOH solution (Leica DM750). The samples were morphologically identified with reference to the studies by Breitenbach and Kränzlin (1986), and Dähncke (2006). After identification of the mushroom samples, ethanol (EtOH) extracts were obtained with a Soxhlet extractor (Gerhardt EV 14). The obtained extracts were concentrated using a rotary evaporator (Heidolph Laborator 4000 Rotary Evaporator).



Figure 1. *Clavariadelphus truncatus* Donk

Determination of TAS, TOS and OSI

To determine mushroom TAS and TOS values, Rel Assay brand commercial kits (Assay Kit Rel Diagnostics, Turkey) were used. Trolox was used as calibrator for the TAS, and the findings were expressed in mmol Trolox equiv./L. Hydrogen peroxide was used as the calibrator for the TOS and the findings were reported in $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ equiv./L (Erel, 2004, 2005). When the OSI value (Arbitrary unit: AU) that indicates the tolerance level of the oxidant compounds by the antioxidant compounds was calculated, TAS and TOS units were equalized, and the TOS values were divided by the TAS values. Thus, percentage

oxidative stress index value for the mushroom was determined (Erel, 2005).

Results and Discussion

TAS, TOS and OSI

Literature review did not reveal any previous studies that were conducted to determine the oxidative stress status of the *C. truncatus* mushroom. In the present study, the TAS and TOS values of *C. truncatus* mushroom were determined and OSI of the mushroom was determined based on the TAS and TOS values. The findings are presented in Table 1.

Table 1. TAS, TOS and OSI values of *C. truncatus*

	TAS (mmol/L)	TOS ($\mu\text{mol/L}$)	OSI
<i>C. truncatus</i>	2.415 \pm 0.176	3.367 \pm 0.155	0.140 \pm 0.005

Mushrooms include numerous and various types of reduced molecules such as phenolic compounds that contain electron-donor properties with antioxidant effect. In addition, they have the potential to contain several antioxidant enzymes and reduced coenzymes. They are rich in C and E vitamins that have high antioxidant effects and could include several elements with redox potential in their metabolism. Thus, these natural products potentially have strong antioxidant properties (Kalač 2013; Selamoglu et al., 2016). The analysis and evaluation of TAS as a marker of the system that reflects all these enzymatic and non-enzymatic molecules that the mushrooms potentially produce and maintain became significant for the identification and determination of new antioxidant natural resources. Little information is available in the literature on the TAS, TOS and OSI values of mushrooms. In previous studies, it was reported that the TAS value of *Pleurotus eryngii* (DC.) Quél. was 1.93 and the TAS value of *Auricularia polytricha* (Mont.) Sacc. was 0.93 (Yıldırım et al., 2012; Avcı et al., 2016). It was also reported that TAS values of *Tricholoma terreum* (Schaeff.) P. Kumm. and *Coprinus micaceus* (Bull.) Fr. were 0.38 and 0.46, TOS values were 16.76 and 16.87, and OSI values were 4.41 and 3.67, respectively. It was also determined that the TAS value of *Auricularia auricula* (L.) Underw. was 1.010, the TOS value was 23.910, and the OSI was 2.367, while the TAS value of *Cyclocybe cylindracea* (DC.) Vizzini & Angelini was 4.325, the TOS value was 21.109 and the OSI was 0.488, the TAS value of *Sarcosphaera coronaria* (Jacq.) J. Schröt. was 1.066, the TOS value was 41.672 and the OSI was 3.909, the TAS value of *Omphalotus olearius* (DC.) Singer was 2.827 mmol/L, TOS value was 14.210 $\mu\text{mol/L}$ and OSI was 0.503 (Akgül et al., 2016; Sevindik et al., 2017; Akgül et al., 2017; Sevindik et al., 2018ab). In this study, the TAS value of *C. truncatus* was determined as 2.415 \pm 0.176. When compared to previous study findings, it was determined that *C. truncatus* had a lower TAS value when compared to *O. olearius* and *C. cylindracea* mushrooms in the present study. It was also found that *C. truncatus* had higher TAS values when compared to *C. micaceus*, *T. terreum*, *A. polytricha*, *P. eryngii*, *S. coronaria* and *A. auricula* mushrooms. The differences in the findings were due to the antioxidant production capacities of different mushroom species. These results could be due to especially the endogenous or exogenous effects on the organism and resulting differences in the number and diversity of phenolic compounds related to the synthesis and release of secondary metabolites by the defense mechanism of the organism, differences in the vitamin levels with antioxidant

effects, and the changes in the levels of enzymatic/non-enzymatic antioxidant molecules.

In this study, the TOS value of *C. truncatus* was determined as 3.367 \pm 0.155. Analysis of the TOS values demonstrated that the TOS value of *C. truncatus*, used in the present study, was lower when compared to *C. micaceus*, *T. terreum*, *O. olearius*, *C. cylindracea*, *S. coronaria* and *A. auricula*. It was considered that the main reason for these differences between the TOS values was due to the differences between the regions where the mushrooms were collected and the oxidant compound production and accumulation capacities of the mushrooms and the differences in metabolic processes between different mushroom species. It is suggested that mushrooms with high TOS value or any natural product collected in these regions should be consumed with care. It is considered that agents with high TOS values exhibit these biochemical data due the impact of environmental and metabolic factors and these outcomes activate the defense mechanisms, particularly by inducing the production of certain free radicals such as reactive oxygen species for protection against endogenous harmful factors in the environment. The induction of the production of endogenous oxidant molecules by the defense mechanisms of organisms such as mushrooms provides protection against several environmental pollutants. Thus, the fact that *C. truncatus* had low TOS value suggested that there was no adversity related to the consumption of the mushroom in terms of oxidant compounds.

In this study, the OSI value of *C. truncatus* was determined as 0.140 \pm 0.005. It was found that *C. truncatus* OSI value was lower when compared to *C. micaceus*, *T. terreum*, *O. olearius*, *C. cylindracea*, *S. coronaria* and *A. auricula*. This finding demonstrated that oxidant compounds produced by *C. truncatus* were more resistant to endogenous antioxidant compounds when compared to the other mushrooms. *C. truncatus* antioxidant system was more potent and effective, resulting in low OSI levels. The oxidative stress, induced by oxidant molecules, was able to be prevented and removed by TAS, which covers the whole enzymatic and non-enzymatic systems, resulting in low OSI levels.

Conclusion

Total antioxidant status, total oxidant status and oxidative stress level of *C. truncatus* mushroom collected in Kütahya (Turkey) were determined for the first time in the present study. It was thought that the mushroom might



be consumed as a natural antioxidant product due to its antioxidant potential and the low oxidant and oxidative stress status.

Acknowledgment

We would like to express our gratitude to Dr. Omer F. COLAK and Dr. Hasan AKGUL for his contribution to the present study.

References

- Akgul H., Sevindik M., Coban C., Alli H., Selamoglu Z., *New Approaches in Traditional and Complementary Alternative Medicine Practices: Auricularia auricula and Trametes versicolor*, J Tradit Med Clin Natur, 6(239), 2 (2017).
- Akgül, H., Nur, A.D., Sevindik, M., Doğan, M., *Tricholoma terreum ve Coprinus micaceus' un bazı biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi*, Artvin Çoruh Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi, 17(2), 158-162 (2016).
- Aprioku J.S., *Pharmacology of free radicals and the impact of reactive oxygen species on the testis*. Journal of reproduction & infertility, 14(4), 158 (2013).
- Avcı E., Cagatay G., Avci G.A., Cevher S.C., Suicmez M., *An Edible Mushroom with Medicinal Significance; Auricularia polytricha*, Hittite Journal of Science & Engineering, 3(2), 111-116 (2016).
- Breitenbach J., Kränzlin F., *Fungi of Switzerland, Vol. 2. Non gilled fungi-Heterobasidiomycetes, Aphyllophorales, Gasteromycetes*, Verlag Mykologia (1986).
- Dähncke R.M., *1200 Pilze in Farbfotos*, AT Verlag, Stuttgart (2006).
- Dias V., Junn E., Mouradian M.M., *The role of oxidative stress in Parkinson's disease*, Journal of Parkinson's disease, 3(4), 461-491 (2013).
- Erel O., A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status, Clinical biochemistry, 38(12), 1103-1111 (2005).
- Erel O., *A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation*, Clinical biochemistry, 37(4), 277- 285 (2004).
- 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).
- Imtiaj A., Jayasinghe C., Lee G.W., Lee T.S., *Antibacterial and antifungal activities of Stereum ostrea, an inedible wild mushroom*, Mycobiology, 35(4), 210-214 (2007).
- Kalač P., *A review of chemical composition and nutritional value of wild-growing and cultivated mushrooms*, Journal of the Science of Food and Agriculture, 93(2), 209-218 (2013).
- Khan M., Tania M., Zhang D., Chen H., *Cordyceps mushroom: a potent anticancer nutraceutical*, The Open Nutraceutical Journal, 3, 179 (2010).
- Korkmaz A.I., Akgul H., Sevindik M., Selamoglu Z., *Study on determination of bioactive potentials of certain lichens*, Acta Alimentaria, 47(1), 80-87 (2018).
- Ozougwu J.C., *The role of reactive oxygen species and antioxidants in oxidative stress*, International Journal, 3(6),1-8 (2016).
- Riaz A., Rasul A., Hussain G., Zahoor M.K., Jabeen F., Subhani Z., Younis T., Ali M., Iqra S., Selamoglu Z., *Astragaloside: A Bioactive Phytochemical with Potential Therapeutic Activities*, Advances in Pharmacological Sciences, (2018). <https://doi.org/10.1155/2018/9794625>
- Sarrafchi A., Bahmani M., Shirzad H., Rafieian-Kopaei M., *Oxidative stress and Parkinson's disease: New hopes in treatment with herbal antioxidants*, Current pharmaceutical design, 22(2), 238-246 (2016).
- Selamoglu Z., Akgul H., Dogan H., *Environmental effects on biologic activities of pollen samples obtained from different phytogeographical regions in Turkey*, Fresenius Environmental Bulletin, 25, 2484-2489 (2016).
- Sevindik M., Akgul H., Bal C., *Determination of Oxidative Stress Status of Ompholatus olearius Gathered from Adana and Antalya Provinces in Turkey*, Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 21(3), 324-327 (2017).
- Sevindik, M., Akgul, H., Korkmaz, A.I., Sen, I., *Antioxidant Potentials of Helvella leucomelaena and Sarcosphaera coronaria*, J Bacteriol Mycol Open Access, 6(2), 00173 (2018a)
- Sevindik, M., Akgul, H., Bal, C., Selamoglu, Z., *Phenolic Contents, Oxidant/Antioxidant Potential and Heavy Metal Levels in Cyclocybe cylindracea*, Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research, 52(3), 437-441 (2018b). doi:10.5530/ijper.52.3.50
- Smiderle F.R., Baggio C.H., Borato D.G., Santana-Filho A.P., Sasaki G.L., Iacomini M., Van Griensven, L.J., *Anti-inflammatory properties of the medicinal mushroom Cordyceps militaris might be related to its linear (1→ 3)-β-D-glucan*, PLoS One, 9(10), e110266 (2014).
- Thapa A., Carroll N.J., *Dietary Modulation of Oxidative Stress in Alzheimer's Disease*, International journal of molecular sciences, 18(7), 1583 (2017).
- Yıldırım N.C., Turkoglu S., Yıldırım N., Ince K.O., *Antioxidant properties of wild edible mushroom Pleurotus eryngii collected from Tunceli province of Turkey*, DJNB, 7(4): 1647-1654 (2012).
- Yılmaz A., Yıldız S., Kılıç C., Can Z., *Total phenolics, flavonoids, tannin contents and antioxidant properties of Pleurotus ostreatus cultivated on different wastes and sawdust*, International Journal of Secondary Metabolite (IJSM), 4(1) 1-8 (2016).



Geliş(Received) :26/05/2018
Kabul(Accepted) :24/07/2018

Araştırma Makalesi
Doi:10.30708/mantar.429098

Bursa Ve Samsun İllerindeki Tereyağlardan İzole Edilen Funguslar Üzerine Araştırmalar

Hikmet Öznur ÖZTÜRK¹, Günay Tülay ÇOLAKOĞLU*²

Sorumlu yazar: gtcolak@marmara.edu.tr

¹Halkalı Merkez Mh. Karadut Sok. Sevinç 2 Sitesi DB Blok Kat:3 Daire:14 34303
Halkalı/İSTANBUL

²Marmara Üniversitesi Göztepe Kampüsü Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü 34722
Kadıköy/İSTANBUL

Öz: Bu çalışma 2012-2013 yılları arasında yapılmıştır. Bursa ve Samsun illerinden yaz ve kış mevsimlerinde çeşitli evlerden toplanan tereyağı numunelerinde mikrofungusların gelişip, belirlenmesi amaçlanmıştır. Örnek alımı, tereyağının üst yüzeyi steril bir spatula ile sıyrılarak, hava ile teması olmayan kısımlardan, steril eldiven ve maske takılarak yeterli miktarda alınmıştır. Alınan tereyağları, steril numune kapları içerisine koyularak, taşıma çantasıyla soğuk zincirde saklanarak, laboratuvar ortamına getirilerek gerekli incelemeler yapılmıştır. Araştırmada toplam 139 fungus kolonisi izole edilmiş ve 5 cinse ait 14 tür belirlenmiştir. Elde edilen cinsler *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium* ve *Geotrichum*' dur. Bunlar içerisinde en çok elde edilen türler ise *Penicillium* ve *Aspergillus* cinslerine ait olmuştur. Çalışmada izole edilen türler ise *Aspergillus flavus*, *A.parasiticus*, *A.versicolor*, *Cladosporium herbarum*, *C.sphaerospermum*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium chrysogenum*, *P.echinulatum*, *P.griseofulvum*, *P.palitats*, *P.roqueforti*, *P.solitum*, *P.verrucosum* ve *Geotrichum candidum*' dur.

Anahtar kelimeler: Bursa, Samsun, tereyağı, fungus

Researches On Fungi Which Isolated From Butters In Bursa And Samsun Cities

Abstract: This study was carried out between 2012-2013 years. Aim of this study is determine microfungi that developed from butter samples collected from various houses in the summer and winter seasons from Bursa and Samsun cities. Sample collection is obtained by inserting sterile gloves, and masks while scraping top surface of butter (no portion of contact with air) with a sterile spatula. Taken samples of butter are put into sterile containers and hidden in carrying case using cold chain than brought to the laboratory and necessary investigations are made. A total of 139 fungus colonies were isolated in the study and 14 species belonging to five genus were identified. Obtained genera are *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium* and *Geotrichum*. Among these species are the most achieved has been belonging to the genus *Penicillium* and *Aspergillus*. In this study, isolated species are *Aspergillus flavus*, *A.parasiticus*, *A.versicolor*, *Cladosporium herbarum*, *C.sphaerospermum*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium chrysogenum*, *P.echinulatum*, *P.griseofulvum*, *P.palitats*, *P.roqueforti*, *P.solitum*, *P.verrucosum* and *Geotrichum candidum*.

Key words: Bursa, Samsun, butter, fungus

Giriş

Mikrofunguslar doğada yaygın olarak bulunurlar. Toprakta bulunabildikleri gibi havada bulunan toz partikülleri üstünde ve ekme, peynir, tereyağı, meyveler, tahıllar ve diğer tüm gıdalar üzerinde yaygın olarak görülmektedirler (Madigan ve Ark., 2003). Mikrofungusların konsantrasyonları rüzgar, nem, sıcaklık,

yağmur, yükseklik ve vejetasyona bağlıdır. Rutubetli ortamlarda mikrofungusların yoğunluğu da fazla olmaktadır (Çolakoğlu, 2003; Çolakoğlu, 1996 a; Çolakoğlu, 1996 b; Çolakoğlu, 1996 c). Rüzgar hızı, nispi nem ve sıcaklık gibi meteorolojik faktörlerin mikrofungusların konsantrasyonlarını ve tiplerini etkilediği



belirtilmektedir (Bandyopadhyay ve Ark., 1991; Agarwal ve Shivpuri, 1969).

Tereyağı, ülkemizin her yerinde yapılmakla birlikte en fazla Trabzon, Kars, Erzurum, Urfa, Diyarbakır ve çevrelerinde üretilmektedir. Her bölgenin çayır ve mera florasının farklı oluşu; sütlerin ve dolayısıyla bu sütlerden üretilen tereyağlarının tat, aroma, renk, kalite ve bileşim bakımından farklı olmasına neden olmaktadır. Ayrıca bölgenin iklimi ve tereyağı üretim yerinin sıcaklığı da tat ve aroma üzerinde etkili olmaktadır. Bu nedenlerle ülkemizde üretilen tereyağları üretildikleri bölgelere mahsus çeşitli isimlerle anılmaktadır (Şengül ve Ark., 1998). Halk dilinde genelde elde edildikleri hayvanın türü (koyun tereyağı, manda tereyağı, inek tereyağı gibi) veya yapıldıkları bölge ya da ilin adı ile (Trabzon tereyağı, Urfa tereyağı gibi) anılmaktadır.

Tereyağı, sütün en önemli unsuru olan süt yağının bünyesinde fazlaca bulunduran, bazı besin unsurları ve kalorisi çok zengin bir gıda maddesidir. TSE 1331' deki tanımında tereyağı; krema, kaymak, süt ve yoğurdun tekniğine uygun yöntem ve aletlerle işlenmesiyle elde edilen, gerektiğinde Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliğinde izin verilen katkı maddeleri de katılabilen, kendine özgü tat, koku ve kıvamdaki bir süt ürünüdür (Anonim, 1995; Yöney, 1970).

Çalışmamızda tereyağlarında hangi fungus türlerinin bulunduğu ve hakim floranın hangi cins ve türlere ait olduğu saptanmıştır. Elde edilen veriler sonucunda tereyağlarının insan sağlığı açısından fayda ve zararları bildirilmiştir.

Materyal ve Yöntem

Tereyağı numuneleri Bursa ve Samsun illerinden 2012-2013 yılları arasında yaz ve kış mevsimi olmak üzere yılda 2 kere, her ilden 2 tane olmak üzere toplam 16 tane alınmıştır. Bu numuneler soğutucularla ve steril torbalarla laboratuvara getirilip, köy tereyağlarının üzerinde oluşan mikrofunguslar izole edilip, tayin edilmiştir.

Örnek alımı, tereyağının üst yüzeyi steril bir spatula ile sıyrılarak, hava ile teması olmayan kısımlardan alınmıştır. Örnekler yaz mevsiminde Temmuz ayında kış mevsiminde Şubat ayında sabah 09:00 ile 11:00 arasında alınmıştır. Bu işlem 2 farklı köyde, 2 farklı haneden seçilerek uygulanmıştır. Örnekler steril eldiven ve maske takılarak her seferinde 200' er gram alınmıştır. Alınan tereyağı örnekleri, steril numune kapları içerisine koyularak, taşıma çantasıyla +3 - +6 °C'de saklanarak, laboratuvar ortamına getirilmiştir.

Bu çalışma için Bursa ve Samsun illerinden toplanan tereyağı örnekleri homojenize edilmiştir. Bu işlem için 1' er g' lik tereyağı örneklerine 10 ml steril fizyolojik su eklenmiştir (Anonim, 1995). Küflerin zon çaplarının genişlemesini engellemek için içine 30 mg/l Rose Bengal ve bakterilerin üremesini engellemek için ise 30 mg/l streptomisin ilave edilmiş (Kornacki ve Ark., 2001) Pepton Dekstroza Agara ekilmiş, 22-26 °C sıcaklıkta 7-10 gün inkübasyondan sonra üreyen mikrofungus kolonileri izole

edilmiştir. Homojenize olmuş örneklerde mikrofungusların üremeleri amacıyla mikrofunguslar Malt Ekstrakt Agar (MEA), Patates Dekstroza Agar (PDA) ve Czapek's Agar (CZ) besiyerlerine ekilmiş, 22-26°C sıcaklıkta 7-10 gün inkübe edilmiş, üreyen mikrofungusların saf kolonileri elde edilmiş ve makroskopik incelemeleri yapılmıştır.

Mikrofungusların mikroskopta mikroskopik yapılarının incelenmesi için pikrik asitle boyanmış laktofenol çözeltisi preparat ortamı olarak kullanılmıştır (Bilgehan, 2002). Pikrik asitle boyanmış laktofenol çözeltisi lam üzerine bir-iki damla damlatılarak, steril özenin ucu ile alınan mikrofunguslar laktofenol çözeltisinin içine konulmuş ve üzerlerine lamel kapatılmıştır. Mikroskopun okülerine takılan oküler mikrometrik disk ile hazırlanan preparatlardaki mikrofungusların ölçümü mikronlarla yapılmış, her bir mikrofungusun bütün organları 50 kere ölçülmüş, ortalaması alınmış, yabancı eserlerden (Klich, 2002; Samson ve Ark., 2002; Pitt ve Hocking, 1999) yararlanılarak teşhisleri yapılmış, mikroskopik özellikleri kaydedilmiştir. İncelemesi biten preparatlardaki lamellerin kenarları oje ile kapatılarak saklama kutularına konulmuştur.

Bulgular

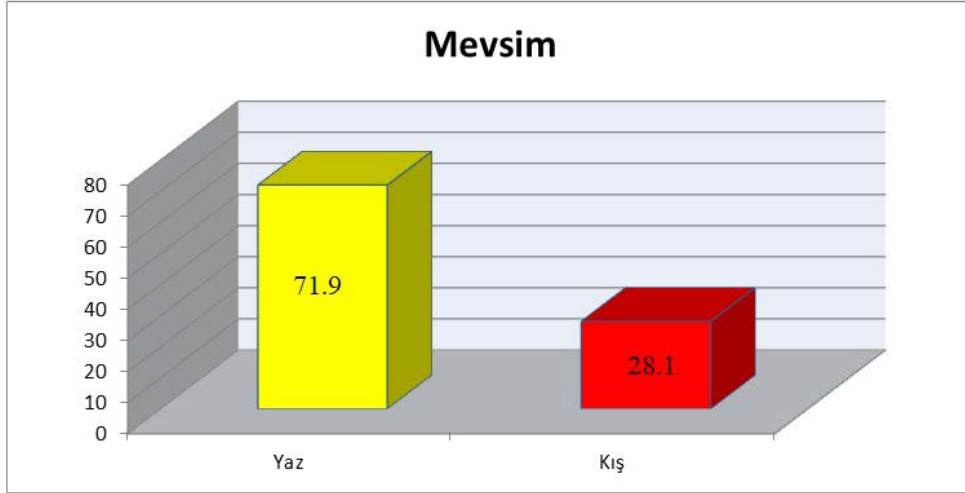
2012-2013 yılları arasında Türkiye'deki Bursa ve Samsun illerinden yaz ve kış mevsimlerinde 2 farklı evden alınan tereyağı numunelerinden toplamda 139 koloni incelenmiştir (Tablo 1, Şekil 1), 5 cinsle ait 14 farklı tür belirlenmiştir. Toplamda en fazla izole edilen mikrofungus cinsi % 47.5 ile *Penicillium* olup, bunu % 36 ile *Aspergillus*, % 7.9 ile *Geotrichum* ve % 4.3 ile *Cladosporium* ve *Fusarium* takip etmiştir (Tablo 2, Şekil 2).

Tablo 1. Bursa ve Samsun illerinde 2012-2013 yılları arasında yaz ve kış mevsiminde izole edilen toplam mikrofungus koloni sayısı ve yüzde oranları

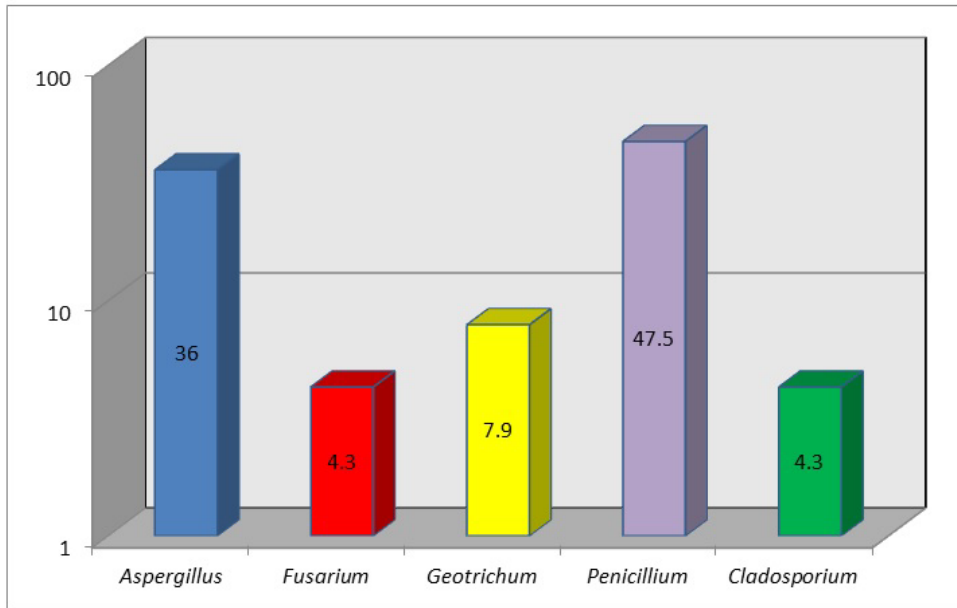
Mevsim	Koloni	%
Yaz	100	71.9
Kış	39	28.1
Toplam	139	100

Tablo 2. Bursa ve Samsun illerinde 2012-2013 yılları arasında izole edilen toplam mikrofungus cinslerinin koloni sayısı ve yüzde oranları

Cins	Koloni Sayısı	%
<i>Aspergillus</i>	50	36
<i>Cladosporium</i>	6	4.3
<i>Fusarium</i>	6	4.3
<i>Penicillium</i>	66	47.5
<i>Geotrichum</i>	11	7.9
Toplam	139	100



Şekil 1. Bursa ve Samsun illerinde 2012-2013 yılları arasında yaz ve kış mevsiminde izole edilen toplam mikrofungus türlerinin yüzde oranları



Şekil 2. Bursa ve Samsun illerinde 2012-2013 yılları arasında izole edilen fungus cinslerinin yüzde oranları

Bursa ilinde 5 cinse ait 13 tür teşhis edilmiştir. En çok izole edilen tür % 17.8 ile *Penicillium chrysogenum* olmuştur ve bunu % 16.4 ile *Aspergillus flavus*, % 12.3 ile *Penicillium griseofulvum*, % 11 ile *Penicillium roqueforti*, % 9.6 ile *Penicillium palitans*, % 8.2 ile *Cladosporium sphaerospermum* ve *Geotrichum candidum*, % 4.1 ile *Aspergillus versicolor* ve *Fusarium oxysporum*, % 2.7 ile *Aspergillus parasiticus*, *Cladosporium herbarum*, *Penicillium echinulatum* ve *Penicillium verrucosum* takip etmiştir (Tablo 3, Şekil 3).

Samsun ilinde 4 cinse ait 10 tür teşhis edilmiştir. En çok izole edilen tür % 37.9 ile *Aspergillus flavus* olmuştur ve bunu % 13.6 ile *Penicillium palitans*, % 12.1 ile *Penicillium chrysogenum*, % 7.6 ile *Geotrichum candidum*, % 6.1 ile *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus versicolor* ve *Penicillium echinulatum*, % 4.5 ile *Fusarium oxysporum*, % 3 ile *Penicillium roqueforti* ve *Penicillium solitum* takip etmiştir (Tablo 4, Şekil 4).

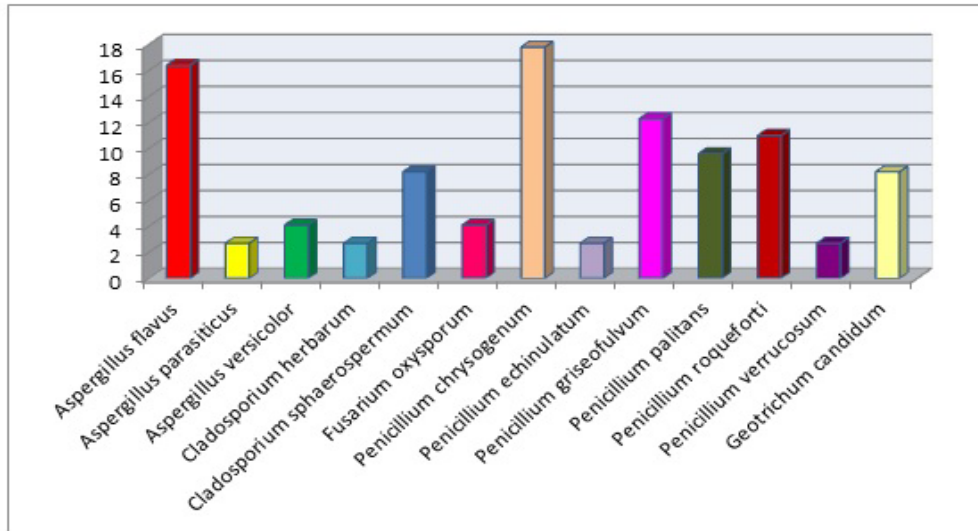


Tablo 3. Bursa ilinde 2012-2013 yılları arasında izole edilen toplam mikrofungus türlerinin koloni sayısı ve yüzde oranları

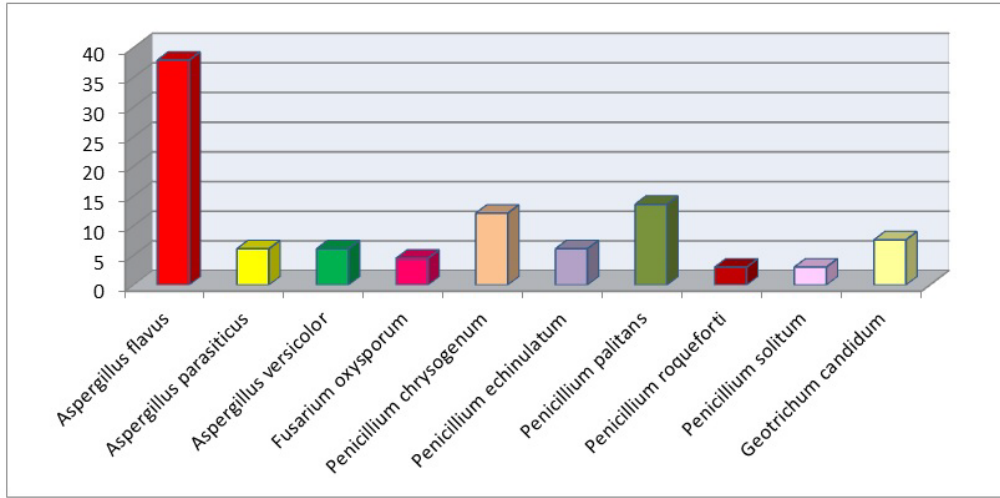
Tür	Koloni	%
<i>Aspergillus flavus</i>	12	16.4
<i>Aspergillus parasiticus</i>	2	2.7
<i>Aspergillus versicolor</i>	3	4.1
<i>Cladosporium herbarum</i>	2	2.7
<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	4	8.2
<i>Fusarium oxysporum</i>	3	4.1
<i>Penicillium chrysogenum</i>	13	17.8
<i>Penicillium echinulatum</i>	2	2.7
<i>Penicillium griseofulvum</i>	9	12.3
<i>Penicillium palitans</i>	7	9.6
<i>Penicillium roqueforti</i>	8	11
<i>Penicillium verrucosum</i>	2	2.7
<i>Geotrichum candidum</i> (<i>Dipodascus geotrichum</i>)	6	8.2
Toplam	73	100

Tablo 4. Samsun ilinde 2012-2013 yılları arasında izole edilen toplam mikrofungus türlerinin koloni sayısı ve yüzde oranları

Tür	Koloni	%
<i>Aspergillus flavus</i>	25	37.9
<i>Aspergillus parasiticus</i>	4	6.1
<i>Aspergillus versicolor</i>	4	6.1
<i>Fusarium oxysporum</i>	3	4.5
<i>Penicillium chrysogenum</i>	8	12.1
<i>Penicillium echinulatum</i>	4	6.1
<i>Penicillium palitans</i>	9	13.6
<i>Penicillium roqueforti</i>	2	3
<i>Penicillium solitum</i>	2	3
<i>Geotrichum candidum</i> (<i>Dipodascus geotrichum</i>)	5	7.6
Toplam	66	100



Şekil 3. Bursa ilinde 2012-2013 yılları arasında izole edilen toplam mikrofungus türlerinin yüzde oranları



Şekil 4. Samsun ilinde 2012-2013 yılları arasında izole edilen toplam mikrofungus türlerinin yüzde oranları

Tartışma ve Sonuç

Çalışmamızda örnek alınan mevsimlere göre; yaz mevsimindeki mikrofungus miktarının, kış mevsimindeki mikrofungus miktarına oranının yaklaşık ikibuçuk katı olduğu tespit edilmiştir. Sıcaklık ve nemin yüksek olduğu mevsimlerde mikrofungus miktarında artış olduğu görülmüştür (Tablo 1). Yaz mevsiminde mikrofungus miktarının çok, kış mevsiminde ise daha az olmasının sebebinde coğrafi koşullar, hava, sıcaklık, tereyağının yapıldığı sütün sağıldığı koşullar, sütün sağıldığı hayvanların beslendiği ortamlar, tereyağının yayılanmasındaki faktörler, yapan kişinin kişisel hijyeni, ortamın hijyeni, saklandığı kabın steril olması ve buzdolabı koşulları etkili olmuştur (Tablo 1).

Bursa'da yer alan 16 farklı gıda üretim fabrikası ve ambarlarından hava kaynaklı mikrofunguslar izole edilmişlerdir. Bir yılda 864 Petri kutusu üzerinde toplam 315 koloni olduğu belirtilmiştir ve 20 cinse ait 63 küf türü ve 4 varyete saf kültür izole edilmiştir. *Aspergillus* ve *Penicillium* cinslerine ait 7 tür ve 1 varyete bulunduğu kaydedilmiştir. Çalışmada yüksek miktarlarda *Cladosporium*, *Penicillium*, *Alternaria* ve *Aspergillus*' un izole edildiği görülmüştür (Şimşekli ve Ark., 1999).

Aspergillus, *Cladosporium*, *Fusarium* ve *Penicillium* allerjen mikrofunguslar olup (Green ve Ark., 2003; Su ve Ark., 2001; Palmas ve Ark., 1999) çalışmamızda çok sayıda izole edilmiştir (Tablo 2). *Cladosporium* türleri ise yalnızca Bursa ilindeki tereyağı örneklerinde bulunmuştur. *Penicillium* ve *Aspergillus* türleri ise yüksek miktarlarda elde edilmiştir (Tablo 3).

Samsun ilinde tüketime sunulan 70 adet tereyağı örneği üzerinde yapılan bir çalışmada örneklerin tamamında, maya ve küf sayısının standartların üzerinde olduğu tespit edilmiştir (Çon ve Oysun, 1990). Malatya ilinde yoğurt ve kremadan üretilen tereyağlarında (Hayaloğlu ve Konar, 2001), Konya ilinde tüketime

sunulan kahvaltılık tereyağlarında (Yalçın ve Ark., 1993) yapılan çalışmalarda maya ve küf sayımı yapılmıştır.

2005 yılında Avustralya'da bir çalışmada, çeşitli süt ürünlerinden izole edilen mayalar arasında *Debaryomyces hansenii* (*C. famata*), *Geotrichum candidum* (Lopandic ve Ark., 2005) ve peynir üzerinde yapılan bir başka çalışmada ise *Geotrichum candidum* (Arevalo ve Ark., 1996) bulunduğu bildirilmiştir.

Dutch, Permesan ve Swiss peynirlerinde yapılan çalışmalarda dominant floranın *P. verrucosum* var. *cyclopium* ve *P. roqueforti* olduğu tespit edilmiştir (Sert, 1992). Bu durum çalışmamızla uyum sağlamaktadır (Tablo 3 ve Tablo 4). Konya ve yöresi küflü peynirlerinde yapılan bir çalışmada belirlenen küf türlerinin büyük çoğunluğunun peynir de dahil olmak üzere çeşitli gıda maddelerinde mikotoksin üretme yeteneğinde türler olduğu belirtilmiştir (Özkalp ve Durak, 1998).

Yapılan bu çalışmalar çalışmamızı desteklemektedir. Çalışmamızda en baskın tür *Penicillium* olup, sırasıyla bunu *Aspergillus*, *Geotrichum*, *Cladosporium* ve *Fusarium* takip etmiştir (Tablo 2). Çalışmamızın sonuçlarına göre tereyağlardan elde edilen mikrofungusların yoğunluğu Bursa ilinde Samsun iline göre daha fazla bulunmuştur (Tablo 3 ve Tablo 4).

Funguslar gıdalara bulaşarak ürerler ve bu esnada metabolizma artıkları olan toksinler (mikotoksin) gıdalarda bozulmalara yol açar. Bu gıdaların tüketilmesiyle çeşitli mantar enfeksiyonları ve mikotoksin zehirlenmeleri meydana gelebilir (Topal, 1984). İnsanlarda enfeksiyona neden olan mikrofunguslar *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Rhizopus* ve *Mucor* olarak bildirilmiştir. Süt ve süt ürünlerinde küflenmeye neden olan kontamine türlerden *Aspergillus flavus* (%16.4 Tablo 3; %37.9 Tablo 4) aflatoksin B₁, siklopiazonik asit, 3-nitropropionik asit, *Aspergillus parasiticus* (%2.7 Tablo 3; %6.1 Tablo 4) aflatoksin B₁, B₂, G₁, G₂ mikotoksinleri, *Aspergillus versicolor* (%4.1 Tablo 3; %6.1 Tablo 4)



sterigmatisist, nidulotoksin toksik metabolitleri üretirler (Klich, 2002; Samson ve Ark., 2002; Tunail 2000; Özkalp ve Durak,1998; Hassanin, 1993). *Penicillium chrysogenum* (%17.8 Tablo 3; %12.1 Tablo 4) rokfordin C, penisilin, *Penicillium echinulatum* (%2.7 Tablo 3; %6.1 Tablo 4) territrems, *Penicillium griseofulvum* (%12.3 Tablo 3) patulin, siklopiazonik asit, rokfordin C, griseofulvin, *Penicillium palitans* (%9.6 Tablo 3; %13.6 Tablo 4) siklopiazonik asit, fumigaklavin A ve B, *Penicillium roqueforti* (%11 Tablo 3; %3 Tablo 4)' nin bazı suşları rokfordin C, izofumigaklavin A ve B, PR toksin, mikofenolik asit toksik metabolitleri, *Penicillium solitum* (%3 Tablo 4)' un siklopenin, siklofenol, dehidrosiklopeptin, siklopeptin, solistatin metabolitleri ve *Penicillium verrucosum* (%2.7 Tablo 3) okratoksin A üretmektedirler (Samson ve Ark., 2002; Tunail 2000; Pitt ve Hocking, 1999; Tsai ve Ark., 1988). *Fusarium oxysporum* (%4.1 Tablo 3; %4.5 Tablo 4)' un fusarik asit, moniliformin ürettiği bildirilmiştir (Samson ve Ark., 2002; Pitt ve Hocking,1999). *Cladosporium herbarum* (%2.7 Tablo 3) ve *Cladosporium sphaerospermum* (%8.2 Tablo 3)' un habitatlarının gıda, *Geotrichum candidum* (%8.2 Tablo 3; %7.6 Tablo 4)' un ise habitatlarından birinin süt ve süt ürünleri olduğu belirtilmiştir (Samson ve Ark., 2002; Pitt ve Hocking,1999). Tablo 3 ve ve Tablo 4' de görüldüğü üzere Bursa ve Samsun illerindeki tereyağları örneklerinden *Penicillium* ve *Aspergillus* türleri yüksek oranda elde edilmişlerdir.

Sonuç olarak, *Aspergillus* (Tunail 2000; Hassanin, 1993), *Penicillium* (Tunail 2000; Tsai ve Ark., 1988), *Fusarium* (Topal, 1984) türleri mikotoksin salgılamaları ile *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Cladosporium* (Green ve Ark., 2003; Su ve Ark., 2001; Palmas ve Ark., 1999) ve *Geotrichum* türleri (Sert, 1992) (Tablo 3 ve Tablo 4) insan sağlığı açısından zararlı olmaları sebebiyle insanlarda hastalıklara neden olabilmektedirler. Bu doğrultuda hassas ve duyarlı kişiler mikrofunguslarla kontamine olmuş tereyağlarını kullanırken bu mikrofungusların mikotoksin ürettiklerini, bu mikotoksinlerin risklerini göz önünde bulundurmaldırlar. Ayrıca tereyağı üretimi yapılan yerlerin iklim koşullarına, uygun nem ve sıcaklık olmasına, hijyenine, tereyağlarının yöntemlerine göre muhafaza edilmelerine, depolama koşullarına, ambalajlanmalarına, üretim yapan kişilerin hijyenlerine dikkat edilmesi önerilmekte ve tereyağı kriterlerinin güvenilir olması gerekmektedir.

Teşekkür

Bu çalışma Hikmet Öznur Öztürk'ün "Tereyağlardan İzole Edilen Funguslar Üzerine Araştırmalar, 2015" isimli Yüksek Lisans Tezinin bir bölümüdür. Çalışma ayrıca Proje No: FEN-C-YLP-191212-0361, 2012, Başlama: 2012, Bitiş: 2015 projesidir. Projeye destek veren Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu'na (BAPKO, İstanbul) teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Agarwal M., Shivpuri D.N. *Studies on the Allergenic Fungal Spores of the Delhi, India, Metropolitan Area-Botanical Aspects (Aeromycology)*. J. Allergy., 44: 193-203(1969).
- Anonim. S 1331 *Tereyağı Standardı*. Türk Standartları Enstitüsü, Ankara, (1995).
- Arevalo M.P., Rodriguezaverez C., Arias A., Sierra A. *Occurrence of Molds in Fresh Cheese*. J. Food Quality, 19: 251(1996).
- Bandyopadhyay R., Mughogho L.K., Satyanarayana M.U. *Occurrence of Airborne Spores of Fungi Causing Grain Mould Over a Sorghum Crop*. Mycol. Res. 95: 1315-1320(1991).
- Bilgehan H. *Klinik Mikrobiyolojik Tanı*. 3. Baskı, Barış Yayınları, Fakülteler Kitabevi, İzmir, Türkiye, 94-95(2002).
- Çolakoğlu G. *Airborne Fungal Spores at the Belgrad Forest Near the City of Istanbul, Turkey, in the Year 2001 and Their Relation to Allergic Diseases*. J. Basic Microbiol., 43(5): 376-384(2003).
- Çolakoğlu G. *Fungal Spore Concentrations in the Atmosphere at the Anatolia Quarter of Istanbul, Turkey*. J. Basic Microbiol., 36(3): 155-162(1996 a).
- Çolakoğlu G. *Mould Counts in the Atmosphere at the Europe Quarter of Istanbul, Turkey*. J. Basic Microbiol., 36(6): 389-392(1996 b).
- Çolakoğlu G. *The Variability of Fungal Flora in the air During Morning and Evening in 1994*. J. Basic Microbiol., 36(6): 393-398(1996 c).
- Çon A. Oysun G. *Samsun İl Merkezinde Tüketime Sunulan Tereyağların Bazı Nitelikleri Üzerinde Bir Araştırma*. 19 Mayıs Üniv. Ziraat Fak. Araştırma Yıllığı, 80-82(1990).
- Green B. J., Mitakakis T. Z., Tovey E. R. *Allergen Detection from 11 Fungal Species Before and After Germination*. J. Allergy Clin. Immunol., 111: 285-289(2003).
- Hassanin N.I. *Detection of Mycotoxigenic Fungi and Bacteria in Processed Cheese in Egypt*. Int. Biodeter. & Biodegr., 31: 15-23(1993).
- Hayaloğlu A.A., Konar A. *Malatya Yöresinde Yoğurttan ve Kremadan Üretilen Tereyağlarının Mikrobiyolojik Kalitesi Üzerinde Karşılaştırmalı Bir Araştırma*. Gıda Derg., 26(6): 429-435(2001).
- Klich M.A. *Identification of Common Aspergillus Species*. Centraalbureau Voor Schimmelcultures-Utrecht, The Netherlands, 46-105(2002).
- Kornacki J., Flowers R., Bradley R. Jr. *Microbiology of Butter and Related Products*, in Applied Dairy Microbiology. Eds. Marth E., Steele J., Marcel Dekker, Inc., 127-50, New York, USA, (2001).
- Lopandic K., Zelger S., Bänzky L. K., Eliskases-Lechner F., Prillinger H. *Identification of Yeasts Associated with Milk Products Using Traditional and Molecular Techniques*. Food Microbiology, 14(2): 132-150(2005).



- Madigan M.T., Martinko J.M., Parker J. Brock Biology of Microorganisms. 10th Edition, Pearson Education International, USA, 1-994(2003).
- Özkalp B., Durak Y. Konya ve Civarı Küflü Peynirlerinde Küf Florasının Araştırılması. Tr. J. of Biology, 22: 341-346(1998). © TÜBİTAK.
- Pitt J.I., Hocking A.D. Fungi and Food Spoilage. An Aspen Publication, Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg, Maryland, 90-322(1999).
- Palmas F., Cosentino S., Meloni, V., Fadda M. E. Occurrence of Mites and Fungi in the Homes of Patients with Allergic Manifestations. Aerobiologia, 15: 109-114(1999).
- Samson R.A., Hoekstra E.S., Frisvad J.C., Filtenborg O. Introduction to Food-and Airborne Fungi. Centraalbureau Voor Schimmelcultures-Utrecht, The Netherlands, 72-338(2002).
- Sert S. Bazı Peynir Çeşitlerinde Küf Florası ve Aflatoksin İçerikleri İle Aflatoksin Potansiyellerinin Araştırılması: Küf Florası. Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg., 23(2): 89-100(1992).
- Su H. J., Wu P. C., Chen H. L., Lee F. C., Lin L. L. Exposure Assessment of Indoor Allergens, Endotoxin, and Airborne Fungi for Homes in Southern Taiwan. Environmental Research Section A, 85: 135-144(2001).
- Şengül M., Çakmakçı S., Ünsal M. Trabzon Tereyağlarının Bazı Fiziksel ve Kimyasal Özelliklerinin Tespiti. V. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu. Milli Produktivite Merkezi Yayınları. Yayın No: 621. Ankara, 230-244(1998).
- Şimşekli Y., Gücin F., Asan A. Isolation and Identification of Indoor Airborne Fungal Contaminants of Food Production Facilities and Warehouses in Bursa, Turkey. Aerobiologia, 15: 225-231(1999).
- Topal Ş. Gıda Maddelerinden Ayrılan (İzole Edilen) ve Tanınan (İdentifiye Edilen) Küfler Üzerinde Araştırmalar. Tübitak-MAE, 253-261(1984).
- Tsai W.Y.J., Liewen M.B., Bullerman L.B. Toxicity and Sorbate Sensitivity of Molds Isolated from Surplus Commodity Cheeses. J. Food Protect, 51: 457-462(1988).
- Tunail N. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Genişletilmiş 2. Baskı, Ankara, 522(2000).
- Yalçın S., Tekinşen, O. C., Doğruer Y., Gürbüz Ü. Konya'da Tüketime Sunulan Tereyağlarının Kalitesi. Selçuk Üniv. Veteriner Fak. Derg., 9(2): 20-21(1993).
- Yöneş Z. Süt ve Mamulleri. Ankara Üniv. Basımevi, Ziraat Fak. Yayınları, Yayın No: 421, Ankara, (1970).



Geliş(Received) :25/05/2018
Kabul(Accepted) :18/09/2018

Research Article
Doi:10.30708/mantar.427101

Morphology and Phylogeny Reveal a New Record *Gyromitra* for Turkish Mycobiota

İsmail ACAR¹, Ayşenur KALMER²,
Yusuf UZUN³, Ayten DİZKIRICI TEKPINAR^{*2}

*Corresponding author: aytendizkirici@gmail.com

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

²Department of Molecular Biology and Genetics, Van Yüzüncü Yıl University, 65080 Van, Turkey

³Department of Pharmaceutical Sciences, Faculty of Pharmacy, Van Yüzüncü Yıl University, 65080 Van, Turkey

Abstract: In the current study, *Gyromitra brunnea* Underw. belonging to the family *Discinaceae* was recorded for the first time from Turkey. Two candidate samples were described by using both morphological and molecular data. Short description of the newly reported species was given together with its photographs related to macro and micromorphologies and discussed briefly. Additionally, phylogenetic position of *Gyromitra brunnea* was indicated in the phylogenetic tree constructed based on the sequence of 28S (LSU) rRNA gene.

Key words: *Gyromitra brunnea*, fungal taxonomy, new record, LSU, phylogeny

Türkiye Mikobiyotası İçin Yeni Kayıt *Gyromitra*'nın Morfolojik ve Filogenetik Olarak Ortaya Çıkarılması

Öz: Bu çalışmada, *Discinaceae* ailesine ait olan *Gyromitra brunnea* Underw. Türkiye için ilk kez kaydedilmiştir. Hem morfolojik hem de moleküler veriler kullanılarak iki örnek tanımlanmıştır. Rapor edilen yeni kayıt türün kısa açıklaması, makro ve mikromorfolojiyle ilgili fotoğraflar ile birlikte verilmiş ve kısaca tartışılmıştır. Ek olarak, *Gyromitra brunnea*'nın filogenetik konumu, 28S (LSU) rRNA gen dizisine dayalı olarak oluşturulan filogenetik ağaçta gösterilmiştir.

Anahtar kelimeler: *Gyromitra brunnea*, fungal taksonomi, yeni kayıt, LSU, filogeni

Introduction

Gyromitra Fr. (*Discinaceae*) is a widespread macrofungus genus of Ascomycetes and is represented by 76 species worldwide (www.MycoBank.org; Robert et al., 1999). The genus has brain shaped ascocarps with generally reddish brown to yellowish brown and well developed stems. Most of *Gyromitra* species are poisonous and causes gastrointestinal syndrome. There is limited number of reliably identified *Gyromitra* species due to many taxonomic problems between *Discina* and *Gyromitra* genera. In regards to mutual generic boundaries among them, reliable and exact taxonomical studies have not been established (Van Vooren and Moreau, 2009). For instance, Fries (1849) considered that *Discina* and *Gyromitra* were different genera. However, Harmaja (1969) suggested calling *Discina perlata* Fr. and

D. leucoxantha Bres. species as *Gyromitra perlata* and *G. leucoxantha*, respectively stating that the name *Gyromitra* is older than the name *Discina*. He also transferred *Discina macrospora* Bubak to *Gyromitra* genus (Harmaja, 1973). Eventually, *Discina* was accepted as a subgenus of *Gyromitra* by Abbott and Currah (1997).

Taxonomic ambiguities between these taxa have been originated from traditional classification which is unclear due to similar morphological and ecological features. Therefore, not only morphological characters but also molecular data are needed to identify macrofungus, correctly (Undan et al., 2016). All eukaryotic and prokaryotic cells contain rRNA genes which are widely conserved during evolutionary time and they are used for phylogenetic classification. The LSU (28S) region has been used extensively for fungal phylogeny and taxonomic



placement (Asemaninejad et al. 2016). This region contains the D1 and D2 hypervariable domains which are valuable for species identification in various fungal groups (Raja et al. 2017). Methven and his colleagues (2013) resolved nomenclatural problems between *Discina* and *Gyromitra* taxa by using sequences of 28S rRNA gene region. They show that *Discina macrospora* nested with *Gyromitra perlata* with high bootstrap value and produced *Discina* subgenus and at the end of the study they proposed five subgenera for the genus as *Gyromitra*, *Discina*, *Caroliniana*, *Pseudorhizina* and *Melaleuroides*. In their study, *G. brunnea* was also studied and characterized by an apical hymenophore that has 2-5 distinct lobes with thick margins, seams joining the lobes and a whitish undersurface that is partially exposed. This sample was also characterized by Kuo (2012) and he distinguished the species from other *Gyromitra* species by reddish brown cap, which is decidedly lobed and often gathered into two or three points, creating a saddle-shaped appearance.

According to the checklists of Turkish macrofungi, six *Gyromitra* species are found in Turkey and *Gyromitra brunnea* has not been previously reported (Sesli and Denchev, 2014; Solak et al., 2015). Therefore, the main goal of the present study is to identify the collected specimens by using both morphological and molecular data and add newly reported species, *Gyromitra brunnea*, to the macrofungi of Turkey.

Material and Method

Taxon sampling and morphological studies

The macrofungus samples were collected from Şemdinli district of Hakkari, Turkey. Two samples, representatives of *Gyromitra brunnea*, were collected and used for morphological and molecular studies. Collected samples were deposited in the Fungarium of Van Yüzüncü Yıl University (VANF). Specimens were photographed in situ, using with a Canon (EOS 60D) camera equipped with Tokina 100 mm macro lens during field work. Macroscopic characters (cap and stipe) were recorded using fresh materials. Microscopic structures (ascus, paraphysis and ascospores) were observed in distilled water under a Leica EZ4 stereo microscope and sections were examined under a Leica DM500 research microscope. Microscopic structures were measured with the Leica Application Suite (version 3.2.0) programme and described based on different studies [Murrill (1913), Bresinsky and Stangl (1977), Bon (1991), Breitenbach and Kränzlin (1991), Dähncke (2004), Jordan (2004), Gerault (2005), Cléménçon (2009), Vizzini et al. (2011), Buczacki (2012), Garcia et al. (2013), Kuo and Methven (2014)].

DNA extraction, PCR amplification and Sequencing

Total DNA was extracted from dried ascomata using the CTAB method (Doyle and Doyle, 1987). The purity and quantity of extracted DNA were determined by using

NanoDrop2000c UV-Vis Spectrophotometer (Thermo Scientific) and 0.8% agarose gel electrophoresis. DNA amplification was performed in a 25 µl volume mixture containing genomic DNA (10 ng/µl), 10X PCR Buffer, MgCl₂ (25 mM), dNTP mixture (10 mM), selected primer pair (10 µM), Taq polymerase (5u/µl) and sterile water. Primer pair for LSU; LROR 5'ACCCGCTGAACCTTAAGC3'/LR5 5'TCCTGAGGGAACTTCG3' (Vilgalys and Hester, 1990) was used for amplification (Figure 1). PCR products were run in a 1.0 % agarose gel and visualized by staining with Gelred dye and positive reactions were sequenced with forward and reverse PCR primers using ABI 3730XL automated sequencer (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

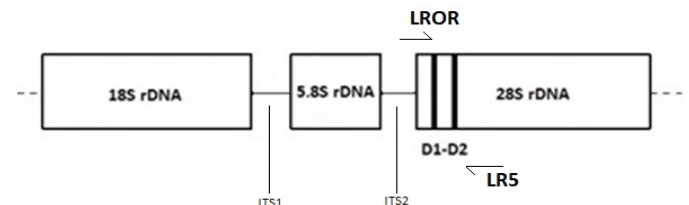


Figure 1. Primers [LROR (forward) and LRS (reverse)] used for amplification of D1 and D2 hypervariable domains of 28S large subunit (LSU). Length of amplified area was about 880 bp.

Sequence alignment and phylogenetic analysis

Sequences of *Gyromitra brunnea* generated from the current study and additional sequences retrieved from GenBank were combined and analyzed together to see phylogenetic relationships among species in the phylogenetic tree. Even though sequences downloaded from GenBank are named as *Gyromitra* species, some of them are accepted as *Discina* species or vice versa in the Index Fungorum. For instance, *Gyromitra brunnea*, *G. fastigiata*, *G. caroliniana*, *G. perlata* and *G. montana* are given as *Discina brunnea*, *D. fastigiata* and etc. in the Index Fungorum. Border of the region was decided using sequence downloaded from GenBank database (*Gyromitra brunnea* accession no; KC751521, Methven et al., 2013). All sequences were aligned with the aid of the program ClustalW (Thompson et al., 1994).

Prior to construction of phylogenetic tree, total nucleotide length (bp) and variable sites were calculated using Molecular Evolutionary Genetics Analysis software (MEGA 6.0; Tamura et al., 2013). Phylogenetic tree was constructed using two different methods; Maximum Likelihood (ML) and Maximum Parsimony (MP). To test branch support, bootstrap analysis was used with 1000 replicates. *Morchella esculenta* (KM485969) was utilized as an outgroup (Methven et al., 2013). In the ML method, initial tree(s) for the heuristic search were obtained automatically by applying Neighbor-Joining and BioNJ



algorithms to a matrix of pairwise distances estimated using the Maximum Composite Likelihood (MCL) approach, and then the topology with superior log likelihood value was selected. The Tree-Bisection-Reconnection (TBR) search method was employed with 100 random addition replications to construct the MP trees and the consensus tree inferred from 10 most parsimonious trees was used. All positions containing gaps and missing data were eliminated.

Results

Macroscopic and Microscopic Characters

Ascocarp; 50-110 × 50-80 mm, 2-5 lobes in different shapes but usually saddle-shaped, pinkish brown, reddish brown or tan color, loose, wrinkled, often

as if planted with lobed lines, hairless, whitish and often associated with the stipe. **Stipe;** 30-80 × 20-45 mm, irregularly but usually slightly widening to the base, pale pinkish color or white color, hairless, generally near to base is protruding. **Asci;** 17-25 × 220-250 μm, hyaline, 8 spored. **Ascospores;** 22-29 × 10-13.5 μm, ellipsoid, 1-3 drops, firstly smooth then slightly warty. As the spore matures, ornaments grow in the length of 1-2 μm, these ornaments can then extend to 2-5 μm. **Paraphysis;** 5-11 μm wide, clavate or slightly lobed, with several septate and orangish-reddish brown (Figure 2).

Hakkari, Şemdinli, Bozyamaç village, under *Quercus* sp., 37° 22'084"N - 44° 26'384"E, 1371 m, 10.04.2015, Acar 850.

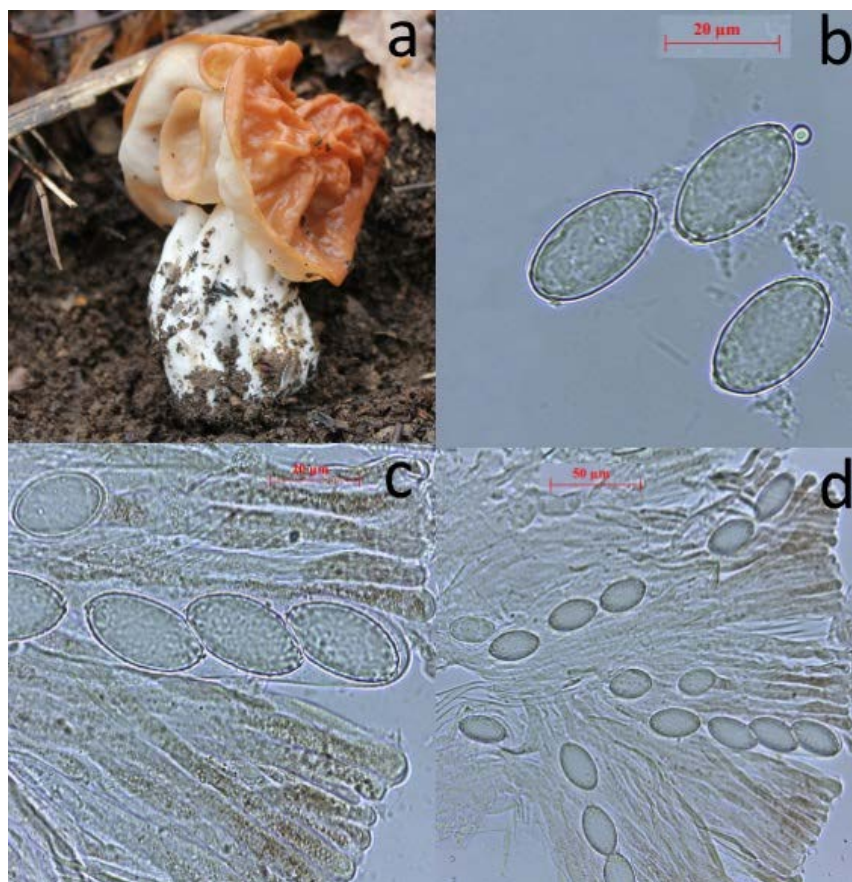


Figure 2. Macroscopic and Microscopic characters of *Gyromitra brunnea*. a. ascocarp, b. ascospores, c-d. asci and paraphysis.

Molecular phylogeny

LSU data matrix consists of 27 sequences and the aligned data was about 881 bp length. The final alignment included 126 polymorphic nucleotides with 65 parsimony informative sites. Sequences of the studied region were submitted to GenBank and the accession numbers were assigned as MH376402 and MH698933 for two different specimens. The Maximum Likelihood analysis resulted in similar phylogenetic topologies with Maximum Parsimony

and Neighbour Joining analyses so only ML tree was given and discussed. Bootstrap values of the all used algorithms were also given in the tree by separating slash sign (Figure 3). The phylogenetic tree composed from four clades and each of them corresponded one subgenus as *Caroliniana*, *Discina*, *Pseudorhizina*, *Gyromitra*. Determination of subgenus was done according to the study of Methven et al. (2013). The *Caroliniana* clade consisted of all *G. brunnea* samples (including studied specimens) with a



bootstrap value of 98 % (Figure 3). *Gyromitra fastigiata* and *G. caroliniana* samples located closely to *G. brunnea* in this clade. Although these three species are

morphologically similar they can be distinguished from each other based on some macroscopic and microscopic characters (Table 1).

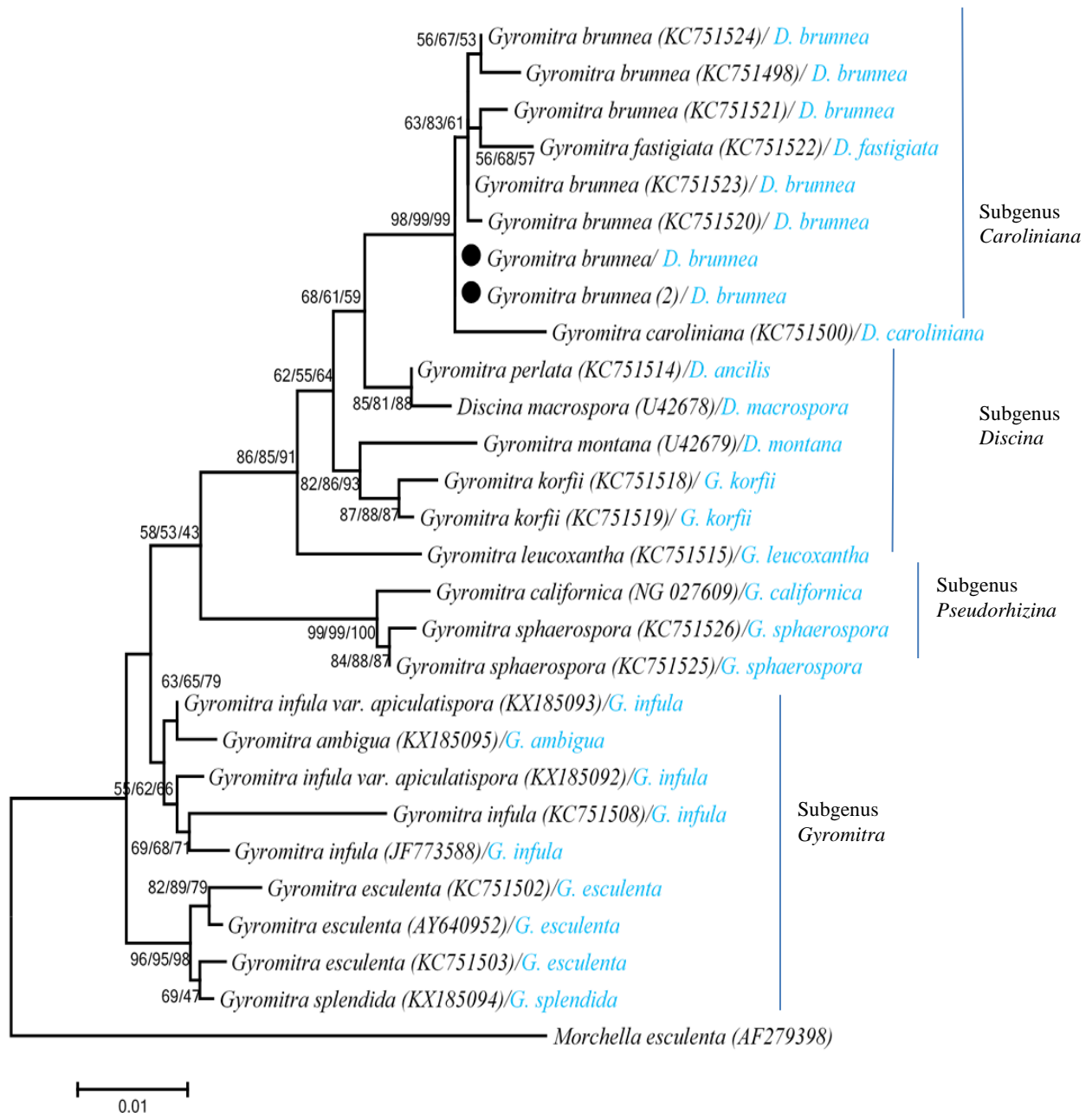


Figure 3. Phylogenetic tree of *Gyromitra* species based on ML analysis of the LSU rRNA gene region. Black circles indicate studied specimens. *Morchella esculenta* was used as outgroup. Bootstrap analyses of ML, MP, NJ were based on 1000 replicates and values higher than 50% were indicated on branches, respectively. The names written before and after the slash are the names accepted by GenBank and Index Fungorum, respectively.

Table 1. Comparisons of *G. brunnea*, *G. caroliniana* and *G. fastigiata* based on macroscopic and microscopic characters.

Species	Pileus	Stipe	Asci	Spores	Paraphysis	Ecology
<i>G. brunnea</i>	50-110 ×50-80 mm	30-80 × 20-45 mm	220-250 × 17-25 µm	22-29 × 10- 13.5 µm	5- 11 µm, clavate to subcapitate	Under hardwoods
<i>G. caroliniana</i>	50-130 × 60-120 mm	40-100 × 20-100 mm	320–420 × 18.5–23 µm	22-35 × 10- 16 µm	5-7 µm wide, clavate to subcapitate	Under hardwoods
<i>G. fastigiata</i>	60-170 ×60-130 mm	40-100 × 20-50 mm	220-260 × 15-18 µm, apex flattened.	28–33.5 × 13–15.5 µm	5-9 µm, clavate to subcapitate	Under hardwoods

Discussion

Gyromitra genus has many taxonomic problems because of morphological similarities among the specimens. Especially, taxonomic position of the genus with *Discina* taxon is very problematic. According to Fries (1849) *Discina* and *Gyromitra* are two different genera. However, Harmaja (1973) reduced *Discina* to a subgenus in *Gyromitra* based on ascospores features. Several recent studies (Abbott and Currah 1997, Van Vooren and Moreau 2009, and Methven et al 2013) and data taken from current study confirmed this arrangement by using additional specimens and phylogenetic analyses. At this point, we used both morphological and molecular data to get correct and reliable results for identification of *Gyromitra brunnea*.

Methven and his colleagues (2013) showed that *Discina* samples nested in *Gyromitra* species and they propose five subgenera for the genus (*Gyromitra*, *Discina*, *Caroliniana* and *Pseudorhizina*) by using sequences of 28S rRNA gene region. The data taken from present study supported their results; *Discina* samples retrieved from GenBank (*Discina macrospora*, U42678) located within *Gyromitra* species. This sample is called as *Gyromitra macrospora* in the Index Fungorum. Same situation was also observed in *G. brunnea*, *G. fastigiata*, *G. caroliniana*, *G. perlata* and *G. montana* species that are named under *Discina* in Index Fungorum. This circumstance indicates complexities between boundaries of *Gyromitra* and *Discina* taxa.

Studied sample (*G. brunnea*) grouped closely with *G. fastigiata* and *G. caroliniana* samples in *Caroliniana* clade (Figure 3). Actually, these species not only

molecularly but also morphologically can be separated from each other. For instance, *G. brunnea* is characterized by an apical hymenophore with thick margins, lobes usually joined in seam-like lines, a whitish undersurface partially exposed in places while *G. caroliniana* has a brain-like apical hymenophore that is irregularly wrinkled, lacks the seams and fused to the stipe so that the undersurface is not exposed. *Gyromitra fastigiata* and *G. brunnea* resemble each other macroscopically but structure of paraphysis can be used to separate them (Table 1). In addition to macroscopic and microscopic features these three species can also be separated based on nucleotide variations of D1-D2 regions of LSU. McKnight et al. (1987) indicated that *G. brunnea* may be the same species (or variety) known in some recent European books as *G. fastigiata*. However, in the current study *G. brunnea* was separated from this sample based on not only macroscopic features but also molecular data so we named our sample as *G. brunnea* to avoid uncertainty which originated from different comments in Europe.

The present study is valuable because *Gyromitra brunnea* from Turkey has never been studied by using morphological and molecular characters. At the end of the study, *Gyromitra brunnea* was firstly reported for mycobiota of Turkey and the total number of the species was increased from six to seven for *Gyromitra* genus. However, taxonomic positions of *Gyromitra* and *Discina* are still problematic and need exact boundaries for correct identification and nomenclature. Therefore, further studies covering detailed morphological analyses and additional



DNA markers are necessary for reliable delimitations of mentioned taxa.

Acknowledges

The authors are grateful to the Van Yüzüncü Yıl University Research Fund (BAP Projects No. 2014-FBE-D122) for its financial support.

References

- Abbott, S.P., Currah S., *The Helvellaceae: systematic revision and occurrence in northern and Northwestern North America*. Mycotaxon 62:1–125 (1997).
- Asemaninejad, A., Weerasuriya, N., Gloor, G.B., Lindo, Z., Thorn, R.G., *New Primers for Discovering Fungal Diversity Using Nuclear Large Ribosomal DNA*. PLoS ONE 11(7): e0159043 (2016). doi:10.1371/journal.pone.0159043
- Doyle, J.J., Doyle, J.L., *A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue*. Phytochemical Bulletin. 19, 11-15 (1987).
- Fries, E.M., *Systema mycologicum*. Vol. 2. Geifswald. 620 p (1823).
- Hansen, K., Pfister, D.H., *Systematics of the Pezizomycetes--the operculate discomycetes*. Mycologia, 98 (6): 1029–40 (2006).
- Harmaja, H., *A wider and more natural concept of the genus Gyromitra Fr. Karstenia* 9:9–12 (1969).
- Index Fungorum, <http://www.indexfungorum.org/names/Names.asp>, last accession: 17 May 2017.
- Kirk, P.M., Cannon, P.F., Minter, D.W., Stalpers, J.A., *Dictionary of the Fungi*. 10th ed. Wallingford: CABI. p.512. UK (2008).
- Kuo, M. 2012. *Gyromitra brunnea*. Retrieved from the MushroomExpert.Com Web site: http://www.mushroomexpert.com/gyromitra_brunnea.html (accessed: 04.04.18)
- Liu, K., Liu, L., Porras-Alfaro, A., Kuske, C.R., Eichorst, S.A., Xie, G., *Accurate, Rapid Taxonomic Classification of Fungal Large-Subunit rRNA Genes*. Applied and Environmental Microbiology, 78 (5): 1523–1533 (2012).
- McKnight, K.H., McKnight, V.B., *A Field Guide to Mushrooms: North America*. Houghton Mifflin Harcourt, United States (1987).
- Methven, A.S. Zelski, S.E. Miller, A.N., *A molecular phylogenetic assessment of the genus Gyromitra in North America*. Mycologia, 105(5), 1306–1314 (2013).
- Raja, H.A. Miller, A.N. Pearce, C.J. Oberlies, N.H., *Fungal Identification Using Molecular Tools: A Primer for the Natural Products Research Community*. J. Nat. Prod. 2017, 80, 756–770 (2017), DOI: 10.1021/acs.jnatprod.6b01085
- Robert, V., Vu, D., Cock, Ad., Schoch, C., (editors) (1999) onward (continuously updated). The MycoBank. Website: <http://www.mycobank.org> [accessed 10 March 2018].
- Sesli E., Denchev C.M. Onward (Continuously Updated). Mycotaxon Webpage. Available online at <http://www.mycotaxon.com/resources/weblists.html> (2014).
- Solak M.H., Işiloğlu M, Kalmış E., Allı H., *Macrofungi of Turkey*. Checklist. İzmir, Turkey: Üniversiteler Ofset (2015).
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipksi, A., M., Kumar, S., *MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0*. Mol. Biol. Evol., 30(12): 2725–2729 (2013).
- Undan, J.Q., Alfonso, D.O., Dulay, R.M., Leon, A.M., Kalaw, S.P. Undan J.R., Reyes, R.G., *Molecular identification and phylogeny of different macrofungi in Mt. Bangkay, Cuyapo, Nueva Ecija, Philippines based on ITS nrDNA region*. Advances in Environmental Biology, 10(12) December 2016, Pages: 35-42 (2016).
- Van Vooren, N., Moreau, P.A., *Essai taxinomique sur le genre Gyromitra Fr. Sensu lato (Pezizales)*, 1. Introductionet systématique. Ascomycete.org 1(1): 3-6 (2009).
- Vilgalys, R., & Hester, M. (1990). Rapid genetic identification and mapping of enzymatically amplified ribosomal DNA from several Cryptococcus species. Journal of Bacteriology 172: 4239-4246.



Geliş(Received) :19/04/2018
Kabul(Accepted) :18/09/2018

Araştırma Makalesi
Doi:10.30708/mantar.416832

Günlük Kullanılan Spor Tipi Ayakkabılarda Fungal Kontaminasyonun Belirlenmesi

Vedat Kadri ÖZKAN^{1*}, Mustafa Tamer UZUN¹,
Musa Tahir GÜNDOĞAN¹

*Sorumlu Yazar: vedatkozkan@mu.edu.tr

¹Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi,
Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Marmaris, Muğla

Öz: Bu çalışmada, günlük kullanılan spor tipi ayakkabıların iç kısımlarında fungal kontaminasyonun belirlenmesi amaçlanmıştır. 50 çift spor tipi ayakkabının iç kısımlarından steril eküvyonla sürüntü yapılarak alınan örnekler, Rosebengal Chloramphenicol Agar içeren petri kaplarına inoküle edilmiş ve 28°C'de iki hafta inkübasyona bırakılmıştır. Gelişen fungus kolonileri sayılarak Czapek Dox Agar ve Malt Extract Agar içeren petrilere teşhis amacı ile pasajlanmış ve 7-14 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra, elde edilen funguslar ilgili referanslar dikkate alınarak yapılan makroskobik ve mikroskobik incelemeler sonucunda teşhis edilmişlerdir. *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Phoma* ve *Trichophyton* cinslerine ait 15 fungus türü izole edilmiştir. Elde edilen funguslar içerisinde tür zenginliği bakımından *Penicillium*, koloni sayısı bakımından ise *Cladosporium* cinslerinin dominant olduğu belirlenmiştir. 35 çift ayakkabı fungal kontaminasyon bakımından temiz bulunmuştur. Ayakkabılardan izole edilen funguslar dünya çapında dağılım gösteren yaygın funguslardır. *Cladosporium* dışındakiler, insanlarda çeşitli mikozlara ve mikotoksikozlara sebep olabilmektedirler. Ayakkabılardan ayaklara ve vücudun diğer kısımlarına bulaşabilirler ve enfeksiyonlara neden olabilirler. Böylece ayak ve vücut sağlığını etkileyebilirler. Bu bakımdan doğru ayakkabı seçimi yapılmalı ve bireysel hijyene önem verilmelidir.

Anahtar kelimeler: Fungal kontaminasyon, ayakkabı kontaminantları, fungus, bireysel hijyen

Determination Of Fungal Contamination In Casual Sports Type Shoes

Abstract: In this study, it was intended to determine of fungal contamination in casual sports type shoes. The samples were taken by using moistened swap sticks from the inside of the 50 pairs of sports type shoes. Samples were inoculated to petri dishes containing Rosebengal Chloramphenicol Agar and they were incubated at 28°C for two weeks. The growing fungi colonies were counted and were taken to petri dishes containing Czapek Dox Agar and Malt Extract Agar for identification and they were incubated for 7-14 days. After incubation, obtained fungi were diagnosed for macroscopic and microscopic features by analyzing the relevant references. 15 fungal species belonging to genera of *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Phoma* and *Trichophyton* were obtained. *Penicillium* was found dominantly in terms of the number of species and *Cladosporium* was found in high frequency in terms of the number of colony. 35 pairs of casual sports type shoes were found clean regarding to fungal contamination. The isolated fungi from shoes are world-wide spread fungi. Except the *Cladosporium* the others cause various mycosis and mycotoxicosis in humans. They can transmit from shoes to feet and to other parts of the body and they can cause infections which can effect the health of feet and body. Therefore, suitable shoes should be chosen carefully and individual hygiene should be regarded.

Key words: Fungal contamination, contaminants of shoes, fungi, individual hygiene



Giriş

Ayakkabılar, ayağın korunmasına ve yürüme ahenginin sağlanmasına yardımcı olan önemli bir giyecektir. Ayakkabının yapıldığı malzeme, kullanılan yapıştırıcı maddeler ve ayakkabı kalıbının uygunluğu ayakla ilgili sorunlarla yakından ilişkilidir. Ayrıca insanların normal postürlerinin sağlanmasında uygun ayakkabı seçimi önem arz etmektedir. Çünkü ayağa uygun seçilmeyen ayakkabılar postürü ve yürüme ahengini bozmakta, sıkma, vurma ve bunlara bağlı oluşan ağrılar bütün iskelet sistemini etkilemektedir (Güler, 2004).

Ayakkabılar fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik yönden bütün vücudun yükünü taşıyan ayakların sağlığını etkileyebilmektedirler. Fiziksel açıdan şekil bozukluklarına, ağrıya, sürtünmeden kaynaklanan su toplanması ve yaralara sebep olmaktadır. Kimyasal olarak ayakkabı imalatında kullanılan derinin elde edilme sürecindeki işlemlerde kullanılan kimyasallar ve diğer malzemeler ayak derisinde alerjik etki oluşturabilirler. Mikrobiyolojik bakımdan ise çeşitli mikroorganizmaların ayak derisine ve tırnaklarına geçişinde rol oynamaktadırlar. Ayakkabılar dış ortamla temas halinde olduğu için mikroorganizma kontaminasyonuna açık bulunmaktadır ve patojen veya patojen olmayan mikroorganizmaların taşınması, yayılması ve bulaştırılmasında etkili olmaktadır (Güler, 2004; Oğur ve ark., 2005; Brown ve McLarnon, 2007; Li ve ark., 2011; Gupta ve Brintnell, 2013; Topkarcı ve Küçüköğlü, 2013; Baraikio ve ark., 2014; Rashid ve ark., 2016).

Ayakkabılardan ayak derisine, tırnaklarına ve diğer vücut kısımlarına geçen mikroorganizmaların bir kısmı da funguslardır. Bu funguslar içerisinde dermatofitler, dermatofit olmayanlar ve onikomikoz etmenleri bulunmaktadır. Diğer bir ifadeyle insanlarda enfeksiyonlara sebep olan funguslar ayakkabılardan vücuda geçebilmektedirler (Güler, 2004; Oğur ve ark., 2005; Brown ve McLarnon, 2007; Li ve ark., 2011; Baraikio ve ark., 2014; Rashid ve ark., 2016).

Ayakkabıların potansiyel enfeksiyon kaynağı olduğu bilinmesine rağmen fungal kontaminantların belirlenmesi konusundaki çalışmalar azdır. Bu alana katkıda bulunmak için ortaya çıkan çalışmamız, hemen hemen her yaş grubundan insanın sıklıkla kullandığı günlük giyilen spor tip ayakkabılarda fungal kontaminasyonu belirlemeyi amaçlamaktadır.

Materyal ve Metot

Bu çalışmada, fungal kontaminasyonu belirlemek için günlük kullanılan 50 çift spor tipi ayakkabının iç kısımlarından nemlendirilmiş steril eküvyonlarla sürüntü yöntemiyle örnekleme yapılmıştır. Bütün örnekler, laboratuara getirilen 18-20 yaş grubu öğrencilerin giymekte olduğu ayakkabılarından iki bunzen beki alevi arasında alınmıştır. Ayakkabılar sentetik malzemeden

yapılmış olup iki çift eski ve yıpranmış, diğerleri yeni görünümündü. Alınan örnekler, Rosebengal Chloramphenicol Agar (RCA, Merck, mikolojik pepton 5.0g/L, glukoz 10.0g/L, dipotasyum hidrojen fosfat 1.0g/L, magnezyum sülfat 0.5g/L, rose-bengal 0.05g/L, kloramfenikol 0.1g/L, agar-agar 15.5g/L) içeren petri kaplarına yüzeye yayma tekniği ile inoküle edilmişlerdir (Temiz, 2010). İnoküle edilen petri kapları 28°C'ye ayarlanmış olan etüvde iki hafta süreyle inkübe edilmişlerdir. Gelişen fungus kolonileri sayılarak *Penicillium* ve *Aspergillus* cinsi mantarlar Czapek Dox Agar (CzDA, Modified, Oxoid, sodyum nitrat 2.0g/L, potasyum klorür 0.5g/L, magnezyum gliserofosfat 0.5g/L, demir sülfat 0.01g/L, potasyum sülfat 0.35g/L, sükröz 30.0g/L, agar 12.0g/L), diğerleri Malt Extract Agar (MEA, Merck, malt ekstrakt 30.0g/L, soya unu pepton 3.0g/L, agar-agar 15.0g/L) içeren petrilere teşhis amacıyla transfer edilerek, 28°C'de 7-14 gün süreyle inkübasyona bırakılmışlardır. İnkübasyon süresinden sonra elde edilen funguslar, ilgili referanslar (Domsch ve ark., 1980; Hasenekoğlu, 1991; Ellis ve ark., 2007; Refai ve El-Yazid, 2014) dikkate alınarak yapılan makroskopik (kültürel özellikler) ve mikroskopik incelemeler sonucunda teşhis edilmişlerdir.

Bulgular ve Tartışma

Bu çalışmada, *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Phoma* ve *Trichophyton* cinslerine ait 15 fungus türü izole edilmiştir (Tablo 1). Elde edilen funguslar içerisinde tür zenginliği bakımından *Penicillium* cinsi 4 tür ile ilk sırada bulunmuş, bunu *Aspergillus* cinsi 3 tür ile izlemiştir (Tablo 1). Koloni sayısı bakımından ise *Cladosporium* cinsi 26 koloni ile dominant olarak bulunmuş, bunu 15 koloni ile *Penicillium* cinsi takip etmiştir (Tablo 1). Bu çalışmada kullanılan 50 çift ayakkabının 15 çiftinde fungal kontaminasyon belirlenmiş, 35 çift ayakkabıda ise fungal kontaminasyonun bulunmadığı gözlemlenmiştir. Çalışmamızda, insanlarda çeşitli mikozlara ve mikotoksikozlara sebep olan funguslar da bulunmuştur. Araştırmamızdan elde edilen funguslar, dünya çapında dağılım gösteren, iç ve dış ortam atmosferi ile her türlü eşya ve yüzeyde bulunan kontaminantlardır. Çok fazla spor ürettikleri, atmosfer hareketleriyle kolayca yayılabildikleri ve temas yoluyla bulaşıp taşındıkları için eşyaları ve yüzeyleri kontamine ederler (Domsch ve ark., 1980; Hasenekoğlu, 1991; Ellis ve ark., 2007; Çeter ve Pınar, 2009; Refai ve El-Yazid, 2014). Bulgularımız bu görüşlerle paralellik göstermektedir.

Çalışmamızda 15 örnekten 15 farklı fungus türü elde edilmiştir. Bu sonuç ayakkabıların iç ve dış ortam havasında bulunan funguslar tarafından kontamine edildiğini, ayrıca enfeksiyonlu ayak derisi, ayak parmakları ve tırnaklarından da bulaşma olabileceğini göstermektedir.



Tablo 1. Örnekleme yapılan ayakkabılarda fungusların kalitatif ve kantitatif dağılımları

Fungus türleri	Örnek no																									Toplam koloni sayısı	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25		
<i>Acremonium kiliense</i> Grütz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissler	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	2
<i>Aspergillus clavatus</i> Desm.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1
<i>Aspergillus flavus</i> Link ex Gray	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Aspergillus fumigatus</i> Fres.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fres.) Viries	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Cladosporium herbarum</i> (Pers.) Link ex Gray	-	-	-	-	-	-	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	16	-	-	-	-	-	-	20
<i>Fusarium</i> Link ex Fr. sp.	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	2
<i>Penicillium canescens</i> Sopp	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Penicillium expansum</i> Link ex Gray	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
<i>Penicillium humuli</i> Beyma	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Penicillium raperi</i> Smith	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3
<i>Phoma</i> Sacc. sp. 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Phoma</i> Sacc. sp. 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Trichophyton</i> Malmsten sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Toplam koloni sayısı	1						5	1	1	1					1	5			18					1	34		



Tablo 1. Devamı

Fungus türleri	Örnek no																									Toplam koloni sayısı
	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	
<i>Acremonium kiliense</i> Grütz	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissler	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Aspergillus clavatus</i> Desm.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Aspergillus flavus</i> Link ex Gray	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Aspergillus fumigatus</i> Fres.	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fres.) Viries	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Cladosporium herbarum</i> (Pers.) Link ex Gray	-	-	-	-	-	-	-	4	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5
<i>Fusarium</i> Link ex Fr. sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Penicillium canescens</i> Sopp	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Penicillium expansum</i> Link ex Gray	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Penicillium humuli</i> Beyma	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Penicillium raperi</i> Smith	-	-	-	-	-	-	-	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8
<i>Phoma</i> Sacc. sp. 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Phoma</i> Sacc. sp. 2	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Trichophyton</i> Malmsten sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Toplam koloni sayısı	1	1		1	1			12		2																18



Eski, yıpranmış ve kullanılıp tamir edilerek yeniden satışa sunulan (ikinci el) ayakkabılarda yeni ayakkabılara göre fungal kontaminasyonun daha yüksek olduğu Baraikio ve ark. (2014) tarafından belirlenmiştir. Araştırmamızda 20 ve 33 nolu örneklerde fungal koloni sayısının diğerlerine göre daha yüksek sayıda olması (Tablo 1), kanımızca bu ayakkabıların diğerlerine göre daha eski ve yıpranmış olmasından kaynaklanmaktadır.

Ayakkabıların funguslarla kontamine olmasında uygun ayakkabı seçimi de önem arz etmektedir. Bu aynı zamanda ayak sağlığı ile de yakından ilişkilidir. Dar ayakkabılar ayaklarda şekil bozukluğuna, sıkma-vurma gibi fiziksel etkiler ağırlara ve yaralara sebep olmaktadır. Böylece hem postür, hem yürüme ahengi bozulmakta ve hem de ayakkabı kontaminantları açılan yaralardan girerek enfeksiyon oluşturabilmektedir (Güler, 2004; Oğur ve ark., 2005; Brown ve McLarnon, 2007; Marangoz ve Aksoy 2009; Li ve ark., 2011; Baraikio ve ark., 2014; Rashid ve ark., 2016). Ayrıca sentetik materyalden yapılmış olan ayakkabılar hava girişini engellemekte ve uzun süre giyilmesi durumunda ayakları terletmektedir. Bu durum ayakkabı içerisinde fungus gelişimi için uygun ortam oluşturmakta ve istenmeyen kötü kokulara sebep olmaktadır (Güler, 2004; Oğur ve ark., 2005; Marangoz ve Aksoy 2009; Li ve ark., 2011).

Çalışmamızda elde edilen funguslardan *Trichophyton* dışında kalan *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium* ve *Penicillium* dermatofit olmayan funguslardır. Ancak bu fungusların onikomikozu sebep olduğu bazı kaynaklarda belirtilmektedir (Uslu ve ark., 2004; Poyraz, 2006; Ellis ve ark., 2007; Refai ve El-Yazid, 2014). Tayland'da ayak hastalıklarının prevalansı ile ilgili yapılan bir çalışmada ayakkabılardan izole edilen ve dermatofit olmayan bazı fungusların (*Fusarium* spp, *Scytalidium dimidiatum*) onikomikoz ve tinea pedise yol açtığı bildirilmektedir (Ungpakorn ve ark., 2004).

Acremonium türlerinin çoğu toprakta ve ölü bitki materyallerinde saprofit olarak bulunurlar. Bununla beraber, *A. falciforme*, *A. kiliense*, *A. recifei*, *A. alabamensis*, *A. roseogriseum* ve *A. strictum* insanlarda ve hayvanlarda miçetom, mikotik keratit ve onikomikozis'e sebep olan oportunistik patojenler olarak bilinmektedirler (Ellis ve ark., 2007). Araştırmamızda *A. kiliense* bir örnekten bir koloni olarak elde edilmiştir (Tablo 1).

Alternaria türleri çoğunlukla bitki paraziti olup, en yaygın türü *A. alternata*'dır. Bitkilerden başka toprak, gıda, iç ve dış ortam havasından sıklıkla izole edilmektedirler. Saprofit kontaminantlar olarak görülseler de insanlarda mikotik keratite sebep olmaktadır (Ellis ve ark., 2007; Refai ve El-Yazid, 2014). Ayrıca, allerji, kutan ve subkutan enfeksiyonlar, sinüzit, onikomikozis ve tarım alanlarında çalışanlarda otitis media'ya neden olmakta, kemik iliği transplantasyonu hastaları gibi immünsupresif hastalarda oportunistik patojen olarak da ortaya çıkmaktadır (Refai ve El-Yazid, 2014). Çalışmamızda *A. alternata* iki örnekten birer koloni olarak izole edilmiştir (Tablo 1).

Aspergillus türleri ılıman iklim topraklarında, kompostta, çürümekte olan bitki kısımlarında ve depolanmış tahıllarda yaygın olarak bulunmaktadır (Domsch ve ark., 1980; Hasenekoğlu, 1991). Toz ve toprakta bulunan ve havaya karışan *Aspergillus* sporları genellikle solunum yoluyla vücuda girerek alveollere kadar ulaşabilirler. İmmün sistemi baskılanmış kişilerde akciğerlere yerleşerek bronkopulmoner aspergilloza neden olabilirler ve buradan yayılarak diğer organlarda enfeksiyon yapabilirler. Akciğerler dışında burun, paranazal sinuslar, dış kulak yolu ve travmalı deriyi de enfekte edebilirler (Poyraz, 2006). *A. clavatus*, *A. flavus* ve *A. fumigatus* insanlarda patojenite göstermektedir. Alerjik alveolite sebep olmakta, bazen insan kulağı ve göz çukurundan izole edilmekte, nadiren de akciğer ve mesane enfeksiyonları ile endokardite yol açmaktadırlar. Ayrıca bu funguslar ürettikleri mikotoksinlerle mikotoksikozlara sebep olabilmektedirler (Domsch ve ark., 1980; Poyraz, 2006; Ellis ve ark., 2007). Araştırmamızda bulunan *A. clavatus*, *A. flavus* ve *A. fumigatus* türleri birer örnekten birer koloni olarak izole edilmişlerdir (Tablo 1).

Cladosporium türleri, dünya çapında dağılım gösteren en yaygın hava kaynaklı funguslar olup yüksek frekansta izole edilen kontaminantlardandır (Domsch ve ark., 1980; Ellis ve ark., 2007; Refai ve El-Yazid, 2014). Patojen özellikteki türleri *Cladophialophora* cinsine transfer edilmiştir. Bazı türleri klinik laboratuvarlarda tıbbi öneme sahip olup alerjik akciğer mikozuna sebep olabilmektedir (Poyraz, 2006; Ellis ve ark., 2007; Refai ve El-Yazid, 2014). Çalışmamızda *Cladosporium* türleri 5 örnekten 26 koloni olarak elde edilmiş olup koloni sayısı bakımından dominant durumdadır (Tablo 1).

Fusarium türlerinin çoğu yer yüzünde geniş dağılım gösteren toprak funguslarıdır. Birkaç türü insan ve hayvanlarda hiyalohifomikoz, mikotik keratit ve onikomikozu sebep olan patojenler olarak tanımlanmıştır. Bazı türleri de mikotoksin üreterek mikotoksikozu neden olmaktadır (Domsch ve ark., 1980; Poyraz, 2006; Ellis ve ark., 2007). Bu çalışmada *Fusarium* iki örnekten birer koloni şeklinde izole edilmiştir (Tablo 1).

Penicillium türleri çeşitli substratlarda bulunan çok yaygın kontaminantlardandır ve potansiyel mikotoksin üreticileri olarak bilinirler. İnsanlarda patojen özelliğe sahip türleri nadirdir. Ancak mikotik keratit, otomikoz ve endokardit şeklinde oportunistik enfeksiyonlara yol açtığı bildirilmektedir. Atmosferde bulunan sporları ve komponentleri solunum sisteminden girerek insan sağlığını etkilemekte ve alerjik reaksiyonlara sebep olabilmektedir (Poyraz, 2006; Ellis ve ark., 2007). Araştırmamızda bulunan *Penicillium* türleri beş örnekten 15 koloni olarak elde edilmişlerdir (Tablo 1).

Phoma türleri yeryüzünde geniş bir dağılıma sahiptir ve doğada hemen hemen her yerde bulunurlar. Genellikle bitki patojeni olup insanlarda nadiren enfeksiyonlara sebep olabilmektedirler (Ellis ve ark., 2007; Refai ve El-Yazid, 2014). İnsanlarda kutan, subkutan, korneal veya sistemik enfeksiyonlara yol açabilmektedirler (Refai ve El-



Yazid, 2014). Çalışmamızda *Phoma* iki örnekten birer koloni halinde izole edilmiştir (Tablo 1).

Trichophyton türleri dermatofit funguslardan olup insanlarda *Tinea pedis*, *T. unguium*, *T. corporis*, *T. cruris* ve *T. capitis* olarak isimlendirilen enfeksiyon etmenlerindedirler (Poyraz, 2006; Ellis ve ark., 2007). Bu araştırmada *Trichophyton* bir örnekten bir koloni olarak elde edilmiştir (Tablo 1).

Ayakkabıların dermatofit olan veya olmayan funguslarla kontamine olması ve bu fungusların ayakkabılardan ayak derisine, ayak parmaklarına, ayak tırnaklarına ve hatta vücudun diğer kısımlarına geçerek enfeksiyon oluşturma riski bulunması; bireysel hijyen,

ayak ve ayakkabı hijyeni ile uygun ayakkabı seçiminin son derece önemli olduğunu göstermektedir.

Ayakkabılarda kontaminantların kolonize olmasını ve enfeksiyon kaynağına dönüşmesini önlemek için; uygun dezenfektanların kullanılması, bakımlarının iyi yapılması, diğer kişiler tarafından kullanılmaması, dar ayakkabıların ve sentetik malzemeden imal edilen ayakkabıların tercih edilmemesi önerilebilir.

Toplum sağlığını korumak ve iyileştirmek için çevre ve bireysel hijyenin yanı sıra ayak ve ayakkabı hijyeni konusunda da halk eğitilerek bilinçlendirilmeli ve konu ile ilgili araştırmalar yaygınlaştırılmalıdır. Çalışmamızın alanla ilgili yapılacak araştırmalara yardımcı olacağı kanaatindeyiz.

Kaynaklar

- Baraikio D., Ogba O.M., Abia-Bassey L.N., *Second hand covered shoes: transmission route of fungal foot infections*, J.Med, 13(1)61-66(2014).
- Brown L., McLarnon N.A., *Do patients with untreated tinea pedis have concomitant fungal contamination within their footwear and hosiery?* (Abstract), Br.J.Podiatry,10(4)134(2007).
- Çeter T., Pinar N.M., *Studies on atmospheric aerofungi in Turkey and using methods*, Astım Allerji İmmünol, 7:3-10(2009).
- Domsch K.H., Gams W., Anderson T.H., *Compendium of soil fungi*, Academic Press, London(1980).
- Ellis D., Davis S., Alexiou H., Handke R., Bartley R., *Descriptions of medical fungi*, 2nd ed. Nexus Print Solutions, Adelaide(2007).
- Gupta A.K., Brintnell W.C., *Sanitization of contaminated footwear from onychomycosis patients using ozone gas: a novel adjunct therapy for treating onychomycosis and tinea pedis*, J.Cutan.Med.Surg. 17(4)243-49(2013).
- Güler Ç., *Kişisel hijyen*, TSK Koruyucu Hekimlik Bülteni, 3(6)119-132(2004).
- Hasenekoğlu İ., *Toprak mikrofungusları*, Atatürk Üniversitesi Yayınları, Cilt 1-7, Erzurum(1991).
- Li H., Zhou J., Shi R., Chen W., *Identification of fungi from children's shoes and application of a novel antimicrobial agent on shoe insole*, Afr.J.Biotechnol., 10(65)14493-14497(2011).
- Marangoz S., Aksoy M.C., *Çocuklar için uygun ayakkabı özellikleri*, Hacettepe Tıp Dergisi, 40:199-204(2009).
- Oğur R., Babayigit M.A., Yaren H., Göçgeldi E., Tekbaş Ö.F., Hasde M., *Sağlık teknisyeni öğrencilerinin ayak hijyeni konusundaki bilgi, tutum ve davranışlarının belirlenmesi*, Gen.Tıp Derg., 15(1)19-25(2005).
- Poyraz Ö., *Genel ve özel tıbbi mikoloji*, Cumhuriyet Üniversitesi Yayınları, Sivas(2006).
- Rashid T., VonVille H.M., Hasan I., Garey K.W., *Shoe soles as a potential vector for pathogen transmission: a systematic review*, Journal Appl. Microbiol, 121:1223-1231(2016).
- Refai M., El-Yazid H.A., *Monograph on dematiaceous fungi*, Cairo University, Cairo(2014).
- Temiz A., *Genel mikrobiyoloji uygulama teknikleri*, 5.baskı, Hatiboğlu Yayınevi, Ankara(2010).
- Topkarcı Z., Küçükoğlu R., *Ayağın sık görülen dermatolojik sorunları*, TOTBİD Dergisi, 12:476-489(2013).
- Ungpakorn R., Lohapathan S., Reangchainam S., *Prevalence of foot diseases in outpatients attending the Institute of Dermatology, Bangkok, Thailand*, Clin. Exp. Dermatol., 29:87-90 (2004).
- Uslu H., Aktaş A.E., Çelebi D., Aktaş O., *Tıp fakültesi öğrencilerinin ayak mantar florası*, Atatürk Üniversitesi Tıp Fak. Dergisi, 36:53-56(2004).



Geliş(Received) :31/07/2018
Kabul(Accepted) :24/09/2018

Araştırma Makalesi
Doi:10.30708/mantar.449790

***Ganoderma lucidum*'un Türkiye'deki Yabani Ve Kültür Formlarının Tavuk Embriyoları Üzerindeki Bazı Etkilerinin Karşılaştırılması**

Haluk ÖZPARLAK^{1*}, Bülent ÇELİK¹, Döndü BALTA¹

*Sorumlu Yazar: hozparlak@selcuk.edu.tr

¹Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Konya, Türkiye

Öz: “Ölümsüzlük mantarı” veya “Reishi” olarak da bilinen *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst tüm dünyada ve özellikle de Çin’de alternatif tıp alanında kullanılan bir mantardır. Son yıllarda *G. lucidum*’un kültür formu Türkiye’de de yetiştirilmektedir ve halk tarafından özellikle çay, kahve ve tablet olarak tüketilmektedir. Bu çalışmayla Türkiye’deki yabani ve kültür *G. lucidum*’un alternatif bir deney hayvanı olarak tavuk embriyoları üzerindeki bazı etkilerinin ilk kez tespit edilmesi amaçlandı. Bu amaçla iki deney gerçekleştirildi. *G. lucidum*’un birinci deneyde yabani ve ikinci deneyde kültür formu aynı dozlarda test edildi. Deneylerde dömlü tavuk yumurtalarına kuluçkanın 8. gününde *G. lucidum*’un sulu ekstraktları farklı dozlarda (1750 µg/yumurta, 875 µg/yumurta ve 219 µg/yumurta) enjekte edildi. Kontrol gruplarına steril bi-distile su enjekte edildi. Kuluçkanın 11. gününde ölü ve anormal embriyo oranları, malformasyon tipleri, canlı ve rölatif embriyo oranları tespit edildi. Ayrıca kemik gelişiminin belirlenebilmesi için embriyoların bir kısmı total olarak Alizarin Red-S yöntemiyle boyandı. *G. lucidum*’un hem yabani hem de kültür formları test edilen dozlarda önemli bir embriyotoksik ve teratojenik etki göstermedi. Ayrıca embriyoların kemik gelişimini de makroskopik seviyede etkilemedi.

Anahtar kelimeler: Alizarin Red-S, civciv embriyosu, embriyotoksisite, *Ganoderma*, teratojenite

Comparison Of Some Effects Of Wild-Grown And Cultivated Forms Of *Ganoderma Lucidum* In Turkey On Chicken Embryos

Abstract: *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst is a mushroom which used for alternative medicine worldwide particularly in China, also known as “Immortality Mushroom or Reishi”. In recent years, cultivated *G. lucidum* is also produced in Turkey and consumed by people especially as tea, coffee and tablets. The aim of this study was to determine the some effects of wild-grown and cultivated *G. lucidum* in Turkey on the development of chicken embryos, as an alternative experimental animal, for the first time. Two experiments were carried out for this purpose. Wild-grown and cultivated forms of *G. lucidum* were tested at the same doses in the first and second experiment, respectively. Aqueous extracts of *G. lucidum* at different doses (1750 µg/egg, 875 µg/egg and 219 µg/egg) were injected into the fertilized chicken eggs at 8th day of incubation as well as sterile bi-distilled water for control groups. Following parameters were examined on 11th day of the incubation: rates of dead and abnormal embryo, malformation types, live and relative embryo weights. In addition, some of the embryos were totally stained with Alizarin Red-S method for bone development. Both wild-grown and cultivated forms of *G. lucidum* at doses tested did not present significant embryotoxic and teratogenic effects as well as did not affect the bone development of embryos at the macroscopic level.

Key words: Alizarin Red-S, Chick Embryo, embryotoxicity, *Ganoderma*, teratogenicity



Giriş

Mantarlar çok uzun zamanlardan beri insanlar için doğal besin kaynağı ve alternatif tıp yöntemleri içinde ilaç olarak kullanım alanı bulmuştur. Bu mantarlardan bir tanesi de *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst'dır. Çin, Kore ve Japonya gibi uzak doğu ülkelerinde *Ganoderma*'nın bazı türleri tıbbi amaçlı doğal ürünler olarak kullanılmaktadır. Son zamanlarda *G. lucidum*'ün kullanımına ilişkin yoğun bir ilgi oluşmuştur. Yapılan araştırmalar içerdiği bileşiklerin medikal anlamda çok ciddi etkileri olduğunu göstermiştir (Lee ve ark., 1998).

Çin'de "Ling Zhi" olarak bilinen *G. lucidum* için Japonya'da Reishi, Mannentake veya Sachitake, Kore'de ise Youngzi isimleri kullanılır. Çin geleneklerine göre, Lingzhi "mucize" veya "uğurlu" mantar olarak bilinip genellikle mutluluğun, iyi şansın, sağlığın ve uzun yaşamın sembolüdür (Wasson, 1968). Geleneksel Çin Tıbbi'nde, gerek diğer tıbbi bitkilerle birlikte, gerekse tek başına kullanılsın, Ling Zhi'nin önemli bir yeri vardır. Hafızayı geliştirme, yaşamı uzatması, çevikliği artırması, karaciğer hastalıkları, nefritler, artrit, astım, gastrik ülser, arteriyosklerosis, lökopeniya, diyabet ve anoreksiya gibi hastalıkların tedavisinde ayrıca geleneksel tıpta da çok kullanılmaktadır (Chang ve ark., 1986; Jong ve Birmingham, 1992). Çin'de halk arasında *G. lucidum*, her türlü hastalığın tedavisinde kullanılmakta ve her derde deva olarak bilinmektedir (Liu, 1999). Günümüzde özellikle bazı kanser türleri, karaciğer yetmezliği, herpes enfeksiyonlar, HIV gibi pek çok rahatsızlığa iyi geldiği

bilindiği için, yoğun araştırmalar yapılmakta ve ilaç gelişiminde katkı sağlamaktadır (Liu ve ark., 2002).

Yukarıda bahsedildiği gibi *G. lucidum*'ün bu denli kapsamlı olarak etki etmesi sebebiyle hem gıda takviyesi olarak hem de farmakoloji alanında kullanımı söz konusudur. Günümüzde daha çok kültür formu kullanılan *G. lucidum*'ün günlük hayatta çay, kahve, kapsül ve sıvı ekstrakt şeklinde tüketimi giderek artmakta ve çok talep görmektedir. Bu çalışmayla Türkiye'deki yabancı ve kültür *G. lucidum*'ün sulu ekstraktının embriyotoksisite ve teratojenite açısından olası etkilerinin alternatif bir deney hayvanı olan tavuk embriyoları üzerinde ilk kez değerlendirilmesi ve bu mantarın iki farklı formundan elde edilen sonuçların karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Mantar materyali ve su ekstraktın hazırlanması

Bu çalışmada test edilen yabancı *G. lucidum* örnekleri Karabük-Yenice (Kanyon girişi, 41°08'16K, 032°21'51D, 456 m) ilçesinden Prof.Dr. Gıyasettin KAŞIK ve Uzm.Dr. Sinan ALKAN'ın yardımlarıyla toplandı ve teşhis edilerek laboratuvarında özel kurutma dolaplarında 40-45°C'de kurutuldu (Şekil 1). Kültür *G. lucidum* örnekleri ise ticari bir firmadan kuru ve dilimlenmiş olarak satın alındı (Şekil 2). Kuru örnekler değirmende toz haline getirildi ve su ekstraktlarının hazırlanması için 10 g öğütülmüş mantar 300 ml kaynar bidistile suyla 15 dk karıştırıldı. Ardından örnekler liyofilize edilerek kullanılıncaya kadar buzdolabında 4°C'de muhafaza edildi.



Şekil 1. Türkiye'den toplanan yabancı *G. lucidum*.



Şekil 2. Türkiye'den ticari bir firmadan temin edilen kurutulmuş ve dilimlenmiş kültür *G. lucidum*.



Deneysel aşamalar

Bu çalışma S. Ü. Veteriner Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi Etik Kurulu'nun 20.10.2015 tarih-2015/82 sayılı ve 28.04.2017 tarih-2017/42 sayılı izinleriyle gerçekleştirildi.

Çalışmada iki deney gerçekleştirildi. Birinci deneyde yabancı *G. lucidum* ekstraktı, ikinci deneyde kültür *G. lucidum* ekstraktı test edildi. Test edilen dozların belirlenmesinde ekstraktların stok solüsyonda suda çözünmesi dikkate alınarak kullanılacak en yüksek doz ve onun azalan iki dozu tercih edildi. Deneylerde ticari bir işletmeden temin edilen kahverengi renkte ATA-S cinsi damızlıklara ait toplam 90 adet dömlü kuluçkalık özelliklerde yumurta kullanıldı. Birinci deney için Kontrol (Bi-distile su), YGLEI (219 µg/y) [Yabancı *Ganoderma lucidum* ekstraktı I (219 mikrogram/yumurta)], YGLEII (875 µg/y) ve YGLEIII (1750 µg/y); ikinci deney için Kontrol (Bi-distile su), KGLEI (219 µg/y) [Kültür *Ganoderma lucidum* ekstraktı I (219 mikrogram/yumurta)], KGLEII (875 µg/y) ve KGLEIII (1750 µg/y) grupları oluşturuldu. Her grup için en az 10 yumurta olacak şekilde yumurtalar tartıldı ve ağırlıkları kaydedildi. Kuluçka işlemine başlamadan önce %70'lik etanolle kuluçka makinesi dezenfekte edilip yumurtalar kuluçka makinesine uygun konumda yerleştirildi. Kuluçka gelişim makinesine (Cimuka-Prodi HB500S) sıcaklık 37.7°C'ye, nispi nem %55'e ve her saat başı yumurtalar bir kez 180° çevrilecek şekilde gerekli ayarlamalar yapılarak kuluçka işlemi başlatıldı.

Her bir deney için kuluçkanın 8. gününde önceden steril şartlarda hazırlanan ve 4°C'de saklanan test solüsyonlarıyla steril şartlar altında enjeksiyon işlemleri gerçekleştirildi. Enjeksiyon işlemi yapılmadan yaklaşık 12 saat önce hava kamaralarının uygun pozisyon alması amacıyla çevirme işlemi durdurularak yumurtaların küt ucu yukarı gelecek şekilde dik pozisyona getirildi. Yumurtaların küt uçları enjeksiyon yapılmadan önce %96'lık etanolü pamukla dezenfekte edildi ve yumurta delicisi yardımıyla hava kamarasına delikler açılarak enjeksiyon işlemlerine geçildi. Birinci deney için Kontrol (Bi-distile su) grubundaki yumurtalara 60 µl hacminde steril bi-distile su; YGLEI (219 µg/y), YGLEII (875 µg/y) ve YGLEIII (1750 µg/y) gruplarındaki yumurtalara ise 60 µl hacminde belirtilen dozlarda steril bi-distile suda çözdürülmüş yabancı *G. lucidum* ekstraktı enjekte edildi. İkinci deney için ise farklı olarak KGLEI (219 µg/y), KGLEII (875 µg/y) ve KGLEIII (1750 µg/y) gruplarındaki yumurtalara ise 60 µl hacminde belirtilen dozlarda steril bi-distile suda çözdürülmüş kültür *G. lucidum* ekstraktı enjekte edildi. Enjeksiyon işlemi tamamlandığında daha önce açılan delikler hızlı bir şekilde sıvı parafinle kapatıldı. Enjekte edilen solüsyonların diffüze olabilmesi için ilk 1 saat yumurtalar hava kamarası yukarıda olacak biçimde dik pozisyonda bekletildi. Takiben yumurtalar kuluçka gelişim makinesine tekrar yerleştirilip kuluçka işlemine 11. güne kadar devam edildi.

Kuluçkanın 11. günü açılan yumurtalarda canlı ve ölü embriyoların gelişme evreleri Hamburger ve Hamilton (Hamburger ve Hamilton, 1951) skalasına (HH skalası)

göre belirlendi. Canlı embriyolar hassas teraziyle tartıldı ve rölatif embriyo ağırlıkları aşağıda gösterilen formülle hesaplandı;

$$\text{Rölatif embriyo ağırlığı} = \frac{\text{Embriyo ağırlığı}}{\text{Yumurtanın son ağırlığı}} \times 100$$

Elde edilen embriyolar malformasyonlar ve gelişme geriliklerinin belirlenmesi amacıyla %10'luk nötr formalinde 4°C'de saklandı. Bu embriyolarda kanat ve bacakların gelişmemesi, parmaklarda kıvrılma ve bükülmeler, tüylenmede anormallik, hemoraji, anormal gaga oluşumu, ödem, iç organların ters dönük dışarıda oluşu, tek ve çift göz anormalliği, boyun ve kalça defektleri, beyin dışarda gelişimi ve genel gelişim geriliği gibi çeşitli malformasyonların olup olmadığı öncelikle çıplak gözle daha sonra stereo mikroskopla belirlenmeye çalışıldı. Her gruptan 2-3 adet embriyo kemik gelişiminin tespit edilmesi amacıyla total olarak Alizarin Red-S boyama metoduyla (Tamayo Arango ve ark., 2012) boyandı. Bu metoda göre; tespit edilmiş embriyolar bir gün %70'lik etanolde ve ardından bir gün %2'lik KOH'de bekletildikten sonra, %2'lik KOH'de taze olarak hazırlanmış %0.005-0.0025'lik Alizarin Red-S (Merc-106278) içerisinde kontrollü bir şekilde 1-2 gün süreyle boyandı. Embriyolar 1-2 gün tekrar %2'lik KOH'e alındı. Son olarak KOH (%2'lik)+gliserol+amonyak (1:1:1) karışımında 3-7 gün bekletilen embriyolar gliserole alınarak fotoğrafları çekildi.

Canlı ve rölatif embriyo ağırlıklarının değerlendirilmesi amacıyla Kontrol ve diğer grupların aralarındaki farkı belirlemek için t-testi uygulandı ve p<0.05 önem düzeyi olarak kabul edildi. İstatistiksel analizler uygulanırken paket program (SPSS, 2004) kullanıldı.

Bulgular

Çalışmada kullanılan yumurtaların dömlülük oranları Tablo 1'de verilmiştir. Kontrol gruplarında 11 günlük yumurta ağırlık kaybı ve günlük yumurta ağırlık kaybı sırasıyla I. deneyde %5.54 ve %0.50, II. deneyde ise %6.39 ve %0.58 olarak tespit edilmiştir (Tablo 1).

I. ve II. deneylerdeki tüm gruplarda canlılık oranı %100 olarak tespit edilmiştir (Tablo 2). Hem yabancı hem de kültür *G. lucidum* ekstraktının test edilen dozlarda bir embriyonik ölüme sebep olmadığı ve tavuk embriyoları üzerinde embriyotoksik bir etki göstermediği tespit edilmiştir.

Yabancı *G. lucidum* ekstraktının test edildiği ilk deneyde canlı embriyo ağırlığı bakımından Kontrol grubuyla diğer gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir fark gözlenmemiştir. Rölatif embriyo ağırlığı bakımından ise sadece YGLEIII (1750 µg/y) grubu Kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak önemli düzeyde azalma göstermiştir (p<0.05). Kültür *G. lucidum* ekstraktının test edildiği ikinci deneyde Kontrol grubuyla diğer gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir fark



gözlenmezken, rölafif embriyo ağırlığı bakımından sadece KGLEI (219 µg/y) grubunda Kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak önemli düzeyde bir artış gözlenmiştir ($p<0.05$). Bu veriler de *G. lucidum*'un Türkiye'deki yabancı ve kültür formlarının tavuk embriyoları üzerinde embriyotoksik bir etki göstermediğine işaret etmektedir.

Gelişme geriliklerinin ve malformasyonların tespiti için çıplak gözle ve stereo mikroskop altında yapılan gözlemlerde, her iki deneyde de hiçbir grupta anormal embriyo gözlenmemiştir (Tablo 2). Gruplardaki normal embriyolardan bazılarının fotoğrafları Şekil 3-6'da görülebilir. Ayrıca iskelet sisteminin gelişim geriliklerini

incelemek amacıyla Alizarin Red-S yöntemiyle boyanan embriyolar makroskobik olarak incelenmiştir. Her iki deneydeki tüm gruplardan boyama yapılan embriyoların iskelet gelişiminde Kontrol grubuyla kıyaslandığı zaman önemli bir geriliğe ve herhangi bir anormalliğe rastlanmamıştır. Kemik gelişimini gösteren fotoğraflar Şekil 7 ve 8'de görülebilir. Anormal embriyo oranları ve Alizarin Red-S boyama yöntemi sonuçları göz önüne alındığında; test edilen dozlarda kültür ve yabancı *G. lucidum* ekstraktının tavuk embriyoları üzerinde teratojenik bir etkiye sahip olmadığı sonucuna ulaşılmıştır.

Tablo 1. Kuluçkanın 11. gününe ait veriler (YGLE, yabancı *Ganoderma lucidum* ekstraktı; KGLE, Kültür *Ganoderma lucidum* ekstraktı; µg/y, mikrogram/yumurta; Ort±SS, ortalama±standart sapma).

Gruplar (Doz)		Graptaki yumurta sayısı	Döllü yumurta sayısı	Döllülük oranı (%)	Yumurta başlangıç ağırlığı (g) (Ort±SS)	Kuluçkanın 11. gününde yumurta ağırlığı (g) (Ort±SS)	11 günlük yumurta ağırlık kaybı (%)	Günlük yumurta ağırlık kaybı (%)
I. deney	Kontrol (Bi-distile su)	12	10	83.33	59.95±2.56	56.63±2.72	5.54	0.50
	YGLEI (219 µg/y)	13	10	76.92	61.74±4.92	58.17±5.32	5.78	0.53
	YGLEII (875 µg/y)	13	12	92.31	61.82±4.50	58.00±4.71	6.18	0.57
	YGLEIII (1750 µg/y)	12	9	75.00	62.5±3.58	58.46±3.46	6.46	0.59
II. deney	Kontrol (Bi-distile su)	10	7	70.00	64.13±4.71	60.03±4.59	6.39	0.58
	KGLEI (219 µg/y)	10	7	70.00	61.21±3.15	58.15±1.93	5.00	0.46
	KGLEII (875 µg/y)	10	10	100.00	59.83±3.45	55.28±4.09	7.60	0.70
	KGLEIII (1750 µg/y)	10	9	90.00	61.96±4.66	57.82±5.08	6.68	0.61

Tablo 2. Kuluçkanın 11. gününde embriyolara ait bazı veriler (YGLE, yabancı *Ganoderma lucidum* ekstraktı; KGLE, Kültür *Ganoderma lucidum* ekstraktı; µg/y, mikrogram/yumurta; Ort±SS, ortalama±standart sapma).

Gruplar (Doz)		Döllü yumurta sayısı	Canlı embriyo sayısı	Canlılık oranı (%)	Canlı embriyo ağırlığı (g) (Ort±SS)	Rölafif embriyo ağırlığı (%) (Ort±SS)	Anormal embriyo sayısı	Anormal embriyo oranı (%)
I. deney	Kontrol (Bi-distile su)	10	10	100	3.27±0.26	5.73±0.30	0	0
	YGLEI (219 µg/y)	10	10	100	3.18±0.27	5.51±0.76	0	0
	YGLEII (875 µg/y)	12	12	100	3.40±0.33	5.91±0.54	0	0
	YGLEIII (1750 µg/y)	9	9	100	3.11±0.14	5.32±0.32*	0	0
II. deney	Kontrol (Bi-distile su)	7	7	100	3.27±0.37	5.44±0.38	0	0
	KGLEI (219 µg/y)	7	7	100	3.58±0.33	6.16±0.63*	0	0
	KGLEII (875 µg/y)	10	10	100	3.12±0.32	5.67±0.79	0	0
	KGLEIII (1750 µg/y)	9	9	100	3.05±0.21	5.31±0.54	0	0

* Kontrol (Bi-distile su) grubuyla arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (t-test. $p<0.05$)



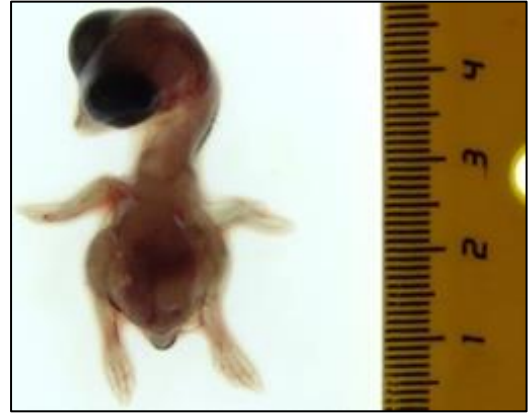
Şekil 3. Birinci deneydeki Kontrol (Bi-distile su) grubuna ait bir embriyo.



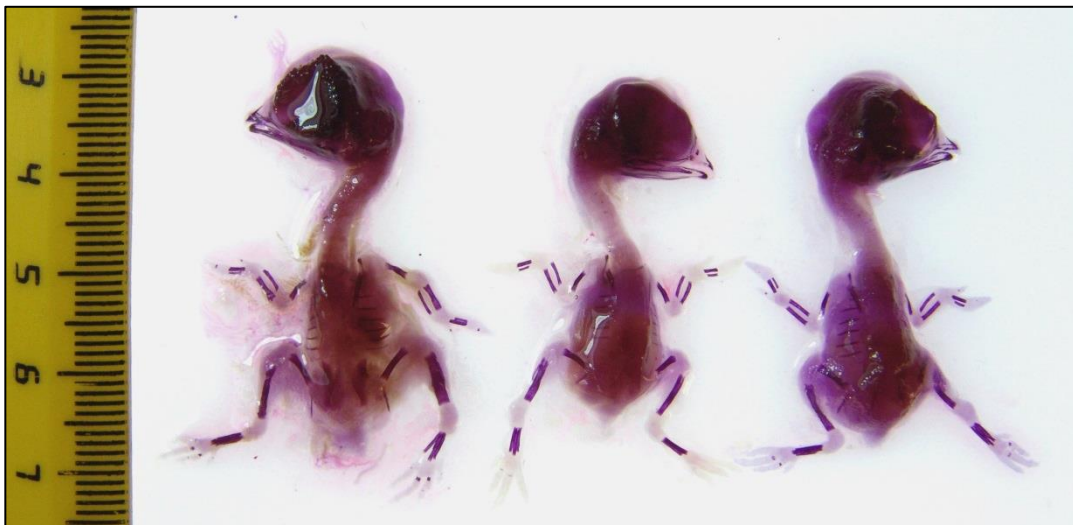
Şekil 4. Birinci deneydeki YGLEIII (1750 µg/y) grubuna ait bir embriyo.



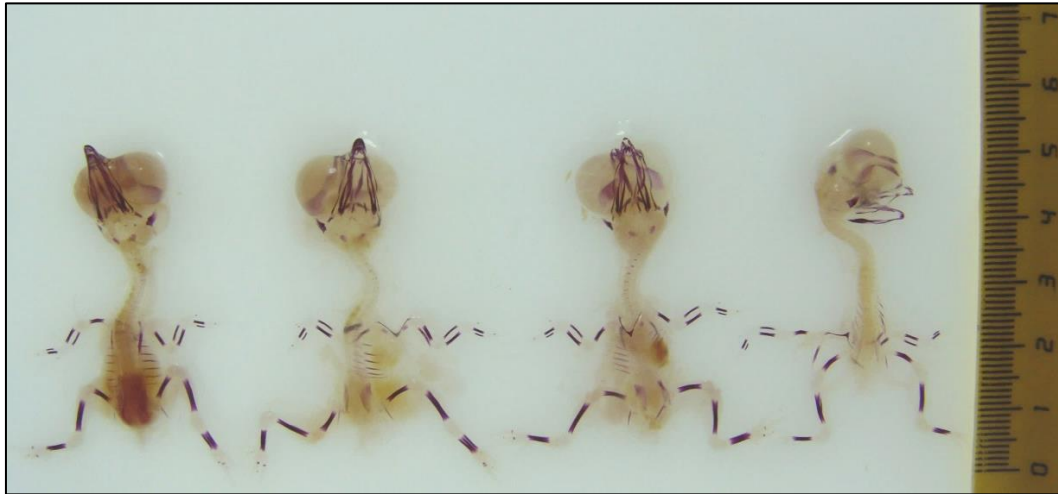
Şekil 5. İkinci deneydeki KGLEI (219 µg/y) grubuna ait bir embriyo.



Şekil 6. İkinci deneydeki KGLEII (875 µg/y) grubuna ait bir embriyo.



Şekil 7. Birinci deneyde Kontrol (Bi-distile su), YGLEI (219 µg/y) ve YGLEIII (1750 µg/y) gruplarına (soldan sağa doğru) ait kemik gelişimi normal embriyolar (Alizarin Red-S boyama).



Şekil 8. İkinci deneyde Kontrol (Bi-disile su), KGLEI (219 µg/y), KGLEII (875 µg/y) ve KGLEIII (1750 µg/y) gruplarına (soldan sağa doğru) ait kemik gelişimi normal embriyolar (Alizarin Red-S boyama).

Tartışma

İnsanoğlu her geçen gün artan miktarlarda embriyotoksik ve teratojenik potansiyeli bilinmeyen ilaçlar, endüstri yan ürünleri ve çevre kirleticilerine ister istemez maruz kalmaktadır. Bu çeşit kimyasal bileşiklerin embriyotoksik ve teratojenik etkilerinin sıçan veya fare gibi kemirgenler ya da tavşanlar üzerinde ayrıntılı olarak test edilmesi çok önemlidir. Ancak dünyadaki tüm kimyasal bileşiklerin test edilmesi mümkün değildir. Bu sebeple bir kimyasal bileşiğin memeli embriyosu üzerine olumsuz etkilerini doğru bir şekilde tahmin edebilecek, ucuz ve hızlı alternatif tarama yöntemlerinin geliştirilmesi önem kazanmaktadır. Bu amaca yönelik olarak memeli ve memeli olmayan hayvan türlerinin kullanıldığı çeşitli *in vivo* ve *in vitro* test sistemleri kullanılmaktadır. Kanatlı embriyoları özellikle de tavuk embriyoları kullanılarak değişik kimyasal bileşiklerin embriyotoksik ve teratojenik etkilerinin belirlendiği çok sayıda araştırma mevcuttur (Özparlak, 2015).

Tavuk Embriyotoksisite Tarama Testi (Chicken Embryotoxicity Screening Test, CHEST) dömlü tavuk yumurtası kullanılarak Jelinek (1977) tarafından geliştirilen ilk testlerden biridir ve CHEST-I (embriyotoksik doz sınırlarının belirlenmesi) ve CHEST-II (teratojenik parametrelerin tespiti) olmak üzere iki basamakta gerçekleştirilmektedir. Bu testin yanı sıra dömlü tavuk yumurtası kullanılarak çeşitli modifikasyonlarla, Kemper ve Luepke (1986) Tavuk Yumurtası Testini (Hen's Eggs Test, HET) ve Nishigori ve ark. (1992) ise Dömlü Tavuk Yumurtası Tarama Testini (Hen's Fertile Egg Screening Test, HEST) geliştirmişlerdir. Kanatlı embriyolarıyla yapılan son yıllardaki bir çalışmada ise dömlü tavuk yumurtalarındaki embriyoların perifer kan eritositlerinde mikronucleus (MN) oluşumu tanımlanmış ve tavuk yumurtası mikronucleus testi (Hen's Egg Test for

Micronucleus Induction, HET-MN) olarak adlandırılan yöntem geliştirilmiştir (Wolf ve Luepke, 1997).

Bahsedilen ve benzer diğer testler genel olarak ucuz ve kolay olup tekrarlanabilir sonuçlar vermekte ve kısa sürede gerçekleştirilebilmektedir. Cıvciv embriyosunun gelişim safhalarının çok iyi bilinmesi önemli diğer avantajlarıdır. Çok sayıda cıvciv embriyosunun kullanılabilmesi toksisitenin istatistiksel açıdan değerlendirilmesinde memeli türlerle yapılacak çalışmalara karşı bir avantaj sağlamaktadır. Bu testler daha sonra memeliler üzerinde yapılacak çalışmalarda kullanılacak olan denek sayısını ve deneme sayısını azaltmakta, canlı bir organizmaya verilebilecek ağrı ve acıyı da en aza indirgeyerek, etik kurallara, yasal kısıtlamalara ve hayvan haklarına da aykırı düşmemektedir. Ancak tavuk embriyosu kullanılan bu testlerde plasenta ve memelilerdeki anne-fetüs ilişkisi olmaması, bazı bileşiklerin nonspesifik bir hassasiyet göstererek hatalı pozitif sonuçlar verebilmesi dezavantajları olarak görülmektedir. HET yöntemiyle ölüm oranının (LD₅₀), gelişme geriliğinin (yumurtadan çıkış ağırlığı, kemik uzunlukları ve organ ağırlıkları), teratojenitenin (iskelet gelişimi anormallikleri, makroskobik ve anatomik anormallikler), sistemik etkilerin (kan kimyasal parametreleri, hematolojik parametreler ve organ histopatolojisi) ve immünopatolojik etkilerin (timus ve bursa Fabricii'nin histolojik yapıları) değerlendirilebileceği belirtilmiştir (Özparlak, 2015).

Kuluçka şartlarının optimum olması kanatlı embriyolarının kullanıldığı embriyotoksisite çalışmalarında çalışmanın güvenilirliğini artırmaktadır. Kuluçka makinesinin nispi (%) neminin belirlenebilmesi için yumurtaların kabuklarındaki porlardan nemin buharlaşması sonucu kaybedilmesiyle oluşan ağırlık kaybı önemli bir ölçüttür. Kuluçka süresince günlük ortalama %0.55-0.70 aralığında ağırlık kaybı önerilmektedir



Kaynaklar

- Brown L.P., Flint O.P., Orton T.C., Gibson G.G., *Chemical teratogenesis: testing methods and the role of metabolism*. Drug Metabolism Reviews 17:221-260 (1986).
- Budai P., Fejes S., Várnagy L., Somlyay I., Takács I., *Teratogenicity test of dimethoate containing insecticide formulation and heavy elements (Cu, Cd) in chicken embryos after administration as single compounds or in combination*. Mededelingen (Rijksuniversiteit te Gent. Fakulteit van de Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen) 66:885-889 (2001).
- Budai P., Fejes S., Várnagy L., Szabo R. ve Keserü M., *Embryonic toxicity of a dimethoate containing insecticide formulation and Cu-sulphate in chicken after individual or combined administration*. Mededelingen (Rijksuniversiteit te Gent. Fakulteit van de Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen) 67:99-103 (2002).
- Chang H.-M., But P.P., Yao S.-C., *Pharmacology and applications of Chinese materia medica*. World Scientific (1986).
- Çelik I., Oguz H., Demet O., Boydak M., Donmez H. Sur E., Nizamlioglu F., *Embryotoxicity assay of aflatoxin produced by Aspergillus parasiticus NRRL 2999*. British Poultry Science 41:401-409 (2000).
- Dulay R., Eguchi F., Kalaw S., Reyes R., Alfonso N., *Teratogenic and Toxic Effects of Lingzhi or Reishi Medicinal Mushroom, Ganoderma lucidum (W.Curt.:Fr.) P. Karst. (Higher Basidiomycetes), on Zebrafish Embryo as Model*. International Journal of Medicinal Mushrooms 14:507-512 (2012).
- Fejes S., Budai P., Varnagy L., Molnar T., Szabo R., Fancsi T., *Toxicity of a mancozeb containing fungicide formulation and CU-sulphate to chicken embryos after administration as single compounds or in combination*. Mededelingen (Rijksuniversiteit te Gent. Fakulteit van de Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen) 67:105-109 (2002).
- Hamburger V., Hamilton H.L., *A series of normal stages in the development of the chick embryo*. Journal of morphology 88:49-92 (1951).
- Hamilton J.W., Denison M.S., Bloom S.E., *Development of basal and induced aryl hydrocarbon (benzo [a] pyrene) hydroxylase activity in the chicken embryo in ovo*. Proceedings of the National Academy of Sciences 80:3372-3376 (1983).
- Jelinek R., *The chick embryotoxicity screening test (CHEST I and II)*. In: Neubert D, Merker HJ and Kwasigrooh TE (eds.) Methods in Prenatal Toxicology, Georg Thieme, Stuttgart, pp. 381-386.
- Jelinek R., Peterka M., Rychter Z., *Chick embryotoxicity screening test--130 substances tested*. Indian Journal of Experimental Biology 23:588-595 (1985).
- Jong S., Birmingham J., *Medicinal benefits of the mushroom Ganoderma*. Advances in Applied Microbiology 37:101-134. (1992).
- Kemper F., Luepke N., *Toxicity testing by the hen's egg test (HET)*. Food and Chemical Toxicology 24:647-648. (1986).
- Lee S., Park S., Oh J.-W., Yang C.-H., *Natural inhibitors for protein prenyltransferase*. Planta Medica 64:303-308 (1998).
- Liu G.T., Recent advances in research of pharmacology and clinical applications of Ganoderma P. Karst. species (Aphyllophoromycetideae) in China. International Journal of Medicinal Mushrooms 1:63-67 (1999).
- Liu X., Yuan J.-P., Chung C.-K., Chen X.-J., *Antitumor activity of the sporoderm-broken germinating spores of Ganoderma lucidum*. Cancer Letters 182:155-161 (2002).
- Mauldin J.M., *Quality control procedures for the hatchery*. Poultry Science 93:1-24 (1993).
- Nishigori H., Mizumura M., Iwatsuru M., *The hen's fertile egg screening test (HEST): A comparison between the acute toxicity for chick embryos and rodents of 20 drugs*. Cell Biology and Toxicology 8:255-265 (1992).
- Özcan M., *Hidrokinon'un (HK) Gelişim Toksikitesinin Döllenmiş Tavuk Embryosunda Analiz ve Değerlendirilmesi*. Yüksek Lisans Tezi, GÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara (1992).
- Özparlak H., *The use of chick embryos in embryotoxicity and teratogenicity tests*. Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Dergisi 40:13-22 (2015).
- Prelusky D., Hamilton R., Foster B., Trenholm H., Thompson B., *Optimization of chick embryotoxicity bioassay for testing toxicity potential of fungal metabolites*. Journal-Association of Official Analytical Chemists 70:1049-1055 (1987).
- Romanoff A., *Life in Twenty-one Days*. Extention Bulletin 205 (1997).
- SPSS, *SPSS for Windows 13.0.0*. SPSS Inc., Chicago 60606, USA (2004).
- Sur E., *Yumurtaya verilen Aflatoksin, B1 (AFB1)'in Tavukların Lenfoid Organlarının Embriyonal Gelişimi Üzerindeki Etkilerinin Enzim Histokimyasal Yöntemlerle Araştırılması*. Doktora Tezi, SÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya (2001).
- Tamayo Arango L.J., Suárez Avendaño P.A., Cano Valderrama A.I., Martínez C., Brayian A., Ciro Y., Sergio A., Mejía Giraldo C.A., Lenis Sanin Y.Y., *Didactic model of the chicken embryo development using modified Dawson's diaphanization and staining technique*. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias 25:620-624 (2012).
- Üstün O., *Makrofungusların besin değeri ve biyolojik etkileri*. Turk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi 68:223-240 (2011).
- Varga T., Cravedi J., Fuzesi I., Varnagy L., *Residues of fenitrothion in chick embryos following exposure of fertile eggs to this organophosphorus insecticide*. Revue De Medecine Veterinaire 153:275-278 (2002).
- Varga T., Hlubik I., Várnagy L., Budai P., Molnár E., *Embryonic toxicity of insecticide Sumithion 50 EC and herbicide Fusilade S in pheasants after individual or combined administration*. Acta Veterinaria Hungarica 47:123-128 (1999).
- Varnagy L., *Degradation of some pesticides in avian embryos*. Acta Veterinaria Hungarica 47:117-122 (1999).
- Varnagy L., Budai P., Molnar E., Füzesi I., Fancsi T., *Teratogenicity testing of BI 58 EC (38% dimethoate) in chicken embryos with special respect to degradation of the active ingredient*. Acta Veterinaria Hungarica 49:355-361 (2001).
- Wasson R.G., *Soma: Divine mushroom of immortality*. Harcourt Brace Jovanovich New York (1968).
- Wolf T., Luepke N.-P., *Formation of micronuclei in incubated hen's eggs as a measure of genotoxicity*. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis 394:163-175 (1997).
- Wolf T., Niehaus-Rolf C., Luepke N.-P., *Some new methodological aspects of the hen's egg test for micronucleus induction (HET-MN)*. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis 514:59-76 (2002).
- Wytenbach C.R., Thompson S.C., *The effects of the organophosphate insecticide malathion on very young chick embryos: malformations detected by histological examination*. American Journal of Anatomy 174:187-202 (1985).



Geliş(Received) :06/08/2018
Kabul(Accepted) :29/09/2018

Araştırma Makalesi
Doi:10.30708/mantar.451294

Bazı Makrofungus Misellerin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi

Ayşe EREN, Mehmet AKYÜZ*

*Sorumlu yazar: makyuz@beu.edu.tr

Bitlis Eren Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Bitlis - Türkiye

Öz: Bu çalışmada, Ülkemizde doğal olarak yetişen (*Terfezia boudieri*, *Picoa juniperi* ve *P. lefebvrei*) ve ticari öneme sahip (*Pleurotus ostreatus*, *P. florida*, *P. sajor-caju*, *P. eryngii* ve *Agaricus bisporus*) farklı yenen makrofungus misel kültürlerin bazı bakteri (*Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus megaterium*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*), maya (*Candida albicans* ve *C. glabrata*) ve dermatofit türleri (*Trichophyton* sp. ve *Epidermophyton* sp.) karşı antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Doğadan (*T. boudieri*, *P. juniperi* ve *P. lefebvrei*), ticari kuruluşlardan (*A. bisporus*) ve stok kültürlerden (*P. ostreatus*, *P. florida*, *P. sajor-caju* ve *P. eryngii*) sağlanan saf kültürlerin çoğaltılmasında % 2.0 malt-ekstrakt agar ve antimikrobiyal çalışmalarda ise disk difüzyon yöntemi uygulanmıştır. *T. boudieri*, *P. juniperi*, *P. lefebvrei*, *P. ostreatus*, *P. florida*, *P. sajor-caju*, *P. eryngii* ve *A. bisporus* misel ekstraktları test edilen mikroorganizmaların (bakteri, maya ve dermatofit) gelişmelerini değişik oranlarda engellediği (7.7-17.3 mm çap) belirlenmiştir. Diğer mantar türleriyle karşılaştırıldığında (*T. boudieri*, *P. juniperi*, *P. ostreatus*, *P. florida*, *P. sajor-caju*, *P. eryngii* ve *A. bisporus*), *P. lefebvrei*'nin metil alkol ekstraktının (12.6-17.3 mm çap), farklı patojen mikroorganizmalara karşı (*K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *B. megaterium*, *E. coli*, *S. aureus*, *S. typhi*, *C. albicans*, *C. glabrata*, *Trichophyton* sp. ve *Epidermophyton* sp.) en yüksek etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Genel olarak standart antibiyotigi olarak kullanılan streptomisin sülfat ve nystatin inhibisyon zonu 13.0-18.0 mm olarak ölçülmüştür. Buna göre, kullanılan mantar misel ekstraksiyonlarının inhibisyon etkileri düşük bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: Antimikrobiyal aktivite, *Pleurotus*, *Agaricus*, *Terfezia*, *Picoa*, bakteri, maya, dermatofit

Determination of Antimicrobial Activities of Some Macrofungi Mycelial Cultures

Abstract: In this study, it is aimed to determine the antimicrobial effects of different edible macrofungi mycelium cultures, which were obtained from naturally grown (*Terfezia boudieri*, *Picoa juniperi* and *P. lefebvrei*) and commercialized examples (*Pleurotus ostreatus*, *P. florida*, *P. sajor-caju*, *P. eryngii* and *Agaricus bisporus*) from our country, against certain bacteria (*Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus megaterium*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella typhi*), yeast (*Candida albicans* and *C. glabrata*) and dermatophyte species (*Trichophyton* sp. and *Epidermophyton* sp.). For the propagation of the main culture, which was obtained from stock cultures (*P. ostreatus*, *P. florida*, *P. sajor-caju* and *P. eryngii*), commercial establishments (*A. bisporus*) and were naturally grown (*T. boudieri*, *P. juniperi* and *P. lefebvrei*), 2.0% malt extract agar (MEA) was used, and the antimicrobial activity were evaluated according to the disc diffusion method. The mycelium extracts from *T. boudieri*, *P. juniperi*, *P. lefebvrei*, *P. ostreatus*, *P. florida*, *P. sajor-caju*, *P. eryngii* and *A. bisporus* were shown to inhibit the growth of tested microorganisms (bacteria, yeast and dermatophyte) to (7.7-17.3 mm diam.) at different degrees. It was also seen that the methyl alcohol extract of *P. lefebvrei* (12.6-17.3 mm diam.) has the highest effect against different pathogenic microorganisms (*K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *B. megaterium*, *E. coli*, *S. aureus*, *S. typhi*, *C. albicans*, *C. glabrata*,



Trichophyton sp. and *Epidermophyton* sp.) when compared with other mushroom species (*T. boudieri*, *P. juniperi*, *P. ostreatus*, *P. florida*, *P. sajor-caju*, *P. eryngii* and *A. bisporus*). In general, the inhibition zone of streptomycin sulfate and nystatin, which are used as standard antibiotics, were measured as 13.0-18.0 mm. Based on this, the antimicrobial activity of the mushroom mycelial extractions that were used were found to be low.

Key words: Antimicrobial activity, *Pleurotus*, *Agaricus*, *Terfezia*, *Picoa*, bacteria, yeast, dermatophyte

Giriş

Yüzyıllardır şapkaklı mantarlar değişik toplumlardan tarafından, besinsel (besleyici, lezzet ve aroma içerikleri), tıbbi (tedavi edici, ömrün uzatılması, sağlığın korunması) ve hallusinojenik amaçlarla kullanıldığı ve bazı uygarlıklar tarafından da doğa üstü güçlerle donatıldığına inanılmaktadır (Lincoof 1988, Manzi ve Pizzoferrato 2000, Matilla vd. 2000, Sanmee vd. 2003).

Farklı makrofungus türlerinin (*Agaricus*, *Pleurotus*, *Lentinus*, *Volvariella*, *Genoderma*, *Flammulina*, *Russula*, *Auricularia*, *Boletus*, *Armillaria*, *Cantharellus*, *Lactarius*, *Termitomyces*, *Agrocybe*, *Coprinus*, *Terfezia*, *Picoa*, *Tirmania*, *Tuber*, *Morchella* vd.) fruktifikasyon organı (askokarp ve basidiokarp) ve misel yapıları; doymamış yağ asitleri, fenol ve flavonoid içerikleri, karbonhidrat, protein, amino asit, şeker, şeker alkoller, vitamin ve element içeriği yönünden zengin, fakat ham yağ ve kalori düzeylerinin düşük olmalarından dolayı iyi bir diyet besin kaynağı olarak tüketilmelerinin faydalı olduğu belirtilmiştir (Manzi vd. 1999, Diez ve Alvarez 2001, Manzi vd. 2001, Barros vd. 2008, Wang ve Marccone 2011, Wang vd. 2014, Rathore vd. 2017).

Geçmişten günümüze kadar Dünya'nın farklı yerlerinde, doğal olarak yetişen, ticari olarak satılan ve kültürü yapılan mantar (*Ascomycota* ve *Basidiomycota*) türlerinin (*Agaricus*, *Pleurotus*, *Lentinus*, *Genoderma*, *Boletus*, *Armillaria*, *Fomes*, *Coriolus*, *Lactarius*, *Auricularia*, *Russula*, *Volvariella*, *Trametes*, *Hericium*, *Grifola*, *Terfezia*, *Picoa*, *Tuber*, *Tirmania* vd.) askokarp, basidiokarp ve misel yapılarından izole edilen biyoaktif bileşenlerin (fenolik ve flavonoid bileşikler, glikopeptitler, polisakkaritler (kitin, hemisellüloz, glukoz, mannan, ksilan, galaktan), vitamin (A, B, D, C, E, β-karoten), lektin, uçucu yağlar, terpenoidler, steroidler, glikozitler, alkaloitler, organik asitler, enzimler, lifler, protein, nükleik asitler, purinler, pirimidinler, kinonlar ve fenil propanoid türevleri, lentinan vb.) tıbbi ve tedavi edici etkilere (antikanser, anti-tümör, anti-inflamator, anti-aterosklerotik, anti-hipolipidemik, anti-hipertansif, antiromatizmal, antioksidan, antimikrobiyal, antibakteriyal, antiviral, antifungal, antiparazitik, antitümör, antitoksin, antidiyabetik, antialerjik, antihiperlipidemik, detoksifikasyon, karaciğer koruyucu, kardiyovasküler koruyucu, kolesterol düşürücü, immunomodulator ve immün sistem güçlendirici, prebiyotik aktivite, sitotoksik etki, obezite, parkinson, alzheimer, nörolojik rahatsızlıklar, yaşlanma ve dejeneratif rahatsızlıklara karşı koruyucu vb.) sahip oldukları kanıtlanmıştır (Barros vd. 2008, Synytsya

vd. 2009, Wang ve Marccone 2011, Patel 2012, Patel vd. 2012, Vannucci vd. 2013, Wasser 2014, Chatterjee ve Patel 2016, Srikram ve Supapvanich 2016, Sulistiany vd. 2016, Reis vd. 2017, Rathore vd. 2017, Souilem vd. 2017 vd.).

Günümüzde, coğrafik yapı, iklimsel değişiklikler, hızlı nüfus artışı, düzensiz göçler, kentleşme, sanayileşme, ekolojik çevrenin kirlenmesi ve tahrip edilmesi, tarımsal alanların sınırlandırılması, gıda üretiminde zirai ilaçların aşırı kullanımı, antibiyotiklerin insan sağlığında ve gıda ürünlerinde bilinçsiz kullanımı, hastalık etkenlerinin direnç kazanması, besin ürünlerinde yapılan genetiksel değişiklikler, genetiği değiştirilmiş gıda ürünlerin artması ve doğal besin ürünlerinden yeterince faydalanılmaması gibi pek çok faktörün doğal besin kaynaklarını ve organik tarımsal ürünleri azalttığı görülmektedir. Özellikle tüm bu etkenler göz önüne alındığında günümüz koşullarında, kötü ve düzensiz beslenme, yetersiz gıda alımı ve doğal olmayan ürünlerin tüketilmesi neticesinde son yıllarda, en basit patojen mikroorganizma (bakteriyel, viral ve fungal) rahatsızlıklarında dahil olmak üzere, obezite, kalp ve karaciğer rahatsızlıkları, yüksek tansiyon, diyabet, immün sistem yetersizliği, kanser, hızlı yaşlanma, parkinson, alzheimer vb. gibi pek çok hastalıkla sık olarak karşılaşmaktadır (Wasser 2010, Chang ve Wasser 2012, Wasser 2014, Wasser 2017).

Dünyanın farklı yerlerinde doğal olarak yetişen, ticari olarak satılan ve kültürü yapılan değişik mantar cinslerinin (*Agaricus*, *Pleurotus*, *Lentinus*, *Genoderma*, *Boletus*, *Armillaria*, *Fomes*, *Coriolus*, *Lactarius*, *Auricularia*, *Russula*, *Volvariella*, *Trametes*, *Hericium*, *Grifola*, *Terfezia*, *Picoa*, *Tuber*, *Tirmania* vd.) askokarp, basidiokarp ve misel yapılarından hazırlanan ekstraktların (su, metanol, etanol, aseton, etilasetat, kloroform, etanol, metanol, eter, ksilen, aseton, benzen vd.), in vitro koşullarda değişik patojen mikroorganizmaların (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Bacillus cereus*, *B. megaterium*, *B. subtilis*, *B. licheniformis*, *Klebsiella pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *S. typhimurium*, *S. enteritidis*, *Streptococcus mutans*, *S. agalactiae*, *S. pyogenes*, *Micrococcus luteus*, *Microsporum boudardii*, *M. gypseum*, *Mycobacterium smegmatis*, *Vibrio parahaemolyticus*, *V. cholerae*, *Enterococcus faecalis*, *E. hirae*, *Enterobacter aerogenes*, *E. cloacae*, *Proteus mirabilis*, *P. vulgaris*, *Sarcina lutea*, *Paracoccus denitrificans*, *Aspergillus niger*, *A. flavus*,



Candida albicans, *C. utilis*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *Trichophyton* sp., *T. rubrum*, *Epidermophyton* sp., *E. floccosum*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Listeria monocytogenes*, *L. innocua* vd.) gelişimini inhibe ettiği tespit edilmiştir (Chellal ve Lukasova 1995; Uzun vd. 2004; Janakat vd. 2005; Tambekar vd. 2006; Demirhan vd. 2007; Gbolagade vd. 2007; Iwalokun vd. 2007; Akyüz vd. 2010; Kalyoncu vd. 2010ab; Nwachukwu ve Uzoeto 2010; Bekçi vd. 2011; Gouzi vd. 2011; Patel 2012, Aldeyasi vd. 2013; Doğan ve Aydın 2013; Thillaimaharani vd. 2013; Vamanu 2013; Al-Laith 2014; Padmavathy vd. 2014; Akyüz vd. 2015; Chowdhury vd. 2015; Dünder vd. 2015; Owaid vd. 2015; Smolskaite vd. 2015; Hamza vd. 2016; Krupodorava vd. 2016; Sevindik vd. 2016; Nicolcioiu vd. 2017; Okafor vd. 2017 vd.)

İnsanoğlunun son yıllarda karşılaştığı sağlık sorunlarını azaltmaya ve etkilerini ortadan kaldırmaya yol açacak alternatif doğal yetişen besleyici ve tedavi edici özelliklere sahip olan mantar gibi zengin besin kaynaklarını yeniden keşfetmek ve bunları kullanmak için araştırmalar yapmak önem arz etmektedir.

Bu çalışmada, Ülkemizde doğal olarak yetişen, kültürü yapılan ve ticari öneme sahip farklı yenebilen makrofungus türlerin misel kültürlerin bazı bakteri, maya ve dermatofit türlere karşı antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Çalışmada Kullanılan Mantar Misel Örnekleri

Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı'ndan sağlanan *Pleurotus eryngii* (DC. ex Fr.) Quel., *P. ostreatus* (Jacq. ex Fr.) P. Kumm., *P. sajor caju* (Fr.) Singer ve *P. florida* Favose'nin ana misel kültürleri çoğaltılarak deneysel çalışmalarda kullanılmıştır. *Agaricus bisporus* (J.E. Lange) Imbach'ın misel kültürü, Fırat Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Mikrobiyoloji Laboratuvarındaki stok kültürlerden sağlanmıştır. Ayrıca; *Terfezia boudieri* (Chatin), *Picoa lefebvrei* (Pat.) Maire ve *P. juniperi* Vittad.'ın askokarpları, 2015 yılı Mart-Mayıs aylarında Malatya-Elazığ çevresinde toplanarak, Bitlis Eren Üniversitesi Bilim Teknoloji Uygulama Araştırma Merkezi, Mikrobiyoloji Laboratuvarında doku kültürü yöntemiyle saf miselleri elde edilerek deneysel çalışmalarda kullanılmıştır.

Çalışmada Kullanılan Test Mikroorganizmaları

Çalışmada kullanılan mikroorganizmalar; Fırat Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Mikrobiyoloji Araştırma Laboratuvarındaki kültür koleksiyonundan temin edilmiştir. Araştırmada, *Klebsiella pneumonia* FMC 5, *Pseudomonas aeruginosa* DSM 50071, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus megaterium* DSM 32, *Staphylococcus aureus* COWAN 1, *Salmonella typhi*, *Candida albicans* FMC 17, *Candida glabrata* ATCC

66032, *Trichophyton* sp. ve *Epidermophyton* sp. kültürleri kullanılmıştır.

Misel Kültürlerin Çoğaltılması ve Ekstraktların Hazırlanması

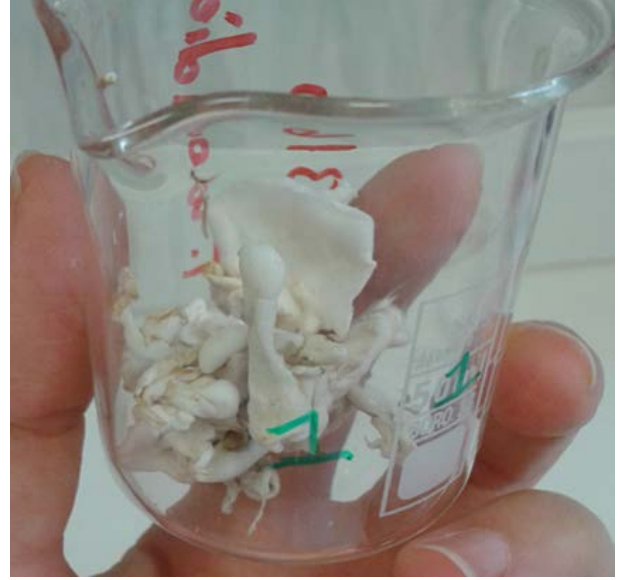
Hassas terazide tartılan 20 g malt ekstrakt ve agar, 1 lt'lik erlen içerisine bırakılarak 121 °C'de 1.5 atm basınç altında 15 dakika süreyle otoklavda steril edilmiştir. Pastör Fırın'ında 180 °C'de 1 saat 30 dakika süreyle steril edilen 9.00 mm çapındaki cam petri kapları açılarak her birine besi yerinden yaklaşık 25 mL dökülmüştür. Aşılama işlemi, petri kaplarında bulunan ana kültürlerin kapakları açılarak, Bunzen Beki alevinde steril edilen bir bistüri ile kare şeklinde yaklaşık 0.5 cm² büyüklüğünde kesilerek, bir parça agarlı besi yerinin miselle birlikte steril bir aktarma iğnesi yardımıyla, petri kabının ortasına bırakılması şeklinde yapılmıştır. Daha sonra, petrilerin kapağı kapatılmış ve kenarları parafillenerek, etiketlenmiştir. Aşılama plaklar misel gelişimi için 25 °C'de inkübasyona bırakılmıştır (Zadrazil 1978). Buradan elde edilen misel örnekleri (Şekil 1), uygun koşullarda kurutulduktan sonra (Şekil 2) 1 g misel tartılarak üzerine 10 mL metil alkol ilave edilmiş ve bu ekstraksiyonlar 48 saat süreyle çalkalamalı etüvde işleme tabi tutulmuştur. Elde edilen ekstraktların çözücüleri rotavaporda uzaklaştırılmış ve etüvde kurularak kuru ekstraktlar elde edilmiştir. Metil alkol ile hazırlanan ve kurutulan ekstraktlar DMSO (Dimetil sülfoksit) ile 1 mg/mL olacak şekilde çözüldürülmüştür. Böylece misel ekstraktlarının solüsyonları oluşturulmuştur. Bu şekilde hazırlanan tüm ekstraktlar hemen analize tabi tutulmuş ve deney sonuçlanıncaya kadar 4 °C de buzdolabında saklanmıştır.

Mikroorganizma Kültürlerin ve Disklerin Hazırlanması

Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesinde disk difüzyon yöntemi uygulanmıştır. Bakteri suşları, nutrient buyyon'a (Difco) aşılansak 35±1°C'de 24 saat, maya suşları, malt ekstrakt buyyon'da (Difco), dermatofit funguslar ise glukozlu sabouroud buyyon'da (Difco) 25±1°C'de 48 saat süre ile inkübe edilmiştir. Hazırlanan bakteri, maya ve fungusların buyyon'daki kültürü sırasıyla, Müeller Hinton Agar, Sabouraud Dextrose Agar ve Potato Dextrose Agar içine % 1 oranında aşılansak (10⁶ bakteri/mL, 10⁴ maya/mL, 10⁴ fungus/mL) iyice çalkalandıktan sonra 9 cm çapındaki steril petri kutularına 25 mL konulmuş ve besiyerinin homojen bir şekilde dağılması sağlanmıştır. Ekim yapılan petri kutuları 10-15 dk oda sıcaklığında bırakılmıştır. Katılaştıran agar ortamına aseptik olarak her biri 100 µL'lik farklı ekstraktlar emdirilmiş olan 6 mm çapındaki antimikrobiyal diskler (Oxoid) hafifçe yerleştirilmiştir. Bu şekilde hazırlanan petri kutuları 4°C'de 1.5-2 saat bekletildikten sonra, bakteri aşılansak plaklar 37±0.1°C'de 24 saat, maya ve dermatofit aşılansak plaklar ise 25±0.1°C'de 72 saat süre ile inkübe edilmiştir (Collins ve Lyne 1987). Kontrol için standart diskler kullanılmıştır (Nystatin: 30 µg ve Streptomisin sülfat: 10 µg).



Şekil 1. İnkübasyon sonucunda elde edilen saf misel örnekleri



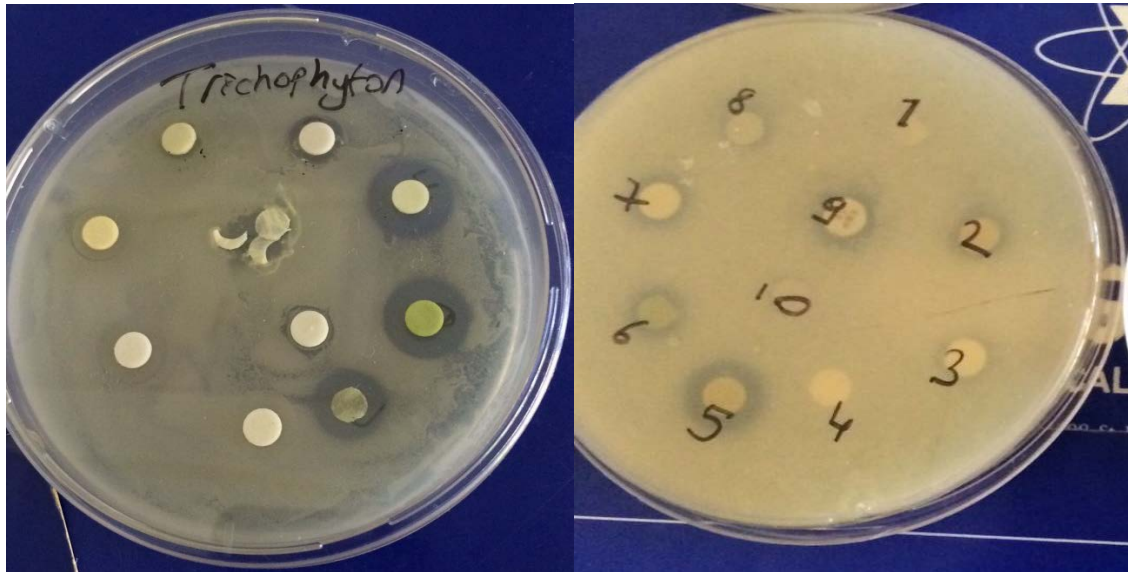
Şekil 2. Petri kabında gelişen saf miselin uygun koşullar altında kurutulması

Süre sonunda besiyeri üzerinde oluşan inhibisyon zonları mm olarak değerlendirilmiş (Şekil 3) ve çalışma üç tekrarlı olarak yapılmıştır.

İstatistiksel Analiz

Verilerin analizinde SPSS 20.0 istatistiksel paket programı kullanılmıştır. Analizlerde kullanılacak istatistiksel testlerin belirlenebilmesi için normallik ve varyansların homojenliği sınaması yapılmıştır. Bu aşamada, Kolmogorov Smirnov uyum iyiliği testi ve

varyansların homojenliği için ise Levene testi tercih edilmiştir. Makrofungusların misel kültür ekstratlarının farklı patojen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkilerinin analizinde ANOVA testi kullanılmıştır. Gruplar arasındaki farklılığın ortaya çıkarılmasında ise Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. I. tip hata düzeyi 0.05 alınarak, $p < 0.05$ olduğu durumlarda gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu kabul edilmiştir.



Şekil 3. Makrofungus misel ekstratların test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal etkilerinin test edilmesi



Bulgular ve Tartışma

Farklı mantar misel kültürlerin (*Pleurotus* spp., *Agaricus bisporus*, *Picoa lefebvrei*, *P. juniperi* ve *Terfezia boudieri*) metil alkol ekstraktları, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *B. megaterium*, *E. coli*, *S. aureus*, *S. typhi*, *C. albicans*, *C. glabrata*, *Trichophyton* sp. ve *Epidermophyton* sp.'nin gelişmelerini değişen oranlarda engellemişlerdir (Tablo 1).

K. pneumoniae üzerine, en düşük etkiyi *T. boudieri* (7.7 mm çap) miseli, en yüksek etkiyi ise 17.3 mm çap ile *P. lefebvrei* misel ekstraktının gösterdiği belirlenmiştir (Tablo 1). Besin olarak tüketilen bazı mantar türlerinin (*Pleurotus tuber-regium* (Fr) Sing, *P. giganteus* (Berk.) S.C. Karunarathna & K.D. Hyde, *P. eryngii*, *P. ferulae*, *P. sajor-caju*, *P. florida*, *P. ostreatus*, *A. bisporus*, *T. boudieri*, *T. claveryi*, *Psathyrella atroumbonata* (Pegler), *Lentinus edodes* (Berk.) Singer, *Hypsizygus tessulatus* (Bull.) Singer, *Agrocybe cylindracea* (DC.) Maire, *Marasmius jodocodos* (Henn.), *Termitomyces microcarpus* (Berk), *T. robustus* (Beeli)), *K. pneumoniae*'ya karşı değişen oranlarda engelleyici etki göstermiştir (Uzun vd. 2004, Tambekar vd. 2006, Gbolagade vd. 2007, Iwalokun vd. 2007, Akyüz vd. 2010, Aldebasi vd. 2013, Doğan ve Aydın 2013, Thillaimaharani vd. 2013, Chowdhury vd. 2015). Yapılan çalışmalarda, farklı çözümlerle hazırlanan mantar ekstraktların, *K. pneumoniae* üzerine karşı farklı inhibisyon etki oluşturabileceği ifade edilmiştir.

Tablo 1'de gösterildiği gibi *Pleurotus sajor-caju*, *P. ostreatus*, *P. eryngii*, *P. florida*, *Terfezia boudieri*, *Picoa juniperi* ve misel kültürlerinden elde edilen ekstraktların, *P. aeruginosa*'nın gelişimini düşük düzeyde engelleyici etki gösterdiği (8.3-10.0 mm çap), fakat en yüksek etkiyi *P. lefebvrei*'den elde edilen ekstraktların (16.7 mm çap) gösterdiği tespit edilmiştir. Farklı mantar türlerinin (*Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quél., *P. populinus* O. Hilber & O.K. Mill., *P. cornucopiae* (Paulet) Rolland, *P. salmoneostramineus* Lj.N. Vassiljeva, *P. sajor-caju*, *P. ostreatus*, *P. florida*, *P. tuber-regium*, *A. bisporus*, *Terfezia leonis* (Tul. & C. Tul.) Tul. & C. Tul., *T. boudieri*, *T. claveryi*, *T. olbiensis*, *Picoa lefebvrei*, *P. juniperi*, *Tirmania nivea* (Desf.) Trappe, *Boletus edulis* (Bull.), *Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat., *G. lucidum* (Curtis) P. Karst., *Flammulina velutipes* (Curtis) Singer, *Trametes versicolor* (L.) Lloyd vd.)) askokarp, basidiokarp ve misel yapılarından elde edilen değişik ekstraktların (su özütü, etanol, metanol, eter, ksilen, aseton, benzen, etil asetat, kloroform, sikloheksan, diklorometan), *P. aeruginosa*'ya karşı değişen oranlarda etki gösterdiği, fakat bazıları ise herhangi bir etki göstermediği belirlenmiştir (Janakat vd. 2005, Tambekar vd. 2006, Demirhan vd. 2007, Gbolagade vd. 2007, Bekçi vd. 2011, Gouzi vd. 2011, Aldebasi vd. 2013, Doğan ve Aydın 2013, Rai vd. 2013, Vamanu 2013, Padmavathy vd. 2014, Akyüz vd. 2015, Chowdhury vd. 2015, Dündar vd. 2015, Owaid vd. 2015, Smolskaite vd. 2015, Hamza vd. 2016, Sevindik vd. 2016, Nicolcioiu vd.

2017, Okafor vd. 2017). Çeşitli makrofungusların antimikrobiyal aktivitesi üzerine yapılan araştırmalarda elde edilen sonuçlara göre test mikroorganizmalara karşı değişik çözümlerden hazırlanan ekstraktların farklı etkiler oluşturacağı ifade edilmiştir. Kullanılan mantar ekstraktların, test mikroorganizmaları üzerindeki antimikrobiyal aktivitelerinin farklı olması, farklı çözümlerin kullanılması, denenen çözümlerin çözebildiği ve bu mikroorganizmalar üzerine etkili olabilen makrofungusların değişik karakterdeki bileşenlerinin farklı etkileşiminden kaynaklandığı ifade edilmiştir.

Terfezia boudieri, *Pleurotus ostreatus*, *P. eryngii*, *P. florida* ve *Picoa juniperi* misel kültürlerinden elde edilen ekstraktların, *E. coli* üzerine benzer etki gösterirken (10.0-12.0 mm çap), *Picoa lefebvrei* misel kültüründen elde edilen ekstraktlar ise değişkenlik (14.6 mm çap) göstermiştir (Tablo 1).

Terfezia boudieri, *T. claveryi*, *T. olbiensis*, *Picoa lefebvrei*, *P. juniperi*, *Agaricus bresadolanus* Bohus, *A. bisporus*, *Pleurotus djamor* (Rumph. ex Fr.) Boedijn, *P. flabellatus* Sacc., *P. ostreatus*, *P. cornucopiae*, *P. salmoneo-stramineus*, *P. eryngii*, *P. ferulae*, *P. sajor-caju*, *P. florida*, *P. tuber-regium*, *P. giganteus*, *Psathyrella atroumbonata* Pegler, *P. candolleana* (Fr.) Maire, *Schizophyllum commune* Fr., *Helvella leucomelaena* (Pers.) Nannf., *Amanita virosa* (Fr.) Bertill., *M. jodocodo*, *Termitomyces microcarpus* (Berk. & Broome) R. Heim, *T. robustus* (Beeli) R. Heim, *Armillaria mellea* (Vahl) P. Kumm., *A. tabescens* (Scop.) Emel., *Meripilus giganteus* (Pers.) P. Karst., *Morchella costata* (Vent.) Pers., *M. elata* (Fr.), *M. hortensis* (Boud.), *M. rotunda* (Pers.) Boud., *M. esculenta* (L.) Pers., *Paxillus involutus* (Batsch) Fr., *Auricularia auricula-judae* (Bull.) J. Schröt., *G. lucidum*, *G. applanatum*, *Rhizopogon roseolus* (Corda) Th. Fr., *Entoloma lividoalbum* (Kühner & Romagn.) Kubicka, *Russula aurea* Pers., *B. edulis*, *Tricholoma populinum* J.E. Lange, *Helvella queletii* Bres., *H. leucopus* Pers., *L. edodes*, *A. aegerita*, *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc., *C. militaris* (L.) Link, *Coprinus comatus* (O.F. Müll.) Pers., *Fomes fomentarius* (L.) Fr., *Fomitopsis pinicola* (Sw.) P. Karst, *Grifola frondosa* (Dicks.) Gray, *Hericium erinaceus* (Bull.) Pers., *Hypsizygus marmoreus* (Peck) H.E. Bigelow, *Inonotus obliquus* (Ach. ex Pers.) Pilát, *Phellinus igniarius* (L.) Quél., *Piptoporus betulinus* (Bull.) P. Karst., *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill, *Flammulina velutipes* (Curtis) Singer, *Trametes versicolor* (L.) Lloyd vb. gibi mantar türlerinden hazırlanan ekstraktların *E. coli*'ye karşı farklı oranlarda antimikrobiyal aktivite gösterdiği, bazıları ise herhangi bir etki göstermediği tespit edilmiştir (Tambekar vd. 2006, Demirhan vd. 2007, Gbolagade vd. 2007, Iwalokun vd.



Tablo 1. Değişik yenen makrofungus misel kültürlerin bazı bakteri, maya ve dermatofit türler üzerine antimikrobiyal etkileri (mm çap)

Misel Kültürleri	Bakteri						Maya		Dermatofit	
	<i>K. pneumonia</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>B. megaterium</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. typhi</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. albicans</i>	<i>Epidermophyton sp.</i>	<i>Trichophyton sp.</i>
<i>P. ostreatus</i>	9.7±0.6 ^{abc}	9.0±1.0 ^a	12.0±1.0 ^c	10.0±1.0 ^{ab}	10.0±1.0 ^a	9.0±1.0 ^a	11.7±0.6 ^{bc}	12.0±1.0 ^{bc}	8.3±0.6 ^a	9.0±1.0 ^{ab}
<i>P. sajor-caju</i>	10.7±1.5 ^c	8.3±0.6 ^a	9.0±1.0 ^{ab}	9.0±1.0 ^{ab}	14.0±1.0 ^c	12.0±1.0 ^{bc}	10.0±1.0 ^{ab}	9.0±1.0 ^a	10.0±1.0 ^{ab}	8.3±0.6 ^a
<i>P. eryngii</i>	8.3±0.6 ^{ab}	9.0±1.0 ^a	10.3±0.6 ^{abc}	11.0±1.0 ^{bc}	10.7±2.1 ^{ab}	10.7±1.2 ^{ab}	10.0±2.0 ^{ab}	10.7±0.6 ^b	10.0±0.0 ^{ab}	10.3±0.6 ^b
<i>P. florida</i>	9.7±0.6 ^{abc}	10.0±1.0 ^a	10.0±2.0 ^{abc}	8.0±2.0 ^a	11.3±3.0 ^{abc}	10.0±2.0 ^{ab}	8.0±2.0 ^a	8.3±0.6 ^a	9.0±1.0 ^a	8.3±0.6 ^a
<i>A. bisporus</i>	10.0±2.0 ^{bc}	16.0±2.0 ^b	8.0±0.0 ^a	10.0±2.0 ^{ab}	13.3±1.2 ^{bc}	10.0±2.0 ^{ab}	8.3±0.6 ^a	8.7±1.2 ^a	11.3±1.2 ^b	9.0±1.0 ^{ab}
<i>P. lefebvrei</i>	17.3±1.2 ^d	16.7±1.2 ^b	14.6±1.2 ^d	12.6±1.1 ^c	17.3±1.2 ^d	13.7±0.6 ^c	13.7±1.5 ^c	15.3±1.2 ^d	14.6±1.1 ^c	15.3±1.2 ^c
<i>P. juniperi</i>	11.3±1.2 ^c	8.3±0.6 ^a	10.7±1.2 ^{bc}	9.0±1.0 ^{ab}	10.0±1.0 ^a	10.3±1.5 ^{ab}	11.7±0.6 ^{bc}	12.3±0.6 ^c	9.7±1.5 ^{ab}	8.3±0.6 ^a
<i>T. boudieri</i>	7.7±0.6 ^a	10.0±1.0 ^a	10.0±2.0 ^{abc}	8.7±1.2 ^{ab}	11.3±1.2 ^{abc}	10.0±1.0 ^{ab}	8.0±0.0 ^a	8.3±0.6 ^a	9.3±1.5 ^{ab}	9.0±1.7 ^{ab}
Kontrol Antibiyotiği	16.0^{oo}	17.00^{oo}	13.0^{oo}	17.0^{oo}	17.0^{oo}	14.0^{oo}	14.0^o	18.0^o	-	-

Her bir değer üç tekrarın ortalaması ± standart sapma olarak gösterilmiştir (n=3, P<0.05)

Her bir sütunda aynı harflerle gösterilen değerler birbirinden farklı değildir (a, b, c, d)

^o : Nystatin (30 µg)

^{oo} : Streptomisin sülfat (10 µg)



2007, Akyüz vd. 2010, Kalyoncu vd. 2010ab, Nwachukwu ve Uzoeto 2010, Bekçi vd. 2011, Aldebasi vd. 2013, Doğan ve Aydın 2013, Rai vd. 2013, Thillaimaharani vd. 2013, Vamanu 2013, Akyüz vd. 2015, Chowdhury vd. 2015, Dündar vd. 2015, Owaid vd. 2015, Hamza vd. 2016, Krupodorava vd. 2016, Sevindik vd. 2016, Nicolcioiu vd. 2017, Okafor vd. 2017). Genel olarak çalışmalarda kullanılan standart antibiyotikler ile karşılaştırıldığında, kullanılan mantar ekstraksiyonların inhibisyon etkilerinin düşük olduğu ifade edilmiştir. Çalışmalarda belirtildiği gibi çeşitli makrofungusların, farklı test mikroorganizmalarına karşı değişik çözümlerden hazırlanan ekstraktların, kullanılan mantar türüne, çözüme, test organizmalarına ve uygulanan yöntemle ilgili olarak farklı etkiler oluşturabileceği, bu yönüyle Tablo 1'de elde edilen sonuçların bu araştırmacıların verilerini desteklemektedir.

B. megaterium üzerine, en düşük etkiyi *P. florida* (8.0 mm çap), en yüksek etkiyi 12.6 mm çap ile *P. lefebvrei* ekstraktlarında gösterdiği belirlenmiştir (Tablo 1). Bazı mantar türlerinin (*Terfezia boudieri*, *T. claveryi*, *T. olbiensis*, *Picoa lefebvrei*, *P. juniperi*, *Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus*, *P. djamor*, *P. sajor-caju*, *P. eryngii*, *P. ferulae*, *P. florida*, *P. tuber-regium*, *P. pulmonarius*, *P. populinus*, *Armillaria mellea*, *Fomes fomentarius*, *Lentinus edodes*, *Flammulina velutipes*, *Trametes versicolor*, *Boletus edulis*, *Schizophyllum commune*, *Genoderma* spp., *Morchella* spp. vb.), *Bacillus* spp.'ye (*B. cereus*, *B. subtilis*, *B. megaterium*, *B. licheniformis*) karşı düşük düzeyde antimikrobiyal etki gösterdiği belirlenmiştir (Chellal ve Lukasova 1995, Uzun vd. 2004, Gbolagade vd. 2007, Iwalokun vd. 2007, Akyüz vd. 2010, Kalyoncu vd. 2010ab, Nwachukwu ve Uzoeto 2010, Bekçi vd. 2011, Doğan ve Aydın 2013, Rai vd. 2013, Vamanu 2013, Akyüz vd. 2015, Chowdhury vd. 2015, Dündar vd. 2015, Smolskaite vd. 2015, Hamza vd. 2016, Krupodorava vd. 2016, Nicolcioiu vd. 2017, Okafor vd. 2017). Benzer çalışmalarda, değişik çözümlerle hazırlanan mantar ekstraktlarının test mikroorganizmalarına karşı farklı düzeylerde etki oluşturabileceği, bazılarının ise herhangi bir etki gösteremediği ifade edilmiştir. Değişik türlerin biyoaktif maddeler meydana getirme yeteneklerini karşılaştırmak için yapılan çalışmalarda, *Bacillus* türlerine karşı değişik düzeyde antibakteriyel etki gösterebileceği, fakat etkilerin değiştiği bunun temel nedeninin ise türlerdeki değişik bioaktif moleküllere ve çözümlere bağlı olduğu ifade edilmiştir.

Tablo 1'de görüldüğü gibi *Pleurotus florida* ve *Terfezia boudieri* misellerinden elde edilen ekstraktların, *S. aureus*'un gelişimini engelleyici etkisi, *Picoa lefebvrei* mantarı dışında (17.3 mm çap), diğer mantar türlerinin tamamı ile benzerlik gösterdiği saptanmıştır. *Terfezia*,

Tirmania, *Picoa*, *Pleurotus*, *Agaricus*, *Morchella*, *Lentinus*, *Armillaria*, *Schizophyllum*, *Boletus*, *Genoderma* ve diğer mantar türlerinin fruktifikasyon organı ve misel kısımlarından elde edilen ekstraktların, farklı düzeylerde antibakteriyel etki gösterdikleri, fakat genellikle çalışılan türlerin çoğunun zayıf etkiye sahip oldukları belirtilmiştir (Chellal ve Lukasova 1995, Uzun vd. 2004, Tambekar vd. 2006, Demirhan vd. 2007, Gbolagade vd. 2007, Iwalokun vd. 2007, Akyüz vd. 2010, Kalyoncu vd. 2010ab, Bekçi vd. 2011, Gouzi vd. 2011, Aldebasi vd. 2013, Doğan ve Aydın 2013, Rai vd. 2013, Thillaimaharani vd. 2013, Vamanu 2013, Padmavathy vd. 2014, Akyüz vd. 2015, Chowdhury vd. 2015, Dündar vd. 2015, Owaid vd. 2015, Hamza vd. 2016, Krupodorava vd. 2016, Sevindik vd. 2016, Nicolcioiu vd. 2017). Makrofungusların antibakteriyel aktiviteleri; kullanılan test yöntemine, mikroorganizma türüne, kimyasal çözümler gibi etkenlere bağlı olarak değişebileceği vurgulanmıştır.

P. lefebvrei mantar türünden elde edilen ekstraktın, *S. typhi* bakterisi üzerine etkisi bakımından (13.7 mm çap), *P. sajor-caju* mantar türü ile benzer olduğu (12.0 mm çap), fakat diğer mantar türlerinden ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gösterdiği Tablo 1'de gözlenmiştir. Bazı makrofungus türlerinin (*Terfezia boudieri*, *T. claveryi*, *T. olbiensis*, *Picoa lefebvrei*, *P. juniperi*, *Agaricus bisporus*, *Pleurotus djamor*, *P. sajor-caju*, *P. eryngii*, *P. ostreatus*, *Armillaria mellea*, *Genoderma lucidum*, *Lentinus edodes*, *Fomes fomentarius*, *Morchella esculenta* vd.) fruktifikasyon organı ve misel kısımlarından sağlanan ekstraksiyonların *Salmonella* türlerinin (*S. typhi*, *S. typhimurium*, *S. enteritidis*) gelişimini düşük düzeyde engellediği saptanmıştır (Tambekar vd. 2006, Kalyoncu vd. 2010ab, Bekçi vd. 2011, Doğan ve Aydın 2013, Akyüz vd. 2015, Chowdhury vd. 2015, Hamza vd. 2016). Araştırmalarda; değişik çözümlerle hazırlanan mantar ekstraktlarının test mikroorganizmalara karşı farklı etki oluşturabileceği ifade edilmiştir.

P. lefebvrei ekstraktının, *C. glabrata* üzerine etkisi bakımından (13.7 mm), *P. ostreatus* ve *P. juniperi* (11.7 mm) mantar türleri ile benzerlik gösterdiği, fakat diğer mantar türlerinden ise istatistiksel olarak farklılık göstermektedir. Tablo 1'de görüldüğü gibi *C. albicans* gelişimi üzerine *P. juniperi*'nin (12.3 mm), *P. ostreatus* mantarı (12.0 mm) ile benzer etkiye sahip olduğu, *P. lefebvrei* mantar türünün ise (15.3 mm) tüm mantar türlerinden istatistiksel olarak farklı bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, *P. lefebvrei* mantar misel ekstraktının (14.6 ve 15.3 mm), *Epidermophyton* sp. ve *Trichophyton* sp. gelişimi üzerine en yüksek etkiye sahip olduğu ve diğer mantar türlerinin tamamından istatistiksel olarak farklılık gösterdiği belirlenmiştir (Tablo 1).



Dünyanın değişik yerlerinde doğal olarak yetişen, kültürü yapılan ve ticari olarak satışı yapılan bazı mantar türlerinin (*Pleurotus ostreatus*, *P. djamor*, *P. sajor-caju*, *P. eryngii*, *P. ferulae*, *P. florida*, *P. tuber-regium*, *A. bisporus*, *Terfezia boudieri*, *T. claveryi*, *T. olbiensis*, *Picoa lefebvrei*, *P. juniperi*, *Armillaria mellea*, *Morchella* spp., *Fomes fomentarius*, *Genoderma lucidum*, *Lentinus edodes* ve diğer türler), *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *Trichophyton rubrum*, *Epidermophyton* sp., *E. floccosum*, *Microsporium gypseum* gibi maya ve fungus türlerine karşı değişen oranlarda antikandidal ve antifungal etki gösterdiği belirlenmiştir (Gbolagade vd. 2007, Iwalokun vd. 2007, Akyüz vd. 2010, Kalyoncu vd. 2010ab, Nwachukwu ve Uzoeto 2010, Bekçi vd. 2011, Rai vd. 2013, Thillaimaharani vd. 2013, Doğan ve Aydın 2013, Vamanu 2013, Padmavathy vd. 2014, Akyüz vd. 2015, Chowdhury vd. 2015, Owaid vd. 2015, Smolskaite vd. 2015, Sevindik

vd. 2016, Nicolcioiu vd. 2017). Makrofungusların antifungal aktiviteleri; kullanılan test yöntemi, mikroorganizma türlerine ve kullanılan kimyasal maddelere bağlı olarak değişebileceği vurgulanmıştır. Bu bakımdan elde ettiğimiz sonuçlar literatürlerle uyum içindedir.

Sonuç olarak, *Picoa lefebvrei* misel kültürü; bazı bakteri, maya ve dermatofit türlerin gelişimi üzerine olan etkisi bakımından, çalışmada kullanılan diğer mantar misel kültürlerine (*Terfezia boudieri*, *Picoa juniperi*, *Pleurotus ostreatus*, *P. florida*, *P. sajor-caju*, *P. eryngii*, *Agaricus bisporus*) göre daha etkili olduğu saptanmıştır. Genel olarak çalışmada kullanılan standart antibiyotikler ile karşılaştırıldığında; kullanılan tüm mantar misel ekstraktlarının inhibisyon etkileri düşük bulunmuştur. Değişik çalışmalar ile desteklenerek, mantar misellerin bioaktif bileşenleri tespit edilmesi koşuluyla; farklı çözümler, test mikroorganizmaları ve metodlar kullanılarak daha ayrıntılı çalışmaların sürdürülmesi gerekmektedir

KAYNAKLAR

- Akyüz M., Kırbağ S., Bircan B., *Medical characteristics of arid-semi arid Truffle (Terfezia and Picoa) in the Elazığ-Malatya region of Turkey*, Hacettepe J Biol Chem, 43, 301-308 (2015).
- Akyüz M., Onganer A.N., Erecevit. P., Kırbağ. S., *Antimicrobial activity of some edible mushrooms in the Eastern and Southeast Anatolia region of Turkey*, Gazi Univ J Sci, 23, 125-130 (2010).
- Aldebasi Y.H., Aly S.M., Qureshi M.A., Khadri H., *Novel antibacterial activity of Terfezia claveryi aqueous extract against clinical isolates of corneal ulcers*, Afr J Biotechnol, 12, 6340-6346 (2013).
- Al-Laith A.A.A., *Nutritional and antioxidant properties of the White Desert Truffle Tirmania nivea (Zubaidi)*. In: Desert Truffles (Ed: Kagan-Zur V, Roth-Bejerano N, Sitrit Y, Morte A). Springer Berlin Heidelberg, (2014).
- Barros L., Cruz T., Baptista P., Estevinho L.M., Ferreira I.C.F.R., *Wild and commercial mushrooms as source of nutrients and nutraceuticals*, Food Chem Toxicol, 46, 2742-2747 (2008).
- Bekçi H., Altınsoy B., Sarıkaya S., Onbaşlı D., Çelik Yuvalı G., *Kastamonu yöresinden toplanan bazı makrofungusların antimikrobiyal aktivitesi*, Kastamonu Üniv Orman Fak Derg, 11,187-190 (2011).
- Chellal A., Lukasova E., *Evidence for antibiotics in the two Algerien truffles Terfezia and Tirmania*, Pharmazie, 50, 228-229 (1995).
- Chang S.T., Wasser S.P., *The Role of culinary-medicinal mushrooms on human welfare with a pyramid model for human health*, Inter J Med Mushrooms, 14, 95-134 (2012).
- Chatterjee B., Patel T., *Edible mushroom a nutritious food Improving human health*, Int J Clin Biomed Res, 2, 34-37 (2016).
- Chowdhury M.M.H., Kübra K., Ahmed S.R., *Screening of antimicrobial, antioxidant properties and bioactive compounds of some edible mushrooms cultivated in Bangladesh*, Ann Clin Microbiol Antimicrob, 14, 1-6 (2015).
- Collins C.H., Lyne P.M., *Mikrobiyolojik Methods Butter Morths and Co (Publishers) Ltd. London (1987)*.
- Demirhan A., Yeşil Ö.F., Yıldız A., Gül K., *Bazı makrofungus türlerinin antimikrobiyal aktiviteleri üzerine bir araştırma*, Fırat Üniv Fen ve Müh Bil Derg, 19, 425-433 (2007).
- Diez V.A., Alvarez A., *Compositional and nutritional studies on two wild edible mushrooms from Northwest Spain*, Food Chem, 75, 417-422 (2001).
- Doğan H.H., Aydın S., *Determination of antimicrobial effect, antioxidant activity and phenolic contents of desert truffle in Turkey*, Afr J Tradit Complement Altern Med, 10, 52-58 (2013).
- Dündar A., Okumuş V., Ozdemir S., Çelik K.S., Boğa M., Özcağlı E., Gül O., Yıldız A., *Antioxidant, antimicrobial, cytotoxic and anticholinesterase activities of seven mushroom species with their phenolic acid composition*, J Horticulture, 2, 1-6 (2015).
- Gbolagade J., Kigigha L., Ohimain E., *Antagonistic effect of extracts of some Nigerian higher fungi against selected pathogenic microorganism*, American-Eurasian J Agric Envir Sci, 2, 364-368 (2007).
- Gouzi H., Belyagoubi L., Abdelali K.N., Khelifi A., *In vitro antibacterial activities of aqueous extracts from Algerian desert truffles (Terfezia and Tirmania, Ascomycetes) against Pseudomonas aeruginosa and Staphylococcus aureus*, Int J Med Mushrooms, 13, 553-558 (2011).



- Hamza A., Zouari N., Zouari S., Jdir H., Zaidi S., Gtari M., Neffati M., *Nutraceutical potential, antioxidant and antibacterial activities of Terfezia boudieri Chatin, a wild edible desert truffle from Tunisia arid zone*, Arabian J Chem, 9, 383-389 (2016).
- Iwalokun B.A., Usen U.A., Otunba A.A., Olukaya D.K., *Comparative phytochemical evaluation, antimicrobial and antioxidant properties of Pleurotus ostreatus*, Afr J Biotechnol, 6, 1732-1739 (2007).
- Janakat S.M., Al-Fakhiri S.M., Sallal A.K.J., *Evaluation of antibacterial activity of aqueous and methanolic extracts of the truffle Terfezia claveryi against Pseudomonas aeruginosa*, Saudi Med J, 26, 952-955 (2005).
- Kalyoncu F., Oskay M., Kalmış E., *Bazı yabancı makrofungus misellerinin antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi*, Mantar Derg, 1, 1-8 (2010a).
- Kalyoncu F., Oskay M., Sağlam H., Erdoğan T.F., Tamer A.Ü., *Antimicrobial and antioxidant activities of mycelia of 10 wild mushroom species*, J Med Food, 13, 415-419 (2010b).
- Krupodorava T.A., Barshteyn V.Y., Zabeida E.F., Pokas E.V., *Antibacterial activity of macromycetes mycelia and culture liquid*, Microbial Biotechnol Lett, 44, 246-253 (2016).
- Lincoff H.G.L., *The Audubon Society Field Guide to North American Mushrooms*. Chanticleer Press. New York (1988).
- Manzi P., Pizzoferrato L., *Beta glucans in edible mushrooms*, Food Chem, 68, 315-318 (2000).
- Manzi P., Aguzzi A., Pizzoferrato L., *Nutritional value of mushrooms widely consumed in Italy*, Food Chem, 73, 321-325 (2001).
- Manzi P., Gambelli L., Marconi S., Vivanti V., Pizzoferrato L., *Nutrients in edible mushrooms: An inter-species comparative study*, Food Chem, 65, 477-482 (1999).
- Mattila P., Suonpaa K., Piironen V., *Functional properties of edible mushrooms*, Nutrition, 16, 694-696 (2000).
- Nicolcioiu M.B., Popa G., Matei F., *Antimicrobial activity of ethanolic extracts made of mushroom mycelia developed in submerged culture*, Scientific Bulletin Series F. Biotechnologies, 21, 159-164 (2017).
- Nwachukwu E., Uzoeto H.O., *Antimicrobial activity of some local mushrooms on pathogenic isolates*, J Med Plant Res, 4, 2460-2465 (2010).
- Okafor D.C., Onuegbu N.C., Odimegwu N.E., Ibeabuchi J.C., Njoku N.E., Agunwa I.M., Ofoedu C.E., Njoku C.C., *Antioxidant and antimicrobial activities of oyster mushroom*, Amer J Food Sci Tech, 5, 64-69 (2017).
- Owaid M.N., Al-Saeedi S.S.S., Al-Assaffii I.A.A., *Antimicrobial activity of mycelia of oyster mushroom Species (Pleurotus spp.) and liquid filtrates (in vitro)*, J Med Bioeng, 4, 376-380 (2015).
- Padmavathy M., Sumathy R., Manikandan N., Kumuthakalavalli R., *Antimicrobial activity of mushrooms against skin infection causing pathogens*, Res Biotechnol, 5, 22-26 (2014).
- Patel P., Patel D., Patel N., *Experimental investigation of anti-rheumatoid activity of Pleurotus sajor-caju in adjuvant-induced arthritic rats*, Chin J Nat Med, 104, 269-274 (2012).
- Patel S., *Food, health and agricultural importance of truffles: A review of current scientific literature*, Curr Trends Biotechnol Pharm, 6, 15-27 (2012).
- Rai M., Sen S., Acharya K., *Antimicrobial activity of four wild edible mushrooms from Darjeeling hills, West Bengal, India*, Int J Pharm Tech Res, 5, 949-956 (2013).
- Rathore H., Prasad S., Sharma S., *Mushroom nutraceuticals for improved nutrition and better human health: A review*, Pharma Nutr, 5, 35-46 (2017).
- Reis F.S., Martins A., Vasconcelos M.H., Morales P., Ferreira I.C.F.R., *Functional foods based on extracts or compounds derived from mushrooms*, Trends Food Sci Tech, 66: 48-62 (2017).
- Sanmee R., Dell B., Lumyong P., Izumori K., Lumyong S., *Nutritive value of popular wild edible mushrooms from Northern Thailand*, Food Chem, 82, 527-532 (2003).
- Sevindik M., Akgül H., Günel S., Doğan M., *Pleurotus ostreatus'un doğal ve kültür formlarının antimikrobiyal aktiviteleri ve mineral madde içeriklerinin belirlenmesi*, Kastamonu Univ Orman Fak Derg, 16, 153-156 (2016).
- Smolskaite L., Venskutonis P.R., Talou T., *Comprehensive evaluation of antioxidant and antimicrobial properties of different mushroom species*, LWT-Food Sci Tech, 60, 462-471 (2015).
- Souilem F., Fernandes A., Calhelha R.C., Barreira J.C.M., Barros L., Skhiri F., Martins A., Isabel C.F.R., Ferreira I.C.F.R., *Wild mushrooms and their mycelia as sources of bioactive compounds: Antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxic properties*, Food Chem, 230, 40-48 (2017).
- Srikram A., Supapvanich S., *Proximate compositions and bioactive compounds of edible wild and cultivated mushrooms from Northeast Thailand*, Agr Nat Resour, 50, 432-436 (2016).
- Sulistiany H., Sudirman L.I., Dharmaputra O.S., *Production of fruiting body and antioxidant activity of wild Pleurotus*, Hayati J Biosci, 23, 191-195 (2016).
- Synytsya A., Mickova K., Synytsya A., Jablonsky I., Spevacek J., Erban V., Kovarikova E., Copikova J., *Glucans from fruit bodies of cultivated mushrooms Pleurotus ostreatus and Pleurotus eryngii structure and potential prebiotic activity*, Carbohydr Polym, 76, 548-556 (2009).
- Tambekar D.H., Sonar T.P., Khodke M.V., Khante B.S., *The novel antibacterials from two edible mushrooms: Agaricus bisporus and Pleurotus sajor-caju*, Int J Pharmacol, 2, 584-687 (2006).
- Thillaimaharani K.A., Sharmila K., Thangaraju P., Karthick M., Kalaiselvam M., *Studies on antimicrobial and antioxidant properties of oyster mushroom Pleurotus florida*, Int J Pharmaceut Sci Res, 4, 1540-1545 (2013).



- Uzun Y., Atalan E., Keles A., Demirel K., *Pleurotus eryngii* (DC. ex Fr.) Quel. ve *Agrocybe cylindracea* (DC. Fr.) Maire makrofunguslarının antimikrobiyal aktivitesi, Mimar Sinan Güzel Sanatlar Üniv Fen Edb Fak Derg, 4, 125-133 (2004).
- Vamanu E., *Studies on the antioxidant and antimicrobial activities of Pleurotus ostreatus PS1101109 mycelium*, Pak J Bot, 45: 311-317 (2013).
- Vannucci L., Krizan J., Sima P., Stakheev D., Caja F., Rajsiglova L., Horak V., Saieh M., *Immunostimulatory properties and antitumor activities of glucans*, Int J Oncol, 43, 357-364 (2013).
- Wang S., Marcone M.F., *The biochemistry and biological properties of the world's most expensive underground edible mushroom: Truffles*, Food Res Int, 44, 2567-2581 (2011).
- Wang X.M., Zhang J., Wu L.H., Zhao Y.L., Li T., Li J.Q., Wang Y.Z., Liu H.G., *A mini-review of chemical composition and nutritional value of edible wild-grown mushroom from China*, Food Chem, 151, 279-285 (2014).
- Wasser S.P., *Medicinal mushroom science: current perspectives, advances, evidences and challenges*, Biomed J, 37, 345-356 (2014).
- Wasser S.P., *Medicinal mushrooms in human clinical studies. Part I. Anticancer, oncoimmunological, and immunomodulatory activities: A Review*, Inter J Med Mushrooms, 19, 279-317 (2017).
- Wasser S.P., *Medicinal mushroom science: history, current status, future trends, and unsolved problems*, Inter J Med Mushrooms, 12, 1-16 (2010).
- Zadrazil F., *Cultivation of Pleurotus*, In: *The biology and cultivation of edible mushrooms* (Eds: Chang ST, Hayes WA), Academic Press, New York, USA (1978).



Geliş(Received) :10/09/2018
Kabul(Accepted) :29/09/2018

Araştırma Makalesi
Doi:10.30708/mantar.458800

Modifiye Atmosfer Ve Metil Jasmonat Uygulamalarının *Agaricus bisporus*'un Hasat Sonrası Kalite Ve Muhafaza Ömrüne Etkileri

Şeyda ÇAVUŞOĞLU^{1*}

sorumlu yazar: scavusoglu@yyu.edu.tr

¹Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, Van

Öz:Bu araştırmada, *Agaricus bisporus* yemeklik mantar türünde muhafaza öncesi yapılan farklı modifiye atmosfer paketlenme (MAP) ve metil jasmonat (MeJA) uygulamalarının hasat sonrası kalite ve muhafaza ömrüne etkileri çalışılmıştır. Araştırmada kullanılacak olan mantarlar Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Mantar Araştırmaları Uygulama ve Araştırma Merkezi bünyesinde bulunan mantarhaneden temin edilmiştir. 1 gün ön soğutma uygulaması yapılan aynı olgunluğa sahip mantarlar 3 ayrı gruba ayrılmış, birinci grup örnekler kontrol grubu olarak sadece saf suya daldırılmıştır. İkinci grup örnekler 0.5 mM, üçüncü grup örnekler ise 1 mM dozundaki MeJA çözeltisine 2 dakika süreyle daldırılmıştır. Daha sonra mantarlar köpük tabak içerisinde alınıp MAP ve streç film ile kaplanarak 4°C sıcaklık ve %90-95 oransal nem içeren soğuk hava deposunda 20 gün süre ile muhafaza edilmiştir. Üç tekerrürlü olarak hazırlanan mantar örneklerinin başlangıç ile birlikte her 5 günde bir, 20 gün boyunca analizleri yapılmıştır. Araştırma sonucunda *A. bisporus* mantarının 4°C'de 20 gün boyunca başarılı bir şekilde depolanabildiği tespit edilmiştir. Çalışmada incelenen kalite kriterlerinden ağırlık kaybı ve ambalaj içi gaz bileşenlerinden oksijen ve karbondioksit miktarı bakımından MAP uygulaması öne çıkarken; TEA, L*, kroma, hue, solumun ve etilen açısından ise streç film uygulaması daha başarılı bulunmuştur. MeJA uygulamalarının *A. bisporus* mantar türü üzerinde belirgin bir etkisi saptanamamıştır.

Anahtar kelimeler: Mantar, hasat sonrası uygulamaları, kalite ve fizikokimyasal özellikler

Effects Of Modified Atmosphere And Methyl Jasmonate Treatments On The Postharvest Quality And Storage Life Of *Agaricus bisporus*

Abstract: In this study, the effects of different modified atmosphere packing (MAP) and methyl Jasmonate (MeJA) applications on the postharvest quality and shelf life of *Agaricus bisporus*. Mushrooms produced in the mushroom house of Van Yuzuncu Yil University, Mushroom Research Application and Research Center was used as the research material. The mushroom of the same size, which had been pre-cooled for 1 day, were separated into 3 separate groups and the first group samples were only immersed in pure water for 2 minutes as a control group. The second group of mushroom samples was immersed in 0.5 µM of MeJA solution for 2 minutes and the third group was immersed in 1 µM of MeJA solution for 2 minutes. The mushrooms were then placed in a foam dish and covered with LifePack MAP (MAP) and stretch film and then stored in a cold air storage at 4 C° and 90-95% relative humidity. Mushroom samples prepared in tree replicates were analyzed for 20 days at 5 day intervals with the beginning. At the end of the research, it was determined that *A. bisporus* could be successfully stored at 4 ° C for 20 days. For the parameters studied in the experiment, MAP comes forward for the weight loss from and the amount of oxygen and carbon dioxide from the in-pack gas components, while stretch film comes forward for TA, L*, croma, hue, respiration and ethylene. No significant effect of MeJA on mushroom was detected.

Key words: Mushroom, Postharvest applications, quality and physicochemical properties



Giriş

Dünyada on binlerce çeşidi bulunan mantarlar, besin değeri yüksek tarımsal ürünlerdir. Özellikle protein ve demir açısından çok zengin olmalarının yanı sıra A, B, D, P ve K vitaminleri ile kalsiyum, potasyum, fosfor ve bakır minerallerine de sahiptirler. Mantarlar bilinen en iyi bitkisel protein kaynakları olup hayvansal ürünlere iyi bir alternatifler (Pamir, 1985). Ancak mantarlar hasat sonrası ömrü oldukça kısa olan canlılardır. Çünkü hızlı solunum oranına ve yüksek su içeriğine sahip olmalarının yanı sıra onları fiziksel ve mikrobiyolojik saldırılardan ve su kaybından koruyacak bir kutikula tabakasına da sahip değildirler (Brennan ve ark., 2000). Bu nedenle mantarların muhafaza sürelerini birkaç gün bile arttırabilecek çalışmalar çok büyük öneme sahiptir.

Son yıllarda tarımsal ürünlerde hasat sonrası ömrün uzatılması ve ürün kalitesinin korunmasında doğal bileşiklerin kullanımına olan ilgi artmaktadır. Birçok gıda ürününde kalitenin korunmasında etkili olduğu belirlenen jasmonik asitler (JA) bitki bünyesindeki linoleik asitten elde edilen kloroplastlarda bulunan lipoksijenaz (LOX3) enziminin etkisiyle aktif hale geçen bileşiklerdir (Vick ve Zimmerman, 1984). Jasmonik asitler, bitki bünyesinde biyotik ve abiyotik stres koşullarına karşı aktif hale geçmekte, proteinaz enzimi sentezini teşvik ederek bitki bünyesindeki flavanoidler, alkaloidler, polipeptidler ve terpenoidler ile fitoaleksinin oluşumunu uyarmaktadırlar (Gundlach ve ark., 1992; Mueller ve ark., 1993). Metil jasmonat (MeJA) ise JA'nin metil esteri olup, bitki bünyesinde aromatik bileşenleri ve antosiyaninleri arttırmada, klorofil parçalanmasını sağlamada, kararma ve üşüme zararını azaltmada, fungal gelişimi engellemede ve patojene karşı bitki direncini arttırmada etkili olduğu belirlenmiştir (Meir ve ark. 1996; Pérez ve ark., 1997; Zhu ve Tian, 2012). MeJA'nın, avokado, altıntop ve dolmalık biberde depolama sırasındaki üşüme zararına karşı etkinliği belirlenmiştir (Meir ve ark., 1996). Turplarda köklenme ve filizlenmeyi engellemenin yanında ağırlık kaybını da azalttığı saptanmıştır (Wang, 1998). Mango ve papaya meyvelerinde MeJA uygulamalarının, solunum hızı, ağırlık kaybı, renk kaybı, SÇKM miktarı ve üşüme zararını azalttığı, toplam organik asit ve şeker miktarını etkilemediği bildirilmiştir (González-Aguilar ve ark., 2001; 2003). MeJA uygulanmış (220 µL/L) domates meyvelerinin 10°C sıcaklıkta muhafaza edilmeleri sonucunda L* (parlaklık), renk değerleri (a* ve b*) ve sertliklerinin daha iyi korunduğu saptanmıştır (Baltazar ve ark., 2007).

Modifiye atmosfer paketleme (MAP), tüketicilerin güvenli, katkısız ve besin değeri yüksek ürünler için artan talebini karşılayan bir ürün muhafaza ve ambalajlama yöntemidir. MAP'de uygun atmosfer bileşimi, ambalaj malzemesi ve depolama koşullarının seçimi ile ürünlerin kalitesi daha uzun süre korunabilmekte ve raf ömrü uzatılabilmektedir (Labuza ve Breene, 1989; Farber ve ark., 2003). MAP ile ürünü çevreleyen hava bileşimi değiştirilerek özellikle, ortam oksijeni azaltılmakta ve buna

bağlı solunum, enzimatik ve oksidatif bozulma tepkimeleri yavaşlatılmakta, mikrobiyolojik bozulmalar geciktirilerek ürün güvenliği ve kalitesi sağlanmaktadır. Böylece, ürünlerin raf ömrü artırılmış olmaktadır (Farber ve ark., 2003; Murcia ve ark., 2009; Niemira ve Fan, 2014). Mantarlar MAP kullanılarak paketlenildiğinde kalitelerini muhafaza ettirmişlerdir (Henze, 1989; Burton ve Maher, 1991; Briones ve ark., 1992; Saray ve ark., 1994; Roy ve ark., 1995; Tano ve ark., 1999).

Bu çalışmada, MeJA'nın farklı dozlarının tek başına, MAP ve streç film ile birlikte kullanımının hasat sonrası kalite ve muhafaza ömrüne etkileri araştırılmıştır. Ayrıca ürüne ait fizyolojik ve biyokimyasal değişiklikler incelenerek kalitenin korunması açısından en iyi uygulama belirlenmeye çalışılmıştır.

Materyal ve Yöntem

Materyal

Çalışmada araştırma materyali olarak Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Mantar Araştırmaları Uygulama ve Araştırma Merkezi bünyesinde bulunan mantarhanede üretilen *Agaricus bisporus* (J.E. Lange) Imbach türüne ait örnekler kullanılmıştır.

Mantar örnekleri öncelikle 1 gün ön soğutmaya tabi tutulmuştur. Daha sonra aynı olgunluğa sahip mantarlar 3 ayrı gruba ayrılmıştır. Birinci grup örnekler kontrol olarak saf suya daldırılmıştır. İkinci grup meyveler 0.5 mM oranında ayarlanan metil jasmonat çözeltisine 2 dakika süreyle daldırılmıştır. Üçüncü grup meyvelere ise 1 mM oranında ayarlanan metil jasmonat çözeltisine 2 dakika süreyle (Yao ve Tian, 2005) daldırılmıştır. Daha sonra mantarlar köpük tabak içerisinde alınıp LifePack MAP ve streç film ile kaplanarak 4°C sıcaklık ve %90-95 oransal nem içeren soğuk hava deposunda muhafaza edilmiştir. Başlangıçta ve 5'şer günlük aralıklarla 20 gün boyunca analizleri yapılmıştır.

Yöntem

Ağırlık kaybı

Muhafaza süresince ağırlık kayıplarını belirlemek için ayrılan örneklerde ağırlık ölçümleri, hasadı ve hasadı izleyen 5'şer günlük analiz dönemlerinde hassas terazi yardımıyla ölçülmüş ve ağırlık kayıpları başlangıca göre % olarak hesaplanmıştır.

pH, Titre Edilebilir Asitlik, Suda Çözünür Kuru Madde (SÇKM) ve Renk

Mantar örneklerinde pH ve SÇKM, Eissa (2007) ile Jafri ve ark., (2013) ait yöntemler modifiye edilerek belirlenmiştir. 10 dakikada 10000 devirde santrifüje tabi tutulan mantarlardan elde edilen suyunun direk pH metrede okunması ile pH, dijital refraktometre (ATAGO Pocket PAL-1 Japonya) ile okunması ile SÇKM (Brix) miktarı belirlenmiştir. Mantarlarda meydana gelen renk değişimleri 10 adet mantarda Minolta CR-400 marka renk ölçer kullanılarak CIE L*,kroma ve Hue (h°) açığı değerleri şeklinde belirlenmiştir.



Ambalaj içi O₂ ve CO₂ Bileşimi

Ambalaj içerisindeki CO₂ ve O₂ gaz oranları her dönemde depodan çıkarılan paketlerde oda koşullarında Headspace Gas Analyser GS3/L cihazı ile belirlenmiştir (Cliffe-Byrnes ve ark., 2003).

Solunum Hızı ve Dışsal Etilen

Kavanozlar içindeki mantarların ortama verdikleri CO₂ miktarı 1 saatlik bir bekleme süresinin sonunda Headspace Gas Analyser GS3/L ile okunmuştur. Mantarların solunum hızı değerleri ağırlık ve hacim değerlerinin kullanımı ile hesaplanmıştır. Mantar örnekleri 1 litrelik solunum kavanozlarına yerleştirildikten ve ağızları kapatıldıktan 30 dakika sonra gaz örnekleri gastight şırınga ile gaz kromatografisi cihazına (Shimadzu GC- MS QP 2010 Plus) enjekte edilmiş (Kader, 1992) ve kromatogramlar elde edilmiştir. Dışsal etilen miktarı ölçümlerinde 50 m uzunluğunda ve 10 mikron partikül çapına aktive edilmiş alüminyum oksitli kapillar kolon kullanılmış ve FID (flame ionization detector) dedektörü kullanılmıştır. Enjeksiyon sırasında dedektör sıcaklığı 120°C, kolon ve enjeksiyon sıcaklığı 100°C'ye ayarlanmıştır (Gussmann ve ark., 1993; Bauchot ve ark., 1995; Tian ve ark., 1997). Daha sonra dışsal etilen standart yardımı ile ml (C₂H₄)/kg h olarak hesaplanmıştır.

İstatistik Analiz

Üzerinde durulan özellikler için tanımlayıcı istatistikler; ortalama ve standart hata olarak ifade edilmiştir. Bu özellikler bakımından; depolama süresi, uygulamalar ve çeşitler arasında fark olup olmadığını belirlemek amacıyla; Faktöriyel (3 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 ve Tartışma

Ağırlık Kaybı

MeJA ve MAP uygulamalarının ağırlık kaybına etkisi Tablo 1'de verilmiştir. Yapılan çalışmada ağırlık kaybında meydana gelen değişimler incelendiğinde; MAP ve streç film kullanımı sırasında önemli farklılıkların olduğu belirlenmiştir. Streç film ambalajda depolamanın başlangıcından depolama sonuna kadar düzenli bir artışın olduğu tespit edilirken, MAP ambalajında ise depolamanın 10. gününe kadar ağırlık kaybında değişimin olmadığı bu tarihten itibaren depolama sonuna kadar az miktarda artışın olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle en yüksek ağırlık kaybının 20. günde %4.2133 ile 1mM MeJA uygulaması yapılan streç film uygulamasında olduğu tespit edilmiştir. Bu değer bile muhafaza açısından eşik değer olan %5'in altında seyretmiştir (Tablo 1; Şekil 1). Yapılan çalışmada ağırlık kaybında uygulamalar arası farka bakıldığında; streç film içerisinde depolanan mantarlarda

0, 3, 5 ve 15. gün depolamalarında fark önemsiz çıkarken, 10. ve 15. gün depolamasında 0.5 mM ile 1 mM MeJA uygulanan örnekler arası fark önemli bulunmuştur. MAP ambalajı içerisinde depolanan örneklerde ise uygulamalar arası fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Kontrol ve 1 uygulamasının 3, 5, 10, 15. ve 20. gün depolamaları, 0.5 mM MeJA uygulamasının 10, 15 ve 20. gün depolamaları ile 1 mM MeJA uygulamasının ise 5, 10, 15 ve 20. gün depolamalarının; aynı depolama sıcaklığı ve uygulamada streç film uygulamasından farkı istatistik olarak önemli bulunmuştur. Muhafaza başlangıcından muhafaza sonuna kadar bütün uygulama gruplarında ağırlık kaybında artışlar gözlenmiştir. Gökçenay ve Çavuşoğlu (2018), benzer konuda yaptıkları çalışmada en az ağırlık kaybının streç filmle kaplı ve 5 ppm sitokinin uygulanan mantarlarda olduğunu tespit etmişlerdir. Mantar muhafazasında ağırlık kaybı açısından streç filmle kaplanan mantarlarda daha az ağırlık kaybı olduğunun gözlenmesi bu uygulamanın mantar muhafazasında başarılı bir sonuç vereceğini göstermektedir. Fakat MAP ambalajında bu uygulamadan da daha az ağırlık kaybı meydana gelmiştir. Bu durumun ambalaj içi karbondioksit ve oksijen bileşen oranlarından oksijeninin azalması, karbondioksidin artmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. MeJA uygulaması MAP ambalajı uygulamasıyla beraber ağırlık kaybını önleme açısından önemli sonuçlar vermiştir. Mantarları muhafaza açısından diğer meyve ve sebzelerden ayırt eden özellik dış koruyucu bir tabakasının olmayışıdır (Ares ve ark., 2007). Bu özelliği yanında çok hızlı bir solunum gerçekleştirmesi de ağırlık kaybında artışlara sebep olmaktadır. MAP, streç film ambalaj ile karşılaştırıldığında, yüksek nispi nemi koruması, oksijenin azaltılmasının yanı sıra karbondioksidin artırılması (Geeson, 1988) ve kullanılan metil jasmonatın da etkisiyle daha az ağırlık kaybına neden olmuştur.

pH, Titre Edilebilir Asitlik (TEA) ve Suda Çözünür Kuru Madde (SÇKM)

MeJA ve MAP uygulamalarının pH, TEA, SÇKM'de meydana getirdiği değişim Tablo 1'de verilmiştir. pH değerinde meydana gelen değişimlerde; streç film içerisinde depolanan örneklerde dalgalanmaların olduğu, MAP ambalajında ise düzenli bir azalış ve artışlarla beraber depolama sonunda artışın olduğu tespit edilmiştir. Depolama boyunca en yüksek pH değeri 7.72 ile 20. günde MAP ambalajı içerisinde muhafaza edilen kontrol örneklerinde tespit edilirken, en düşük pH değerinin 20. günde 7.08 ile streç film ambalajı içerisinde depolanan kontrol uygulamasından elde edilmiştir. pH değeri için uygulamalar arası farka bakıldığında; Streç film içerisinde depolanan örneklerde fark önemli çıkmazken, MAP ambalajlarında depolanan örneklerde depolamanın 10. gününde kontrol ve 1 mM MeJA uygulanan örnekler arasında fark istatistik olarak önemli bulunmuştur. Kontrol uygulamasında 15. gün depolaması, 1 mM MeJA uygulamasında 5 ve 10. gün depolamalarının aynı



depolama sıcaklığı ve uygulamada streç film içerisinde depolamadan olan farkı istatistik olarak önemli bulunmuştur. Bu bulgu, Villaescusa ve Gil (2003)'ün sonucuna uyumludur. Taze mantarların pH değeri önceki çalışmalarda 6.44 olarak tespit edilirken (Jaworska ve ark., 2010; Oliveira ve ark., 2012), bizim çalışmamızda bu değer biraz yüksek bulunmuştur. Bunun sebebinin yetiştirilen kompostun, olgunlaştırma aşamasında eklenen katkı maddeleriyle birlikte pH oranının daha yüksek olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. pH depolama süresine göre artmıştır. ($P < 0.05$) (Tablo 2). Bu çalışmadaki pH artışı, ağırlıklı olarak mantar örneklerinde bulunan amin dehidrogenaz içeren *Pseudomonas* gibi bakteri türleri tarafından amino asitlerin deaminasyonuna (Eady ve Large, 1971) ve otolitik reaksiyonlara bağlı olarak bakteriyel bozulmaya eşlik eden uzun süreli depolama sırasında aldehid ve amonyak üretimine bağlı olabilir.

TEA miktarında meydana gelen değişimler incelendiğinde; her iki ambalaj ve üç uygulamada da depolama boyunca artış ve azalışlarla beraber genel olarak artışın olduğu belirlenmiştir. Streç film ambalaj içerisinde, depolamanın 15. gününe kadar önemli bir fark tespit edilemezken depolamanın 20. gününde artışların olduğu tespit edilmiştir. Bununla beraber MAP ambalajında ise depolamanın 5. gününe kadar artışın meydana geldiği, bu tarihten itibaren depolama 15. gününe kadar azalışların

olduğu ve depolama sonunda ise tekrardan artışın olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar incelendiğinde *Agaricus* mantarında en yüksek TEA miktarını 20. günde streç film ambalajları içerisinde depolanan kontrol grubunda olduğu belirlenmiştir. TEA miktarında uygulamalar arası fark; streç film içerisinde depolanan şapkalarda 0, 3, 10, 15 ve 20. gün depolamaları arası fark önemli bulunmazken, 5. günde kontrol uygulaması önemli bulunmuştur. MAP ambalajı içerisinde muhafaza edilen şapkalarda ise uygulamalar arası fark önemsiz çıkmıştır. Kontrol uygulamasında 5 ve 20. gün depolamalarında, 0.5 mM MeJA uygulanan örneklerde ise 20. gün depolamasında; aynı depolama sıcaklığı ve uygulamada streç filmde olan farkın istatistik olarak önemli olduğu bulunmuştur. Farklı araştırmacılar depolama sırasındaki TEA artışını farklı nedenlere dayandırmıştır. Petersen ve Poll (1999), bu artışı şeker ve alkollerden asit üreten mikroorganizmalardan (asetik/laktik asit bakterileri ve küfler) kaynaklanabileceğini bildirirken, Remón ve ark. (2003), CO absorpsiyonunun bir sonucu olarak açıklanabileceğini ve artan CO konsantrasyonunun olgunlaşma sırasında asitlik miktarının düşüşünü yavaşlatarak asitlik üzerinde ikinci bir etkiye neden olduğunu bildirmiştir.

Tablo 1. *A. bisporus* mantarının depolanması sırasında ağırlık kaybında meydana gelen değişimler

Depolama Süresi	Ambalaj	Kontrol	0.5 mM MeJA	1 mM MeJA
0	MAP	0 ± 0 c	0.00 ± 0 c	0 ± 0 b
	streç	0 ± 0	0 ± 0 c	0 ± 0 c
3	MAP	0 ± 0 c #	0,2976 ± 0,2976 b	0 ± 0 b
	streç	0,7558 ± 0,0395	0,4779 ± 0,239 b	0,5026 ± 0,2524 c
5	MAP	0 ± 0 #	0,2976 ± 0,2976 b	0 ± 0 b #
	streç	1,0336 ± 0,3166 b	0,7604 ± 0,0436 b	1,2977 ± 0,2152 b
10	MAP	0,3333 ± 0,3333 #	0,2976 ± 0,2976 b #	0 ± 0 b #
	streç	2,0242 ± 0,3035 ab AB	1,5208 ± 0,0871 ab B	2,6232 ± 0,1375 ab A
15	MAP	0,3333 ± 0,3333 #	1,2372 ± 0,2751 a #	0,5628 ± 0,2816 a #
	streç	3,0233 ± 0,1578 a	2,7591 ± 0,1085 a	3,1259 ± 0,2724 a
20	MAP	0,3333 ± 0,3333 #	1,2372 ± 0,2751 a #	0,8995 ± 0,0562 a #
	streç	3,7791 ± 0,1973 a AB	3,519 ± 0,0652 a B	4,2133 ± 0,1259 a A

A,B,C: → Aynı ambalaj ve depolama sıcaklığında farklı büyük harfi alan "Uygulamalar arası" fark önemlidir ($p < 0,05$).

a,b,c: ↓ Aynı ambalaj ve uygulamada farklı küçük harfi alan "depolama süreleri arası" fark önemlidir ($p < 0,05$).

#: Aynı depolama sıcaklığı ve uygulamada streç filmde olan farkı önemlidir ($p < 0,05$).

Tablo 2. *A. bisporus* mantarının depolanması sırasında pH, TEA ve SÇKM değerinde meydana gelen değişimler

Depolama Süresi	Ambalaj	pH			TEA			SÇKM		
		Kontrol	0.5 mM MeJA	1 mM MeJA	Kontrol	0.5 mM MeJA	1 mM MeJA	Kontrol	0.5 mM MeJA	1 mM MeJA
0	MAP	7,26 ± 0,01	7,26 ± 0,01b	7,26 ± 0,01b	0,053±0,0021c	0,053 ± 0,0021 b	0,053 ± 0,0021 b	5,867 ± 0,1667 b	5,867 ± 0,1667 a	5,867 ± 0,1667 a
	streç	7,26 ± 0,01	7,26 ± 0,01	7,26 ± 0,01	0,053±0,0021 b	0,053±0,0021 b	0,053 ± 0,0021	5,867 ± 0,1667 b	5,867 ± 0,1667 a	5,867 ± 0,1667
3	MAP	7,26 ± 0,0296	7,30 ± 0,0644b	7,35±0,06ab	0,072±0,0056 b	0,068 ± 0,0077 b	0,0612±0,0093 b	6,500 ± 0,3055 a A#	4,633 ± 0,1333abB	4,633 ± 0,5207abB
	streç	7,20 ± 0,0775	7,38 ± 0,0825	7,30 ± 0,083	0,064±0,000 b	0,062 ± 0,0043 ab	0,068 ± 0,0021	5,333 ± 0,2028 b	4,900 ± 0,3215 ab	4,967 ± 0,7126
5	MAP	7,14 ± 0,0593	7,22 ± 0,0649 b	7,20±0,01b #	0,100 ± 0,0021 a #	0,104 ± 0,0093 a	0,092 ± 0,0043 a	5,133 ± 0,2906 b B#	6,467 ± 0,3333 a A	5,000 ± 0,2517 b B
	streç	7,31 ± 0,1457	7,14 ± 0,0371	7,11 ± 0,003	0,126 ± 0,0021 a A	0,098 ± 0,0056 a B	0,096 ± 0,0064 B	7,100 ± 0,2517a A	5,300 ± 0,2646 a B	5,767 ± 0,2603 B
10	MAP	7,45 ± 0,0318B	7,53±0,102aAB	7,71±0,01aA#	0,096 ± 0,0098 a	0,081 ± 0,0093 ab	0,072 ± 0,0056ab	6,333 ± 0,5364 a	4,367 ± 0,318 b	4,133 ± 0,4333 b
	streç	7,35 ± 0,0737	7,44 ± 0,2373	7,12 ± 0,1048	0,070 ± 0,0111 b	0,077 ± 0,0074 a	0,100±0,0171	6,167 ± 0,318 ab	4,900 ± 0,2309 ab	5,300 ± 0,7572
15	MAP	7,62 ± 0,0895#	7,53 ± 0,0689 a	7,76 ± 0,050a	0,062 ± 0,0167 bc	0,060 ± 0,0056 b	0,047 ± 0,0119 b	5,833 ± 0,3667 b A	4,433 ± 0,3844 b B	4,533 ± 0,1856abB
	streç	7,27 ± 0,0698	7,43 ± 0,024	7,43 ± 0,1102	0,085 ± 0,013 ab	0,066±0,0056 ab	0,066 ± 0,0093	5,600 ± 0,1732 b	4,800 ± 0,2646 ab	4,900 ± 0,3786
20	MAP	7,72 ± 0,3139	7,46 ± 0,089ab	7,33 ± 0,06ab	0,092 ± 0,013 a #	0,070±0,0064ab#	0,062 ± 0,014 b	4,000 ± 0,1528 c #	3,300 ± 0,1732 b #	3,300 ± 0,3512 b
	streç	7,09 ± 0,1141	7,31 ± 0,1266	7,39±0,1419	0,196 ± 0,0021 a	0,122 ± 0,0074	0,126 ± 0,0409	5,167 ± 0,3844 b	4,300 ± 0,2082 b	4,300 ± 1,4000

A,B,C: → Aynı ambalaj ve depolama sıcaklığında farklı büyük harfi alan "Uygulamalar arası" fark önemlidir ($p<0,05$).

a,b,c: ↓ Aynı ambalaj ve uygulamada farklı küçük harfi alan "depolama süreleri arası" fark önemlidir ($p<0,05$).

#: Aynı depolama sıcaklığı ve uygulamada streç filmten olan farkı önemlidir ($p<0,05$).

SÇKM miktarında meydana gelen değişimlerde; her iki ambalaj ve üç uygulamada da genel olarak depolama boyunca azalmaların meydana geldiği belirlenmiştir. Streç film içerisinde depolanan mantarlarda SÇKM miktarında depolama boyunca düzenli azalmaların olduğu tespit edilmiştir. MAP içerisinde depolananlarda ise depolamanın başlangıcından depolama sonuna kadar dalgalanmalarla beraber genel olarak azalışların olduğu tespit edilmiştir. Bu bağlamda en yüksek SÇKM değeri 7.1 Brix ile 5. günde streç film içerisinde depolanan kontrol örneklerinde olduğu belirlenirken, en düşük SÇKM değerinin ise 3.3 Brix ile 20. günde MAP ambalajı içerisinde depolanan 0.5 mM ve 1 mM MeJA uygulanan mantar örneklerinde olduğu tespit edilmiştir. Streç film ambalajda 0, 3, 10, 15 ve 20. gün depolamalarında uygulamalar arası fark önemsiz çıkarken, 5. gün depolamasında kontrol uygulaması istatistik olarak önemli bulunmuştur. MAP ile kaplı mantarlarda ise 3. günde kontrol uygulaması, 5. günde 0.5 mM MeJA uygulaması, 15. günde ise kontrol uygulamasında uygulamalar arası fark bakımından istatistik olarak önemli bulunmuştur. Kontrol uygulamasında 3, 5, ve 20. gün depolamaları ile 0.5 mm MeJA uygulamasında 20. gün depolaması aynı depolama sıcaklığı ve uygulamada streç film ambalajdan olan farkı istatistik olarak önemli bulunmuştur. Liuqing ve arkadaşlarının (2018) yaptıkları çalışmada da bulgularımızla benzer şekilde SÇKM başlangıçta artma ve daha sonra da azalmalar tespit edilmiştir. Bunun yanısıra mantarlarda SÇKM'nin tamamına yakını şekerler

oluşturmaktadır. Solunum boyunca şekerlerin parçalanarak depolama boyunca azaldığı bilinmektedir. Bu durum solunum aktivitesi yüksek olam meyve ve sebzelerde (mantarlar gibi) raf ömrünün kısa olmasının temel nedenlerinin başında gelmektedir. Bunun yanında çok hızlı metabolik aktivite ile şekerler oksitlenerek depolama süresi uzadıkça daha fazla kayba uğramaktadır (Ares ve ark., 2007). Bulgularımız bu sonuçlarla benzerlik göstermektedir.

Renk

L^* değerinde, her iki ambalaj ve üç uygulamada da depolama boyunca düzenli azalışların olduğu tespit edilmiştir. Streç film içerisinde depolaması gerçekleştirilen mantarlarda uygulamalar arası farklılıkların olduğu ve bununla beraber düzenli azalışların olduğu görülürken, MAP ambalajı içerisinde muhafazası gerçekleştirilen örneklerde ise uygulamaların birbirlerine daha paralel değerlerde gittiği ve yine düzenli azalışların olduğu belirlenmiştir. L^* değerinde uygulamalar arası farklar incelendiğinde; Streç film ile kaplı mantarlarda depolamanın 0, 3, 5. günleri istatistik olarak önemli bulunmazken; 10. günde kontrol ve 0.5 mM MeJA uygulaması ile arasındaki fark, 15. günde kontrol uygulaması ve 20. günde ise kontrol ve 1 mM MeJA uygulaması arası farklar istatistik olarak önemli bulunmuştur. MAP ambalajı ile kaplı mantarlarda ise uygulamalar arası fark istatistik olarak önemli bulunmamıştır. Kontrol uygulamasının 10, 15 ve 20. gün



depolamaları ile 1 mM MeJA uygulanan mantarlarda ise 10 ve 20. gün depolamalarının aynı depolama sıcaklığı ve uygulamada streç film uygulamasından olan farkı istatistik olarak önemli bulunmuştur. Kararmayı gösteren parametrelerin başında gelen L^* değeri, depolama sonunda en yüksek olan streç film ile kaplanan kontrol uygulamalarında olduğu tespit edilmiştir. L^* (parlaklık), meyve yüzeyinin yansımaya bağlıdır ve örnek yüzeyinin parlaklığının bir göstergesidir (Du ve ark., 2009). Mantarlarda L değeri MAP ve streç film içerisinde muhafaza süresince düzenli bir şekilde azalmıştır. Depolama sonunda MAP uygulamasıyla L^* değerini en iyi koruyan uygulama 1 mM MeJA olurken, streç film uygulamasıyla birlikte ise kontrol uygulaması olmuştur (Tablo 3; Şekil 1). *Agaricus* cinsi beyaz mantarlarda ticari olarak bütün kalite parametrelerinden tüketici tercihlerini etkileyen en önemli kalite indeksi görünüşüdür. Beyaz şapkali mantarların yüzeyinde enzimatik ve mikrobiyal kontaminasyon sebebiyle kararma eğilimi göstermektedir (Ahvenainen, 1996). L^* değerinde meydana gelen bu aşamalı azalma Brennan ve Gormley (1998)'in yaptıkları çalışmanın sonuçları ile uyumludur. Bu renklerdeki kararmaya, depolama ve fizyolojik bozukluklar çok yüksek polifenol oksidaz (PPO) içeriği ve fenolik bileşikler etkilidir (Mohapatra ve ark., 2008). Bunun yanı sıra hidrojen peroksitin varlığında fenol peroksidaz, oksijenin varlığında ise polifenol oksidaz aktivitesi (PPO), mantarların yüzeyinde oluşan esmerleşmeden sorumlu iki faktördür (Podagatlapalli ve ark. 2012; Donnadieu ve ark., 2016). Mantarlar doğal olarak düşük düzeyde bir hidrojen peroksit içeriğine sahip olduğundan PPO, *Agaricus bisporus*'ta hasat sonrası esmerleşmeyi etkileyen ana neden olarak kabul edilmektedir (Lei ve ark., 2018; Gökçenay ve Çavuşoğlu, 2018).

Kroma (C) değerinde depolama boyunca her iki ambalaj ve üç uygulamada da düzenli artışın olduğu belirlenmiştir. Streç film içerisinde depolanan şapkalarda düzenli artışın olduğu belirlenirken, MAP ambalajı içerisinde 5. günde azalışın olduğu ve devamında ise tekrardan artışın olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada en yüksek kroma değerini ise 15. günde MAP ambalajı içerisinde 24.62'lik bir değer ile 1 mM MeJA uygulaması yapılan mantarda olduğu belirlenmiştir. Mantarlarda C değerinde hem streç film içerisindeki hem de MAP ambalajı içerisindeki mantarlarda uygulamalar arası fark istatistik olarak önemli bulunmamıştır. Kontrol uygulamasında 10. gün depolamasının, aynı depolama sıcaklığı ve uygulamada streç film içerisinde ambalajlamadan olan farkı istatistik olarak önemli bulunmuştur. C renk yoğunluğunu (düşük değerler koyu rengi gösterir), ifade ederek depolama boyunca her üç uygulamada artış göstermiştir. Her ne kadar istatistik olarak uygulamalar arasında fark olmadığı sonucuna varılmış olsa da her iki ambalaj içerisindeki depolamada en iyi sonucun 0.5 mM MeJA uygulamasında olduğu belirlenmiştir. Ali ve ark., (2011), renk gelişiminin

yavaşlamasının, yavaş bir solunum ve düşük etilen üretimine bağlanabileceğini, hatta MeJA ile muamele edilmiş meyvelerde nispeten daha az bir değişim göstererek yaşlanma sürecini geciktirdiğini bildirmiştir.

Hue (h°) açısı değerinde meydana gelen değişiklikler incelendiğinde, her iki ambalaj ve üç uygulamada da artış ve azalışların olmasından kaynaklı hafif dalgalanmalar olsa da genel olarak depolamanın başlangıcından depolamanın sonuna kadar azalışların olduğu saptanmıştır. Bu sonuçlara göre en yüksek h° değerini streç film içerisinde depolanan 5. gün kontrol örneklerinde olduğu belirlenirken, en düşük hue değerinin ise 15. günde MAP ambalajı içerisinde depolanan 0.5 mM MeJA uygulanan mantar örneklerinde olduğu belirlenmiştir. h (hue) açısı değerinde uygulamalar arası fark; streç film içerisindeki mantarlarda 0, 3 ve 5. gün depolamalarında uygulamalar arası fark önemsiz çıkarken, 10. günde kontrol uygulaması, 15 ve 20. günde ise kontrol uygulaması ile 1 mM MeJA uygulaması arası fark istatistik olarak önemli çıkmıştır. MAP ambalajı içerisinde depolanan mantarlarda ise uygulamalar arası fark istatistik olarak önemli bulunmamıştır. Kontrol uygulamasında 5, 10 ve 15. gün depolamalarında ve 1 mM MeJA uygulanan örneklerde ise 3. gün depolaması aynı depolama sıcaklığı ve uygulamada streç film ambalajdan olan farkı istatistik olarak önemli bulunmuştur. (h°) (hue) açısı değerleri 0 kırmızı-menekşe, 90 sarı, 180 mavi-yeşil, 270 mavi olduğunu göstermektedir. Yaşlanma süresince antosiyaninlerin bozulmasına bağlı olarak meyve renginde koyulaşma görülmektedir. Bu koyulaşmayı ortalama olarak hue (h°) açısı değeri göstermektedir. Hue (h°) açısı değeri de a^* ve b^* değerlerine bağlı olarak muhafaza süresince hemen hemen düzenli bir değişim göstermiştir. 1 mM uygulamasında muhafazanın 20. gününde 81.74'e kadar düşmüştür. MAP uygulamalarının ve MeJA uygulamalarının bu renk değerlerinin korunması, ambalaj içerisindeki O_2 miktarını azaltarak ve CO_2 miktarını artırarak renk maddelerinin bozulmasına sebep olan enzim faaliyetlerini en aza indirmesinden kaynaklandığı söylenebilir.

Ambalaj İçi Gaz Bileşimi (O_2/CO_2)

Oksijen konsantrasyonunda meydana gelen değişimlere bakıldığında; streç film içerisinde azalmaların olduğu, MAP ambalajlarında ise dalgalanmaların olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Bu bağlamda en yüksek oksijen konsantrasyonuna sahip değer depolama başlangıcında gözlenmiş, en düşük değer 5. günde 0.16'lık bir değer ile streç film içerisindeki 0.5 mM MeJA uygulanan mantar örneklerinde olduğu tespit edilmiştir. Ambalaj içi gaz bileşimde O_2 konsantrasyonunda; streç film ile kaplı mantarlarda uygulamalar arası fark önemsiz çıkarken, MAP ambalajı ile kaplı mantarlarda 5. günde üç uygulamanın da aralarındaki fark istatistik olarak önemli bulunmuştur.

Tablo 3. *A. bisporus* mantarının depolanması sırasında L*, kroma ve hue (h°) açığı değerinde meydana gelen değişimler

Depolama Süresi	Ambalaj	L*			Croma			Hue		
		Kontrol	0,5 mM MeJA	1 mM MeJA	Kontrol	0,5 mM MeJA	1 mM MeJA	Kontrol	0,5 mM MeJA	1 mM MeJA
0	MAP	90,81 ± 0,07 a	90,81 ± 0,07 a	90,81 ± 0,07 a	13,25 ± 0,04 c	13,25 ± 0,04 c	13,25 ± 0,04 0,04b	84,85 ± 0,28 a	84,85 ± 0,28 a	84,85 ± 0,28 a
	streç	90,81 ± 0,07 a	90,81 ± 0,07 a	90,81 ± 0,07 a	13,25 ± 0,04 c	13,25 ± 0,04 c	13,25 ± 0,04 0,04b	84,85 ± 0,28 a	84,85 ± 0,28 a	84,85 ± 0,28 a
3	MAP	85,36 ± 0,42a	84,91 ± 0,28 a	83,92 ± 1,65 a	19,95 ± 0,34 b	19,65 ± 0,16 b	19,60 ± 0,45 a	83,02 ± 0,50 a	82,86 ± 0,09 a	82,09 ± 0,58 ab#
	streç	86,37 ± 0,54 a	85,49 ± 0,95 a	87,29 ± 0,92 a	18,92 ± 0,73 b	19,35 ± 0,67 b	18,47 ± 0,66 a	84,57 ± 0,27 a	83,55 ± 0,59 a	84,80 ± 0,66 a
5	MAP	83,98 ± 0,21 a	83,67 ± 1,19 ab	84,12 ± 1,91 a	20,33 ± 0,35 ab	18,58 ± 1,27 b	19,44 ± 0,47 a	82,47 ± 0,30 ab#	82,88 ± 0,31 a	83,18 ± 0,62 a
	streç	86,51 ± 1,26 a	85,46 ± 0,50 a	84,83 ± 0,30 ab	20,19 ± 0,95 ab	19,99 ± 0,44 ab	20,71 ± 0,55 a	85,12 ± 0,78 a	84,02 ± 0,37 a	83,85 ± 0,21 a
10	MAP	82,25 ± 0,60a#	80,88 ± 0,53 ab	80,97 ± 0,49 ab#	23,35 ± 0,09 a#	22,86 ± 0,30 ab	22,89 ± 0,67 a	82,93 ± 0,25 b#	82,40 ± 0,08 a	82,65 ± 0,49 a
	streç	84,73 ± 0,64aA	82,01 ± 0,66 abB	82,85 ± 0,25b AB	21,74 ± 0,21 a	22,03 ± 0,37 a	21,23 ± 0,25 a	84,39 ± 0,26 aA	82,89 ± 0,32 abB	82,81 ± 0,38ab B
15	MAP	76,56 ± 1,15 b#	77,60 ± 1,2 b	77,95 ± 0,10 b	24,21 ± 0,51 a	24,53 ± 0,68 a	24,62 ± 0,15 a	80,93 ± 0,59 b#	80,87 ± 0,30 b	82,34 ± 0,46 ab
	streç	82,65 ± 0,84b A	79,01 ± 1,14 b B	77,66 ± 1,16 b B	22,68 ± 0,79 a	23,03 ± 0,32 a	23,41 ± 0,42 a	83,81 ± 0,18ab A	82,08 ± 0,52b AB	81,13 ± 0,66 b B
20	MAP	76,15 ± 0,58 b#	78,24 ± 1,2 b	75,19 ± 0,89 b #	24,25 ± 0,39 a	23,85 ± 0,46 a	23,74 ± 0,21 a	82,91 ± 1,13 a	81,83 ± 0,23 ab	81,74 ± 0,53 b
	streç	80,54 ± 0,13b A	79,32 ± 0,56abB	78,42 ± 0,57b B	23,35 ± 0,33 a	22,66 ± 0,12 a	23,85 ± 0,38 a	82,99 ± 0,32 b A	82,16 ± 0,14 bAB	82,02 ± 0,18 b B

A,B,C: → Aynı ambalaj ve depolama sıcaklığında farklı büyük harfli alan "Uygulamalar arası" fark önemlidir ($p < 0,05$).

a,b,c: ↓ Aynı ambalaj ve uygulamada farklı küçük harfli alan "depolama süreleri arası" fark önemlidir ($p < 0,05$).

#: Aynı depolama sıcaklığı ve uygulamada streç filmde olan farkı önemlidir ($p < 0,05$).

Karbondioksit konsantrasyonunda meydana gelen değişimler incelendiğinde (Tablo 4); MAP ve streç film ambalajı arasında önemli farklılıklar olduğu tespit edilmiştir. Streç film kullanılan örneklerde karbondioksit konsantrasyonunun depolamada önemli farklılıklara neden olmadığı tespit edilirken, MAP ambalajı içerisinde depolanan mantar örneklerinde; başlangıçta yüksek karbondioksit üretimin olduğu depolama sonunda ise azalmaların olduğu tespit edilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde en yüksek karbondioksit konsantrasyonunu MAP ambalajı içerisinde depolan 5. gün kontrol örneklerinde olduğu belirlenmiştir. CO₂ konsantrasyonunda ise hem MAP hem de streç film ambalajı içerisinde muhafaza edilen mantarlarda uygulamalar arası fark istatistik olarak önemli bulunmamıştır. Bununla beraber O₂ konsantrasyonunda; kontrol uygulamasında 3 ve 5. gün depolamaları ile 0,5 mM MeJA uygulamasında ise 5. gün depolamasında aynı depolama sıcaklığı ve uygulamada streç film içerisinde ambalajlama uygulamasından olan farkı istatistik olarak önemli çıkmıştır. CO₂ konsantrasyonunda ise kontrol, 0,5 ve 1 mM MeJA uygulamalarında 3, 5, 10, 15 ve 20. gün depolamaları aynı depolama sıcaklığı ve uygulamada streç film içerisinde ambalajlama uygulamasından olan farkı istatistik olarak önemli bulunmuştur. Depolama boyunca bütün uygulamalarda bu konuda daha önce yapılan çalışmalarda olduğu gibi oksijen konsantrasyonları depolama başlangıcında çok hızlı bir biçimde düşmüştür

(Villaescusa ve Gil, 2003). Karbondioksit konsantrasyonu ise diğer çalışmaların aksine artış göstermiştir (Nichols ve Hammond, 1973; Lopez-Briones ve ark., 1992). Bunun nedeni MAP ambalajının geçirgenliği ve mantarların solunuma devam etmesidir (Rocha ve ark., 2004). Lopez Briones ve ark. (1992) ile Roy ve ark., (1995) mantarın etrafındaki CO₂ konsantrasyonunun, MAP içerisinde birkaç saat sonra keskin bir şekilde arttığını bildirmiştir. Taze mantarın nispeten daha yüksek solunum hızı göz önüne alındığında, paket içerisindeki hava boşluğundaki CO₂ oranının farklı olması, ambalaj filmlerinin farklı gaz geçirgenliklerinden kaynaklanmaktadır (Kang ve ark. 2001). Bazı araştırmacılar, paket içindeki O₂ seviyesinin % 2'den daha düşük olmamasına aksi halde aerobik solunumun anaerobik hale gelerek sonuçta tat ve doku parçalanmasında keskin bir artışa neden olacağına dikkat çekmişlerdir (Cliffe-Byrnes ve O'Beirne 2007; Guillaume ve ark. (2010). CO₂ konsantrasyonu ile ilgili olarak oranın %5'ten yüksek olması ile genel esmerleşme ya da sararmasının artabileceği ve ürünün normal hava bileşimine döndüğünde solunum hızındaki bir artışla fitotoksik bir etki yaratacağı bildirilmektedir (Lopez Briones ve ark., 1992; Guillaume ve ark, 2010). Ambalaj içi gaz değişimi ile ilgili olarak önceki çalışmalarda olduğu gibi (Cho ve ark., 2008; Fante ve ark., 2014) O₂ ve CO₂ gaz bileşimlerinin depolama sırasında sabit duruma ulaşılması ile daha sağlıklı sonuçlar elde edileceği açıktır.



Solunum Hızı ve Dışsal Etilen Miktarı

Solunum değerinde depolama boyunca artış ve azalışlardan kaynaklanan dalgalanmaların olduğu tespit edilmiştir (Tablo 5). Her iki ambalaj tipinde de depo başlangıcından depolamanın 3. güne kadar azalışların 5. günde ise artışların paralel gittiği, streç film içerisinde dalgalanmaların devam ettiği MAP ambalajında ise depolama sonuna kadar önemli bir artış ve azalışın olmadığı tespit edilmiştir. Bu bağlamda en yüksek solunum oranını 5. günde MAP ambalajı içerisinde depolanan 1 mM MeJA uygulanan mantarlarda olduğu, en düşük solunum oranının ise 3. günde streç film içerisinde 0.5 mM MeJA uygulanan mantarlarda olduğu tespit edilmiştir. Solunum hızı incelendiğinde; streç film içerisinde depolanan mantarlarda uygulamalar arası fark önemsiz çıkarken, MAP ambalajında depolanan mantarlarda ise 5. gün depolamasında üç uygulama arasındaki fark istatistik olarak önemli çıkmıştır. Kontrol uygulamasında 20. gündeki, 0.5 mM MeJA uygulamasında 3 ve 20. gündeki ve 1 mM MeJA uygulamasında ise 15. gün depolamasında aynı depolama sıcaklığında ve uygulamada streç film uygulamasından olan farkı istatistik olarak önemli bulunmuştur.

Etilen miktarında meydana gelen değişimlerde; depolamanın başlangıcından depolamanın sonuna kadar

artış ve azalışlardan kaynaklı dalgalanmaların olduğu belirlenmiştir. Her iki ambalaj ve üç uygulamada da depolamanın başlangıcından 3. güne kadar azalışların olduğu, 5. günde artışların ve depolamanın 10. gününde ise tekrardan azalışların olduğu ve depolama sonunda ise streç film ambalaj içerisinde dalgalanmaların devam ettiğini fakat MAP ambalajı içerisinde depolanan mantarlarda ise önemli bir artışın olmadığı belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre en yüksek etilen değerinin 0. gündeki mantarlarda olduğu, en düşük etilen değerinin ise 10. günde streç film içerisindeki kontrol uygulamasında olduğu tespit edilmiştir. Dışsal etilen miktarında ise; hem MAP hem de streç film içerisinde depolanan mantarlarda uygulamalar arası fark istatistik olarak önemli bulunmamıştır. Bununla beraber kontrol uygulamasında 20. gün depolamasında ve 1 mM MeJA uygulanan mantarlarda ise 15. gün depolaması aynı depolama sıcaklığı ve uygulamada streç film ambalajdan olan farkı istatistik olarak önemli bulunmuştur. MeJA'nın etilen üretimini indüklediği görülmüştür. (Saniewsky, 1997; Ali ve ark. (2011), MeJA uygulamalarının yavaş bir solunum ve düşük etilen üretimi sağladığını, bunun yanı sıra meyvenin değiştirilmiş bir iç atmosfere yol açarak yaşlanma sürecini geciktirme etkisine sahip olduğunu bildirmiştir.

Tablo 4. *A. bisporus* mantarının depolanması sırasında ambalaj içi gaz bileşiminde (O₂ ve CO₂) meydana gelen değişimler

Depolama Süresi	Ambalaj	O ₂			CO ₂		
		Kontrol	0.5 mM MeJA	1 mM MeJA	Kontrol	0.5 mM MeJA	1 mM MeJA
0	MAP	20,90 ± 0 a	20,90 ± 0 a	20,90 ± 0 a	0,30 ± 0 c	0,30 ± 0 c	0,30 ± 0 c
	streç	20,90 ± 0 a	20,90 ± 0 a	20,90 ± 0 a	0,30 ± 0 b	0,30 ± 0 b	0,30 ± 0 b
3	MAP	0,39 ± 0,14 b #	0,20 ± 0,004 c	0,18 ± 0,007 b	9,03 ± 0,29 a #	8,50 ± 0,40 a #	8,77 ± 0,23 a #
	streç	2,70 ± 0,71 b	0,42 ± 0,09 b	1,77 ± 1,24 b	4,90 ± 0,17 a	5,00 ± 0,058 a	5,13 ± 0,43 a
5	MAP	0,66 ± 0,28 b A #	0,22 ± 0,017 c C #	0,40 ± 0,13 b B	9,13 ± 0,17 a #	8,80 ± 0,11 a #	8,27 ± 0,23 a #
	streç	2,07 ± 0,40 b	1,16 ± 0,06 c	2,05 ± 0,93 b	5,00 ± 0,29 a	4,90 ± 0,058 a	4,47 ± 0,18 a
10	MAP	0,21 ± 0,02 b	0,62 ± 0,35 b	0,20 ± 0,01 b	8,37 ± 0,33 ab #	7,90 ± 0,17 a #	7,57 ± 0,34 a #
	streç	0,60 ± 0,36 b	0,19 ± 0,018 b	0,57 ± 0,34 b	5,40 ± 0,25 a	5,07 ± 0,03 a	4,90 ± 0,25 a
15	MAP	0,43 ± 0,18 b	0,90 ± 0,57 b	0,22 ± 0,029 b	8,57 ± 0,22 a #	7,40 ± 0,46 ab #	7,97 ± 0,35 a #
	streç	1,13 ± 0,75 b	0,26 ± 0,02 b	0,32 ± 0,04 b	5,13 ± 0,23 a	4,77 ± 0,14 a	4,77 ± 0,07 a
20	MAP	0,22 ± 0,01 b	0,20 ± 0,004 c	0,24 ± 0,02 b	7,57 ± 0,23 b #	6,90 ± 0,1 b #	7,10 ± 0,50 a #
	streç	1,10 ± 0,80 b	0,26 ± 0,0237 b	0,21 ± 0,0078 b	5,30 ± 0,23 a	5,10 ± 0 a	5,07 ± 0,03 a

A,B,C: → Aynı ambalaj ve depolama sıcaklığında farklı büyük harfi alan "Uygulamalar arası" fark önemlidir (p<0,05).

a,b,c: ↓ Aynı ambalaj ve uygulamada farklı küçük harfi alan "depolama süreleri arası" fark önemlidir (p<0,05).

#: Aynı depolama sıcaklığı ve uygulamada streç filmten olan farkı önemlidir (p<0,05).

Tablo 5. *A. bisporus* mantar türünün depolanması sırasında solunum hızında meydana gelen değişimler

Depolama Süresi	Ambalaj	Solunum			Etilen		
		Kontrol	0.5 mM MeJA	1 mM MeJA	Kontrol	0.5 mM MeJA	1 mM MeJA
0	MAP	97,03±4,75a	97,03±4,75 a	97,03±4,75a	1,05 ± 0,14	1,05 ± 0,14	1,05± 0,14a
	streç	97,03±4,75a	97,03±4,75a	97,03±4,75a	1,05± 0,14 a	1,05±0,14a	1,05±0,14 a
3	MAP	101,01±17,03b B	133,48±14,23A #	99,09±14,02c C	0,57 ± 0,15	0,64 ± 0,07	0,40 ± 0,05 b
	streç	79,72 ± 10,71b	100,09±33,11d	87,70±26,26b	0,47 ± 0,06 b	0,34 ± 0,10 b	0,35 ±0,06 b
5	MAP	121,77 ± 12,60a	121,01 ± 9,34	137,24±24,90b	1,03 ± 0,16	1,00 ± 0,09	1,03 ± 0,22 a
	streç	103,21± 10,33a	106,50± 27,16b	121,35±9,64a	0,94 ± 0,23 a	0,95±0,35 a	1,04 ± 0,13 a
10	MAP	91,21± 21,80ab	109,00± 37,00	85,53±19,04b	0,51 ± 0,13	0,65± 0,19	0,63± 0,17 b
	streç	88,33± 17,31c	79,54± 9,60c	75,22±18,49ab	0,32 ± 0,03 b	0,44± 0,02b	0,43± 0,15 b
15	MAP	82,34±26,48ab	113,01±12,35	101,50±7,73b#	0,57 ± 0,24	0,77± 0,18	0,47± 0,00 b #
	streç	105,12± 33,56bc	100,77± 19,74b	101,55± 4,35a	0,34 ± 0,08 b	0,90± 0,29 a	0,80 ± 0,11 a
20	MAP	89,54± 3,80a #	84,98± 2,66#	63,00± 5,59c	0,76 ± 0,03 #	0,75 ± 0,0442	0,65 ± 0,08 ab
	streç	73,98± 5,63ab	63,31± 4,12b	57,15±2,35a	0,62±0,03 ab	0,58± 0,06ab	0,57± 0,10 ab

A,B,C: → Aynı ambalaj ve depolama sıcaklığında farklı büyük harfi alan "Uygulamalar arası" fark önemlidir ($p<0,05$).

a,b,c: ↓ Aynı ambalaj ve uygulamada farklı küçük harfi alan "depolama süreleri arası" fark önemlidir ($p<0,05$).

#: Aynı depolama sıcaklığı ve uygulamada MAPlar arası olan farkı önemlidir ($p<0,05$).

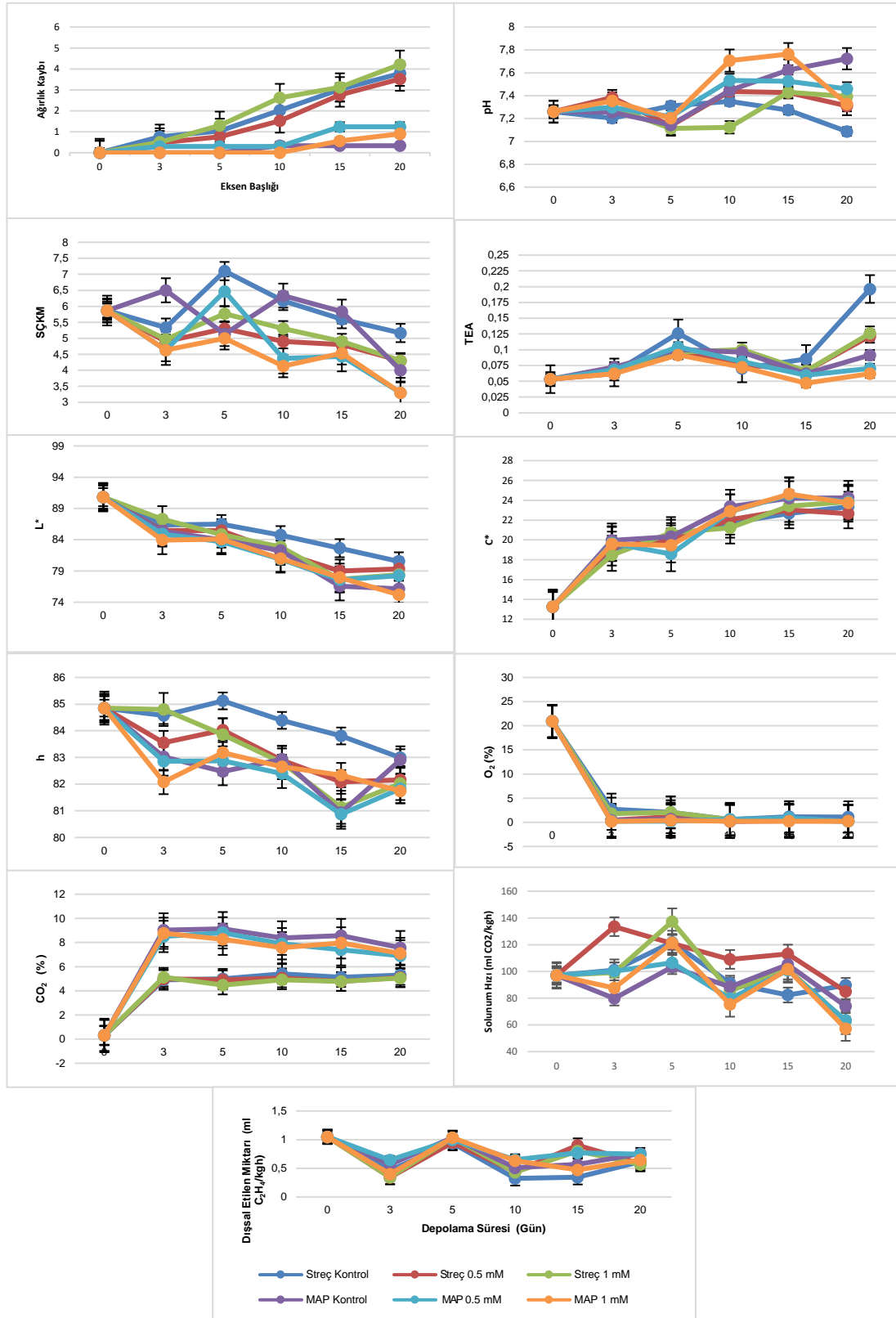
Sonuç

Bu çalışmada, MeJA'nın farklı dozlarının, MAP ve streç film ile birlikte kullanımının depo ömrüne etkileri araştırılmıştır. Ayrıca mantarın hasat sonrası fizyolojik ve biyokimyasal değişimleri incelenerek kalitenin korumasında en etkin uygulama belirlenmeye çalışılmıştır. Sonuç olarak olgunluğun yavaşlatılması ve doğal olarak raf ömrününün uzatılması için hasat sonrasında MAP ve MeJA uygulamaları kullanılarak *A. bisporus* mantar türü 4°C'de 20 gün boyunca başarılı bir şekilde depolanabilmektedir. Çalışılan parametreler açısından hasat sonrasında kaliteyi koruma anlamında önemli parametrelerden olan ağırlık kaybı ve ambalaj içi

gaz bileşenlerinden oksijen ve karbondioksit miktarı bakımından MAP; TEA, L*, croma, hue, solunum ve etilen açısından ise streç film öne çıkmıştır. *A. bisporus* mantar türünde MeJA'nın, hasat sonrasında solunum ve etileni yavaşlatmasına rağmen, diğer kalite değerleri yönünden belirgin bir etkisi saptanamamıştır. Gelecek çalışmalarda daha yüksek dozda MeJA kullanımı ile farklı depolama sürelerinin denenmesi önerilebilir.

Teşekkür

Bu çalışmanın yürütülmesinde kullanılan ambalajların teminini sağlayan Aypack Firmasına teşekkür ederiz.



Şekil 1. *Agaricus bisporus* mantar türünün depolanması sırasında ağırlık kaybı, pH, SÇKM, TEA, renk değerleri (L*, C ve Hue), ambalaj içi gaz bileşimi, solunum hızı ve dışsal etilen miktarında meydana gelen değişimler



Kaynaklar

- Ahvenainen R., *New approaches in improving the shelf life of minimally processed fruit and vegetables*, Trends Food Sci Technol, 7(6):179-187(1996).F
- Ali A., Muhammad M.T.M., Sijam K., Siddiqui Y., *Effect of chitosan coating on the physicochemical characteristics of Eksotika II papaya (Carica papaya L.) fruit during cold storage*, Food Chem., 124,620-626(2011).
- Ares G., Lareo C., Lema P., *Modified atmospheric packaging for the postharvest storage of mushrooms: a review*, Fresh Produce, 1, 32-40(2007).
- Baltazar A., Espina-Lucero J., Ramos-Torres I., González-Aguilar G., *Effect of methyl jasmonate on properties of intact tomato fruit monitored with destructive and nondestructive tests*, Journal of food engineering, 80(4),1086-1095(2007).
- Bauchot A., John P., Soria Y., Recasens I., *Carbon dioxide, oxygen and ethylene changes in relation to the development of scald in "Granny Smith apple after cold storage*, J. Agric. Food Chem., 43,3007-3011(1995).
- Brennan M., Le Port G., Gormley R., *Post-harvest treatment with citric acid or hydrogen peroxide to extend the shelf life of fresh sliced mushrooms*, LWT-Food Science and Technology, 33(4),285-289(2000).
- Brennan, M.H., & Gormley, R.T., *Extending the shelf life of fresh sliced mushrooms*, Teagasc, (1998).
- 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).
- Burton K.S. & Maher M.J., *Modified atmosphere packaging of mushrooms review and recent developments. In M. J. Maher (Eds.), Science and cultivation of edible fungi*, pp. 683-688(1991).
- Cho S.D., Lee S.K., Kim G.H., *Quality maintenance of oak mushroom during modified atmosphere storage as affected by packaging materials under various temperatures*, Kor. J. Hort. Sci. Technol., 26:393-399(2008).
- Cliffe-Byrnes V. & O'Beirne D., *Effects of gas atmosphere and temperature on the respiration rates of whole and sliced mushrooms (Agaricus bisporus) - implications for film permeability in modified atmosphere packages*, Journal of Food Science, 72(4),197-204(2007).
- Cliffe-Byrnes V., McLaughlin C.P., O'Beirne D., *The effects of packaging film and storage temperature on the quality of a dry coleslaw mix packaged in a modified atmosphere*, Int. J. Food Technol., 38,187-199(2003).
- Donnadieu F., Freville P., Hervier C., Coltelli M., Scollo, S., Prestifilippo M., Cacault P., *Near-source Doppler radar monitoring of tephra plumes at Etna*, Journal of Volcanology and Geothermal Research, 312, 26-39(2016).
- Du J., Fu Y., Wang N., *Effects of aqueous chlorine dioxide treatment on browning of fresh-cut lotus root*, LWT-Food Science and Technology, 42(2),654-659(2009).
- Eady R. & Large P., *Microbial oxidation of amines. Spectral and kinetic properties of the primary amine dehydrogenase of Pseudomonas AM1*, Biochemical Journal, 123, 757-771(1971).
- Eissa H.A., *Effect of chitosan coating on shelf life and quality of fresh-cut mushroom*, Journal of Food Quality, 30(5),623-645(2007).
- Fante C.A., Boas A.C.V., Paiva V.A., Pires C.R.F., Lima L.C.D.O., *Modified atmosphere efficiency in the quality maintenance of Eva apples*, Food Science and Technology, 34(2),309-314(2014).
- Farber J.N., Harris L.J., Parish M.E., Beuchat L.R., Suslow T.V., Gorney, J.R., Garrett E.H., Busta F.F., *Microbiological safety of controlled and modified atmosphere packaging of fresh and fresh-cut produce*, Comp. Rev. Food Sci. Food Safety, 2(51),142-160(2003).
- Geeson J.D., *Modified atmosphere packaging of fruits and vegetables* In International Symposium on Postharvest Handling of Fruit and Vegetables. 258pp. 143-150(1988).
- Gökçenay G. & Çavuşoğlu, Ş., *Farklı dozlarda uygulanan sitokininin beyaz şapkalı mantarın (Agaricus bisporus) muhafazası üzerine etkisi*, Mantar dergisi, 9(1)80-91(2018).
- González-Aguilar G.A., Buta J.G., Wang C.I., *Methyl jasmonate reduces chilling injury symptoms and enhances colour development of 'Kent' mangoes*, Journal of the Science of Food and Agriculture, 81,1244-1249(2001).
- Gonzalez-Aguilar G.A., Buta J.G., Wang C.Y., *Methyl jasmonate and modified atmosphere packaging (MAP) reduce decay and maintain postharvest quality of papaya 'Sunrise'*, Postharvest Biology and Technology, 28(3),361-370(2003).
- Guillaume C., Schwab I., Gastaldi E., Gontard N., *Biobased packaging for improving preservation of fresh common mushrooms (Agaricus bisporus L.)*, Innovative food science & emerging technologies, 11(4),690-696(2010).
- Gundlach H., Müller M.J., Kutchan T.M., Zenk M.H., *Jasmonic acid is a signal transducer in elicitor-induced plant cell cultures*, Proceedings of the National Academy of Sciences, 89(6),2389-2393(1992).
- Gussmann C.D., Goffreda, J.C., Gianfagna T.J., *Ethylene production and fruit softening rates in several apple fruit ripening variant*, Hortsci., 28 135-137(1993).
- Henze J., *Storage and transport of Pleurotus mushrooms in atmospheres with high CO2 concentrations*, Acta Hort. 258,579-584(1989).
- Jafri M., Jha A., Bunkar D.S., Ram R.C., *Quality retention of oyster mushrooms (Pleurotus florida) by a combination of chemical treatments and modified atmosphere packaging*, Postharvest Biology and Technology, 76,112-118(2013).
- Jaworska G., Bernas, E., Biernacka, A., Maciejaszek, I., *Comparison of the texture of fresh and preserved Agaricus bisporus and Boletus edulis mushrooms*, International Journal of Food Science and Technology, 45, 1659-1665(2010).



- Kader A.A., Methods of gas mixing, sampling, and analysis. In: Kader, A.A. (Ed.), *Postharvest Technology of Horticultural Crops* (Publ. 3311). University of California, Berkley, CA, pp. 93/95(1992).
- Kang J.S., Park W.P., Lee D.S., *Quality of enoki mushrooms as affected by packaging conditions*, J Sci Food Agric. 81(1):109-114(2001).
- Labuza T.P. & Breene W.M., *Applications of 'Active Packaging' for improvement of shelf-life and nutritional quality of fresh and extended shelf-life foods*, J. Food Proc. Preservat., 13,1-69. (1989).
- Lei J., Li B., Zhang N., Yan R., Guan W., Brennan C.S., Peng B., *Effects of UV-C treatment on browning and the expression of polyphenol oxidase (PPO) genes in different tissues of Agaricus bisporus during cold storage*, Postharvest Biology and Technology, 139,99-105(2018).
- Liuqing W., Qiuhui H., Fei P., Mugambi M.A., Wenjian Y., *Influence of different storage conditions on physical and sensory properties of freeze-dried Agaricus bisporus slices*, LWT, 97,164-171(2018).
- Lopez-Briones G., Varoquaux P., Chambroy Y., Bouquant J., Bureau G., Pascat B., *Storage of common mushroom under controlled atmospheres*, Int. J. Food Technol. 27,493-505(1992).
- Meir S., Philosoph-Hadas S., Lurie S., Droby S., Akerman M., Zauberman G., Shapiro B., Cohen E., Fuchs Y., *Reduction of chilling injury in stored avocado, grapefruit, and bell pepper by methyl jasmonate*, Can. J. Bot. 74, 870-874(1996).
- Mohapatra D., Frias J.M., Oliveira F.A.R., Bira Z.M., Kerry J., *Development and validation of a model to predict enzymatic activity during storage of cultivated mushrooms (Agaricus bisporus spp.)*, Journal of Food Engineering, 6(1),39-48(2008).
- Mueller M.J., Brodschelm W., Spannagl E., Zenk M.H., *Signaling in the elicitation process is mediated through the octadecanoid pathway leading to jasmonic acid*, Proceedings of the National Academy of Sciences, 90(16),7490-7494(1993).
- Murcia M.A., Jiménez-Monreal A.M., García-Diz L., Carmona M., Maggi L., Martínez-Tomé M., *Antioxidant activity of minimally processed (in modified atmospheres), dehydrated and ready-to-eat vegetables*, Food Chem. Toxicol. 47,2103-2110(2009).
- Nichols R. & Hammond J.B.W., *Storage of mushrooms in pre-packs: the effects of changes of carbon dioxide and oxygen on quality*, J. Sci. Food Agric., 24,1371-1381(1973).
- Niemira B.A. & Fan X., *Fruits and vegetables: advances in processing technologies to preserve and enhance the safety of fresh and fresh-cut fruits and vegetables*, In: Batt, C.A., Tortorello, M.L. (Eds.), *Encyclopedia of Food Microbiology*. 2nd ed. Academic Press, USA, pp. 983-991 (2014).
- Oliveira F., Sousa-Gallagher M.J., Mahajan P.V., Teixeira J.A., *Evaluation of MAP engineering design parameters on quality of fresh-sliced mushrooms*, Journal of Food Engineering, 108, 507-514(2012).
- Pamir M.H., *Fermantasyon Mikrobiyolojisi*. Ankara Üniversitesi., Ziraat Fakültesi Yayınları, No: 936 Ankara. (1985).
- Pérez A.G., Sanz C., Olías R., Olías J.M., *Effect of methyl jasmonate on in vitro strawberry ripening*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 45(10),3733-3737(1997).
- Petersen M.B. & Poll L., *The influence of storage on aroma, soluble solids, acid and colour of sour cherries (Prunus cerasus L.) cv. Stevensbaer*, European Food Research and Technology, 209(3-4),251-256(1999).
- Podagatlapalli G.K., Hamad S., Sreedhar S., Tewari S.P., Venugopal Rao S., *Fabrication and 600 characterization of aluminum nanostructures and nanoparticles obtained using femtosecond ablation 601 technique*, Chemical Physics Letters, 530,93-97(2012).
- Remón S., Venturini M.E., López-Buesa P., Oria R., *Burlat cherry quality after long range transport: optimisation of packaging conditions*, Innovative Food Science & Emerging Technologies, 4,425-434(2003).
- Rocha A.M.C.N., Barreira M.G., Morais A.M.M.B., *Modified atmosphere package for apple 'Bravo de Esmolfe'*, Food Control., 15(1),61-64(2004).
- Roy S., Anantheswaran R.C., Beelman R.B., *Fresh mushroom quality as affected by modified atmosphere packaging*. J. Food Sci., 60,334-340(1995).
- Saniewsky M., *The role of jasmonates in ethylene biosynthesis*. In *Biology and Biotechnology of the Plant Hormone Ethylene*; Kanellis, A. K., Ed.; Kluwer Academic Publishers: Dor-drecht, The Netherlands.; pp 39-45(1997).
- Saray T., *Controlled atmosphere storage of vegetables: the possibilities*. Food Technology International Europe, 69-73(1994).
- 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).
- Tian M.S., Gong Y., Bauchot A.D., *Ethylene biosynthesis and respiration in strawberry fruit treated with diazocyclopentadiene and IAA*, Plant Growth Regulation., 23,195-200(1997).
- Vick B.A. & Zimmerman D.C., *Biosynthesis of jasmonic acid by several plant species*, Plant Physiology, 75(2)458-461(1984).
- Villaescusa R. & Gil M.I., *Quality improvement of Pleurotus mushrooms by modified atmosphere packaging and moisture absorbers*, Postharvest Biol Technol., 28(1):169-179(2003).
- Wang C.Y., *Methyl jasmonate inhibits postharvest sprouting and improves storage quality of radishes*, Postharvest Biol. Technol., 14,179-183(1998).
- Yao H. & Tian S., *Effects of pre-and post-harvest application of salicylic acid or methyl jasmonate on inducing disease resistance of sweet cherry fruit in storage*, Postharvest Biology and Technology, 35(3),253-262(2005).



Zhu Z. & Tian S., *Resistant responses of tomato fruit treated with exogenous methyl jasmonate to Botrytis cinerea infection*, Scientia Horticulturae, 142,38-43(2012).



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 eleştiri 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 Keywords, Türkçe Başlık, Öz ve Anahtar Kelimeler, Introduction, Material and Method, Results, Discussion, References.

Derleme çalışmalarda da mevcut başlıkların (material ve metot hariç) kullanılması gerekir. Bulgular ve Tartışma başlıkları tek başlık altında verilebilir.

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

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

Anahtar Kelimeler: 4-10 kelimedenden oluşmalıdır.

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

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

Kaynak künyeleri aşağıdaki sıraya uygun olarak yazılmalıdır.

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

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

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

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

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

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

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

Eserler "<http://dergipark.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 B Blok Zemin Kat

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



THE JOURNAL OF FUNGUS
e-ISSN 2147-6845
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 all authors do not sign this form, the article will not be processed. All signatures must be original.

The author must upload the Reviewer Suggestion Form, contained at least 5 experts related to his / her article with the contact information (mobile tlf, e-mail address) as an additional file to the system.

To start the process of the Articles as soon as possible; Article, signed **Copyright Release Form** and Reviewer Suggestion Form and Article Final Control Form should be uploaded to the system.

Articles preparation Rules

The article which will be accompanied with the **Copyright Release Form**, must be 1.5 spaced in A4 size, 2 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 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 10 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. Figures must be separate from the main article "jpeg" should be sent to the file. Figure name should be written under figure and should be 10 points. Table name should be written on top of the table and should be 10 points.

Works are sent online at HYPERLINK "<http://dergipark.gov.tr/mantar>" Unspecified subjects must comply with scientific rules.

Contact Address:

S.Ü. Mantarcılık Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğü

Mantar Dergisi Editörlüğü

Fen Fakültesi Binası B Blok Zemin Kat

42079 Kampüs/KONYA-e-posta: HYPERLINK "<mailto:mantarcilik@gmail.com>"



MANTAR DERGİSİ

TELİF HAKKI DEVRİ

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

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

Makalenin Adı :

SORUMLU YAZARIN;

Adı ve Adresi :

Telefon Numaraları

İş : Cep : E-posta : Fax :

Yazar(lar):

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

Buna rağmen yazarların veya varsa yazarların işvereninin;

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

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

İmza..... Tarih..... İsim.....	İmza..... Tarih..... İsim.....
İmza..... Tarih..... İsim.....	İmza..... Tarih..... İsim.....
İmza..... Tarih..... İsim.....	İmza..... Tarih..... İsim.....

Investigation of Oxidant and Antioxidant Status of Edible Mushroom <i>Clavariadelphus truncatus</i>	165-168
Yenilebilir Mantar <i>Clavariadelphus truncatus</i> 'ün Oksidatif ve Antoksidatif Durumunun Araştırılması Mustafa SEVİNDİK	
Bursa Ve Samsun İllerindeki Tereyağlardan İzole Edilen Funguslar Üzerine Araştırmalar.....	169-175
Researches On Fungi Which Isolated From Butters In Bursa And Samsun Cities Hikmet Öznur ÖZTÜRK, Günay Tülay ÇOLAKOĞLU	
Morphology and Phylogeny Reveal a New Record <i>Gyromitra</i> for Turkish Mycobiota.....	176-181
Türkiye Mikrobiyotası İçin Yeni Kayıt <i>Gyromitra</i> 'nın Morfolojik ve Filogenetik Olarak Ortaya Çıkarılması İsmail ACAR, Ayşenur KALMER, Yusuf UZUN, Ayten DİZKIRICI TEKPINAR	
Günlük Kullanılan Spor Tipi Ayakkabılarda Fungal Kontaminasyonun Belirlenmesi.....	182-187
Determination Of Fungal Contamination In Casual Sports Type Shoes Vedat Kadri ÖZKAN, Mustafa Tamer UZUN, Musa Tahir GÜNDOĞAN	
<i>Ganoderma Lucidum</i> 'ün Türkiye'deki Yabancılara Kültür Formlarının Tavuk Embriyoları Üzerindeki Bazı Etkilerinin Karşılaştırılması.....	188-195
Comparison Of Some Effects Of Wild Grown And Cultivated Forms Of <i>Ganoderma Lucidum</i> In Turkey On Chicken Embryos Haluk ÖZPARLAK, Bülent ÇELİK Döndü BALTA	
Bazı Makrofungus Misellerin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi.....	196-205
Determination of Antimicrobial Activities of Some Macrofungi Mycelial Cultures Ayşe EREN, Mehmet AKYÜZ	
Modifiye Atmosfer Ve Metil Jasmonat Uygulamalarının <i>Agaricus bisporus</i> 'ün Hasat Sonrası Kalite Ve Muhafaza Ömrüne Etkileri.....	206-218
Effects Of Modified Atmosphere And Methyl Jasmonate Treatments On The Postharvest Quality And Storage Life Of <i>Agaricus bisporus</i> A.Ş. T. A. 4! e Ü A h F Ü	



İÇİNDEKİLER (CONTENTS)

A new Genus, <i>Schenella</i> , Added to Turkish Mycota from Geastraceae.....	92-94
<i>Türk ye M kotasına Geastraceae'den Yen Br C ns, Schenella, İlaves</i> Hasan Hüseyin DOĞAN	
Yenilebilen Yabani Mantar <i>Morchella esculenta</i> (L.) Pers.'nin Besinsel Kalitesi ve Biyoaktif Özelliklerinin Değerlendirilmesi.....	95-105
<i>Assessment Of The Nutritional Qualities And Bioactive Properties</i> Of The Wild Edible Mushroom <i>Morchella esculenta</i> (L.) Pers. Hilal ACAY	
A New Species Record For Turkey Mycobiota <i>Macrophoma strob</i>	106-109
<i>Türkiye Mikobiyotası İçin Yeni Bir Tür Kaydı</i> <i>Macrophoma strob</i> Faruk SELÇUK, Merve ULUKAPI, Tuğba GÜNDOĞAN	
<i>Suillus lakei</i> , An Interesting Record For Turkish Mycobiota.....	110-116
<i>Suillus lakei</i> , Türkiye Mikobiyotası İçin İlginç Bir Kayıt İlgaz AKATA, Hasan Hüseyin DOĞAN, Öyküm ÖZTÜRK, Fuat BOZOK	
Mantarlardan Elde Edilen Alkaloidler.....	117-125
<i>Alkaloids from Mushrooms</i> Büşra FENDOĞLU, Ayşe KURUÜZÜMUZ, Didem ŞÖHRETOĞLU	
Edirne İli Söğütlük Ormanı Toprağından İzole Edilen <i>Aspergillus</i> Türlerinin Biyoçeşitliliği.....	126-141
<i>Biodiversity Of Aspergillus Species Isolated From Sogutluk Forest Soil Of Edirne City</i> Eda Gizem AYAN, Ahmet ASAN, Burhan SEN, Suzan OKTEN	
<i>Septoria</i> Sacc. (<i>Mycosphaerellales</i>) Species Determined in Aladağlar and Bolkar Mountains (Turkey).....	142-147
<i>Aladağlar ve Bolkar Dağları'ndan Belirlenen Septoria Sacc. (Mycosphaerellales) Türleri</i> Şanlı KABAKTEPE, İlgaz AKATA	
Erzincan Tulum Peynirlerinden İzole Edilen Fungal Türler.....	148-154
<i>Fungal Species Isolated from Erzincan Tulum Cheeses</i> Gülçin ERKOL, Günay Tülay ÇOLAKOĞLU	
<i>Plectaneria ericae</i> , a New Record for Turkey from Sarcosomataceae.....	155-157
<i>Plectaneria ericae</i> , Sarcosomataceae'den Türkiye İçin Yeni Bir Kayıt Yasin UZUN, Abdullah KAYA	
Effect of Combinations of Salt and Temperature on Morphological Characteristics of Microfungi.....	158-164
<i>Mikrofungusların Morfolojik Karakterleri Üzerine Tuz Ve Sıcaklık Kombinasyonlarının Etkisi</i> Orkun KAYIŞ, Semra İLHAN, Rasime DEMİREL	

Devamı kapak içindedir.



Ekim 2018

Cilt:9

Sayı:2

e-ISSN 2147-6845

E-DERGI

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

MANTARCILIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ-KONYA-TÜRKİYE