



## Bazı Yabani Makrofungus Misellerinin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi

Fatih KALYONCU<sup>1</sup>, Mustafa OSKAY<sup>1</sup>, Erbil KALMIŞ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Celal Bayar Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Muradiye, Manisa

<sup>2</sup>Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Bornova, İzmir

### Özet

Bu çalışmada, Türkiye'nin özellikle Akdeniz bölgesinden toplanan 21 yabani makrofungus türünden (*Agaricus bresadolanus*, *Auricularia auricula-judae*, *Chroogomphus rutilus*, *Fomes fomentarius*, *Ganoderma lucidum*, *Gloeophyllum trabeum*, *Gymnopus dryophilus*, *Infundibulicybe geotropa*, *Inocybe flocculosa* var *crocifolia*, *Inocybe catalaunica*, *Lentinula edodes*, *Lentinus sajor-caju*, *Lycoperdon excipuliforme*, *Macrolepiota excoriata*, *Morchella esculenta* var. *rigida*, *Morchella intermedia*, *Omphalotus olearius*, *Pleurotus djamor*, *Postia stiptica*, *Rhizopogon roseolus* ve *Stropharia inuncta*) elde edilen misellerin antimikrobiyal aktivite potansiyelleri araştırılmıştır. Antimikrobiyal aktivitenin belirlenebilmesi için misellerin etanol ekstraktları agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile 11 test mikroorganizmasına karşı denenmiştir. Çalışma neticesinde, kullanılan makromantar türleri içinde *Ganoderma lucidum* en etkili tür olarak belirlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Antimikrobiyal aktivite, Makrofungus, Misel, Türkiye

## Determination of Antimicrobial Activities of Some Wild Macrofungi Mycelial Cultures

### Abstract

In this study, antimicrobial activities of mycelia obtained from 21 wild macrofungi (*Agaricus bresadolanus*, *Auricularia auricula-judae*, *Chroogomphus rutilus*, *Fomes fomentarius*, *Ganoderma lucidum*, *Gloeophyllum trabeum*, *Gymnopus dryophilus*, *Infundibulicybe geotropa*, *Inocybe flocculosa* var *crocifolia*, *Inocybe catalaunica*, *Lentinula edodes*, *Lentinus sajor-caju*, *Lycoperdon excipuliforme*, *Macrolepiota excoriata*, *Morchella esculenta* var. *rigida*, *Morchella intermedia*, *Omphalotus olearius*, *Pleurotus djamor*, *Postia stiptica*, *Rhizopogon roseolus* and *Stropharia inuncta*) collected from Mediterranean region of Turkey were investigated. For determination of antimicrobial activities of these macrofungi, ethanol extracts were examined on 11 test microorganisms by agar well diffusion method. *Ganoderma lucidum* was the most active species against both bacteria and yeast.

**Key words:** Antimicrobial activity, Macrofungi, Mycelium, Turkey

### Giriş

Makromantarların tıbbi amaçlı kullanımı özellikle Asya ülkelerinde çok eski bir gelenek olmasına karşın Kuzey yarımkürede ancak son yirmi yılda dikkate değer bir artış göstermiştir. Bu durumun bir göstergesi olarak dünya genelinde 1991 yılında tıbbi amaçlı kullanılan makromantarların pazar değeri 1.2 milyar dolar iken 2001 yılında bu rakam altı milyar dolara yükselmiştir (Lindequist et al. 2005). Günümüzde bilinen yaklaşık on bin makromantar türü içinde tıbbi etkileri olabilecek türlerin oranı sadece % 5'tir ve bu türler hakkındaki bilgi birikimi de maalesef oldukça azdır (Mau et al. 2001).

Günümüze değin yapılan bilimsel araştırmalar sonucu bazı makromantar türlerinin antibakteriyel, antifungal, antiviral ve antiprotozoal özellik gösteren çeşitli kimyasal bileşiklere sahip oldukları belirlenmiştir. Organizma yaşadığı

ortamda varlığını sürdürebilmek ve çevresindeki rekabetçi türlere üstünlük sağlayabilmek için bu tür kimyasallara ihtiyaç duymaktadır (Solak et al. 2006).

Bu kimyasalların etki düzeyleri zayıf veya kuvvetli olabilmektedir fakat henüz eczanelerde makromantarlardan izole edilerek satışa sunulmuş herhangi bir antibiyotik özellikli ilaç bulunmamaktadır. Kullanılan antibiyotiklerin pek çoğu mikromantarlardan ve aktinomisetlerden izole edilerek hazırlanmaktadır. Ancak, son dönemde üzerinde önemle durulan ve bilinen antibiyotiklere karşı direnç göstererek özellikle hastanelerde tedavi gören kişilerde ölümlere yol açabilen metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*'a karşı *Ganoderma pfeiffer*'nin sentezlediği ganomisinin etkili olduğu ve bu bakterinin üremesini engellediği ortaya konulmuştur (Russell ve Paterson, 2006).



Bugüne değin makromantarlar ile yapılan biyolojik aktivite çalışmaları incelendiğinde iki durum ön plana çıkmaktadır. Bunlardan birincisi çalışmaların büyük bir çoğunluğunun doğadan toplanan şapkalar ile yapılmış olmasıdır (Dülger et al. 2002; Duman et al. 2003; Solak et al. 2006). Bu çalışmalar sonucunda etkili türler bulunmasına rağmen şapkanın yılın belirli bir döneminde ortaya çıkması veya bazı yıllar ortam koşulları uygun olmadığı için hiç oluşmaması düzenli olarak etkin maddelerin eldesini imkânsız kılmaktadır. Bu bakımdan şapkadan ziyade mantara ait miselde ya da miselin yetiştirildiği ortamda etkin madde aramak, bulunması halinde yılın her döneminde üzerinde çalışma ve yeterince üretme imkânı sağlaması açısından oldukça önemlidir (Hatvani, 2001; Sarangi et al. 2006). Diğer bir önemli husus da günümüze değin yapılan makromantar çalışmalarının oldukça az sayıda tür ile sınırlı olmasıdır (Dülger ve Arslan, 1999; Wang ve Ng, 2004; Mau et al. 2005). Genellikle etken maddeye sahip olduğu anlaşılan az sayıda tür üzerinde detaylı, çok sayıda çalışma yapılmıştır ve bu durumun sonucunda geride çalışılması gereken oldukça çok sayıda makromantar türü kalmıştır.

Çalışmamızda ülkemizin özellikle Akdeniz bölgesinden toplanan yabancı makromantarlardan elde edilen misel koleksiyonundaki bazı bireylerin antimikrobiyal aktivite potansiyelleri ortaya konulmaya çalışılmıştır. Yapılan literatür analizinde çalışmamızda kullanılan makrofungus türlerinin çoğu hakkında benzer bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

### **Materyal ve Metot**

#### **Makrofungus Misellerinin Çoğaltılması**

Çalışmamız kapsamında öncelikle kültür koleksiyonunda bulunan farklı türlere ait yabancı makrofungus miselleri koleksiyonun bulunduğu Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü'nden stok kültürler halinde alınarak çalışmanın yürütüldüğü Celal Bayar Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü'ne getirilmişlerdir. Toplam 21 yabancı makrofungus türüne ait misel üzerinde çalışma yapılmıştır. Kullanılan türlerin isimleri, familyaları ve koleksiyon numaraları Tablo 1'de verilmiştir.

Çalışmamıza uzun süre +4°C'de tutulan stok kültürdeki misellerin metabolik aktivitelerinin artırılması işlemi ile başlanmıştır. Bu amaçla

miseller içerisinde steril Patates Dekstroz Agar (PDA – Merck 110130) ve Hagem Ortamı (malt ekstrakt: 4.0 gr; yeast ekstrakt: 1.0 gr; glikoz: 5.0 gr; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>: 0.5 gr; MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O: 0.5 gr; NH<sub>4</sub>Cl: 0.5 gr; FeCl<sub>3</sub> (% 1 sulu çözelti: 0.5 ml; thiamine: 1 mg/ml sulu çözelti; agar: 12.0 gr; distile su: 1.0 L) bulunan petri kaplarına aseptik koşullar altında aktarılıp 27°C'de 7 – 15 gün süre ile inkübasyona bırakılmışlardır (Kalmış ve Kalyoncu, 2008). Bazı makrofungus türlerine ait misellerin PDA ortamında istekli gelişim göstermemesi nedeni ile tüm türler için ayrıca Hagem Ortamı kullanılması gerekmiştir. Miseller petri kaplarındaki gelişimlerini tamamlayınca çalışmamızda kullanılacak olan biomass eldesi için steril Patates Dekstroz Broth ve Hagem Broth ortamlarına aktarılmışlardır. Bu aşılama işlemi için miselle kaplı olan katı ortamdaki aseptik koşullarda 6 mm çapında diskler çıkarılmış ve steril sıvı besiyerleri bu diskler ile aşılanmıştır. Aşılama işlemi sonrası sıvı besiyeri içeren erlenler karanlıkta ve 27°C'de inkübasyona alınmışlardır. İnkübasyon türe göre değişmekle birlikte 20 – 40 gün sürdürülmüştür ve sıvı kültür içerisindeki misellerin artan oksijen ihtiyaçlarının karşılanabilmesi için erlenler dakikada 160 rpm devirle çalkalanmışlardır (Hatvani, 2001).

İnkübasyon periyodu sonunda miseller aseptik koşullarda sıvı ortamdaki süzölmüşlerdir. Elde edilen miseller öncelikle steril distile su ile yıkanmış ve fazla suyun uzaklaşması için kurutma kâğıdı üzerinde bir süre bekletilmişlerdir. Daha sonra miseller 35°C'de 1 – 2 gün süre ile tutularak tamamen kurutulmuşlardır.

#### **Misellerden Ham Özüt Eldesi (Ekstraksiyon)**

Kurutulan miseller ile derhal ekstraksiyon işlemine geçilmiştir. Bunun yanında, süzölen kültür sıvıları da steril erlenlerde toplanmıştır. Kültür sıvılarının da herhangi bir antimikrobiyal aktiviteye sahip olup olmadıkları araştırılmıştır. Kurutulan miseller öncelikle sterilize edilmiş elektrikli öğütücü kullanılarak toz haline getirilmiştir. Her bir türe ait misel tozları steril erlenlere alınmış ve üzerlerine 25'er ml etanol ilave edilerek 30°C'de 3 gün süre ile 125 rpm de çalkalanmışlardır. Bu şekilde ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir.



Ekstraksiyon işlemi sonunda etanol kurutma kâğıdı kullanılarak süzölmüş ve evaporatörde uçurularak her bir türe ait ekstraktlar elde edilmiştir.

Antimikrobiyal etki denemelerinde misel ekstraktları etanolde çözümlenerek kullanılmıştır (Oskay ve Sarı, 2007).

**Tablo 1.** Çalışmada kullanılan makrofungus türlerinin isimleri, familyaları ve koleksiyon numaraları

No	Tür	Familiya	Koleksiyon Numarası*
1	<i>Omphalotus olearius</i> (DC.) Singer	Marasmiaceae	MCC-03
2	<i>Gloeophyllum trabeum</i> (Pers.) Murrill	Gloeophyllaceae	MCC-05
3	<i>Inocybe flocculosa</i> var. <i>crocifolia</i> (Berk.) Sacc.	Inocybaceae	MCC-06
4	<i>Gymnopus dryophilus</i> (Bull.) Murrill	Marasmiaceae	MCC-09
5	<i>Infundibulicybe geotropa</i> (Bull.) Harmaja	Tricholomataceae	MCC-10
6	<i>Lycoperdon excipuliforme</i> (Scop.) Pers.	Agaricaceae	MCC-12
7	<i>Postia stiptica</i> (Pers.) Jülich	Fomitopsidaceae	MCC-13
8	<i>Macrolepiota excoriata</i> (Schaeff.) Wasser	Agaricaceae	MCC-14
9	<i>Pleurotus djamor</i> (Rumph. Ex Fr.) Boedijn	Pleurotaceae	MCC-15
10	<i>Inocybe catalaunica</i> Singer	Inocybaceae	MCC-17
11	<i>Rhizopogon roseolus</i> (Corda.) Th. Fr.	Rhizopogonaceae	MCC-18
12	<i>Fomes fomentarius</i> (L.) J. Kickx f.	Polyporaceae	MCC-19
13	<i>Chroogomphus rutilus</i> (Schaeff.) O.K. Mill.	Gomphidiaceae	MCC-21
14	<i>Morchella esculenta</i> var. <i>rigida</i> (Krombh.) I.R. Hall	Morchellaceae	MCC-24
15	<i>Agaricus bresadolanus</i> Bohus	Agaricaceae	MCC-28
16	<i>Lentinus sajor-caju</i> (Fr.) Fr.	Polyporaceae	MCC-29
17	<i>Morchella intermedia</i> Boud.	Morchellaceae	MCC-30
18	<i>Auricularia auricula-judae</i> (Bull.) Quel.	Auriculariaceae	MCC-47
19	<i>Ganoderma lucidum</i> (Curtis) P. Karst.	Ganodermataceae	MCC-52
20	<i>Lentinula edodes</i> (Berk.) Pegler	Marasmiaceae	MCC-55
21	<i>Stropharia inuncta</i> (Fr.) Quel.	Strophariaceae	MCC-59

\*MCC: Mushroom Culture Collection

Kültür sıvılarının da direkt olarak antimikrobiyal aktivite potansiyelleri incelenmiştir. Bu amaçla her bir türe ait kültür sıvısından steril koşullarda 1'er ml alınarak eppendorf tüplerine aktarılmış ve bu tüpler 8000 rpm de 10 dakika süre ile santrifüj işlemine tabi tutulmuşlardır. Bu işlem sonrası elde edilen tüplerde oluşan üst faz (süpernatant) antimikrobiyal aktivite tespitinde kullanılmıştır.

#### Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi

Antimikrobiyal aktivite tespiti çalışmalarında aşağıdaki test mikroorganizmaları kullanılmıştır.

*Escherichia coli* ATCC 39628, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, *Proteus vulgaris* ATCC 8427, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Bacillus cereus* CM 99, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Sarcina lutea* ATCC 9341NA, *Salmonella typhimurium* CCM 5445, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Enterobacter cloacae* ATCC 13047D ve *Candida albicans* ATCC 10231.



Bu test mikroorganizmalarından 10 tanesi bakteri ve bir tanesi de (*Candida albicans*) mikrofungustur. Test mikroorganizmaları Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Anabilim Dalı kültür koleksiyonundan alınmıştır. Şapkalı mantar türlerine ait misel ekstraktlarının antimikrobiyal aktivite taramaları agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile yapılmıştır. Bu yöntemde besiyeri olarak bakteriler için Mueller Hinton Agar (MHA – Merck 1.05437), mikrofunguslar için ise Patates Dekstroz Agar kullanılmıştır. Test mikroorganizmalarından bakteriler Mueller Hinton Broth, maya ise Patates Dekstroz Broth içine aşıl原因arak uygun sıcaklık derecesinde bir gece (maya 2 gece) bekletilmişlerdir. Uzun süredir soğuk koşullarda bekletilen mikroorganizmalar bu şekilde aktif hale getirilmiş ve sayıca artış sağlanmıştır. Daha sonra test mikroorganizmalarının yoğunluğu McFarland skalası No: 0,5 yardımıyla  $1.0 \times 10^6$  koloni oluşturan birim (kob)/ml'ye (*C. albicans* ise  $1.0 \times 10^4$  kob/ml) ayarlanmış ve içerisinde 25 ml uygun steril besiyeri bulunan petri kaplarına 50 µl aktarılarak steril eküvyon çubuk yardımıyla tüm besiyeri yüzeyine dağıtılmıştır. 30 dakika beklenerek besiyerinin aktarılan test organizmasını emmesi sağlanmış, ardından steril koşullarda agar yüzeyinde 6 mm çapında 5'er adet kuyucuk açılmıştır. Bu kuyucuklara her bir makromantar türünden elde edilen farklı çözücülerdeki misel ekstraktlarından ve santrifüjlenmiş kültür sıvısından 60 µL steril koşullarda aktarılmıştır. Ayrıca aynı miktarda etanol de negatif kontrol amacıyla kuyucuklara aktarılmıştır. Bunların yanı sıra karşılaştırma yapabilmek amacı ile dört farklı standart ticari antibiyotiğe [Nalidiksik asit (30µg/disk); Novobiosin (30µg/disk); Penisilin G (10 i.u./disk); Nistatin (10µg/disk)] ait diskler de petri kaplarına yerleştirilmişlerdir (pozitif kontrol). Daha sonra petri kapları uygun sıcaklık değerlerinde 24 – 48 saat süre ile inkübasyona alınmıştır. İnkübasyon sonunda kuyucukların etrafında görülen inhibisyon zonları milimetrik olarak ölçülerek kaydedilmiştir (Oskay ve Sarı, 2007).

### İstatistiksel Hesaplamalar

Bu çalışmada yapılan tüm denemeler 3 tekrarlı olacak şekilde yapılmıştır. Elde edilen değerlerin aritmetik ortalamaları alınarak sonuca ulaşılmıştır.

### Bulgular ve Tartışma

Çalışmamızda kullanılan 21 makromantar türüne ait misellerin etanol ekstrelere ait % verim değerleri Tablo 2'de verilmiştir. En yüksek ekstre verimi değerleri sırasıyla *Postia stiptica* (32.2), *Lentinula edodes* (26.94) ve *Auricularia auricula-judae*'ye (21.47) ait misellerden elde edilmiştir. En düşük ekstre verimi ise *Pleurotus djamor'* a (2.16) aittir.

**Tablo 2.** Misellerin etanol ekstresi verimleri (%)

No	Tür	Etanol Ekstre Verimi (%)
1	<i>Omphalotus olearius</i>	7.06
2	<i>Gloeophyllum trabeum</i>	7.73
3	<i>Inocybe flocculosa</i> var. <i>crocifolia</i>	7.60
4	<i>Gymnopus dryophilus</i>	15.08
5	<i>Infundibulicybe geotropa</i>	19.01
6	<i>Lycoperdon excipuliforme</i>	14.01
7	<i>Postia stiptica</i>	32.20
8	<i>Macrolepiota excoriata</i>	6.25
9	<i>Pleurotus djamor'</i>	2.16
10	<i>Inocybe catalaunica</i>	7.73
11	<i>Rhizopogon roseolus</i>	6.72
12	<i>Fomes fomentarius</i>	5.79
13	<i>Chroogomphus rutilus</i>	5.40
14	<i>Morchella esculenta</i> var. <i>rigida</i>	6.39
15	<i>Agaricus bresadolanus</i>	4.30
16	<i>Lentinus sajor-caju</i>	8.40
17	<i>Morchella intermedia</i>	21.09
18	<i>Auricularia auricula-judae</i>	21.47
19	<i>Ganoderma lucidum</i>	4.94



Çalışmamız süresince misel çoğaltımı amacı ile hazırlanıp kullanılan ve süzme işlemi sonrasında ayrı bir şekilde toplanıp incelemeye tabi tutulan kültür sıvılarında herhangi bir antimikrobiyal aktivite tespit edilmemiştir. Misel ekstraktları ile yapılan denemeler neticesinde ise farklı seviyelerde antimikrobiyal etki değerleri belirlenmiştir. Misellerin etanol ekstraktlarının test mikroorganizmaları üzerindeki inhibisyon zonu değerleri Tablo 3'de verilmiştir.

Çalışmamız kapsamında miselleri kullanılan makrofungus türlerinin çoğunun antimikrobiyal aktiviteye sahip olmadığı veya zayıf aktivite gösterdiği saptanmıştır. En yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip tür *Ganoderma lucidum* (MCC-52) olarak belirlenmiştir. Bu tür test mikroorganizmalarının çoğu üzerinde farklı düzeylerde inhibisyon etkisi göstermiştir (Tablo 3). İnhibisyon gösterdiği mikroorganizmalar üzerindeki etkisi standart antibiyotiklerin bazılarında daha iyi, bazılarında ise yakın değerlerdedir. *Enterobacter cloacae* üzerindeki inhibisyon değeri 20 mm iken; Novobiosinin 22, Penisilin G'nin 12 ve Nalidiksik asitin 12 mm dir. Penisilin G ve Novobiosine dirençli *E. coli* üzerinde 13 mm; Nistatinin 22 mm zon çapı oluşturduğu *C. albicans* üzerinde ise 16 mm inhibisyon göstermiştir. Antimikrobiyal etki düzeyi bakımından bu türü sırasıyla *Rhizopogon roseolus*, *Stropharia inuncta* ve *Lentinula edodes* izlemektedir. Bu türlerin dışındaki makromantar türlerinin zayıf antimikrobiyal etkiye sahip oldukları belirlenmiştir. Negatif kontrol amacı ile kullanılan etanolün de bazı mikroorganizmaların gelişmesini 8 – 10 mm zon çapı ile engellediği göz önüne alınırsa zayıf etkili bazı türlerin gerçekte hiçbir antimikrobiyal etkiye sahip olmadıkları söylenebilir (Tablo 3).

*G. lucidum* üzerinde günümüze değin pek çok araştırma yapılmıştır. Bu tür tıbbi amaçlı olarak yüzyıllardır Çin, Japonya ve Kore'de kullanılmaktadır. *G. lucidum*'un coğrafik bölgelere göre değişen pek çok yerel ismi olmakla birlikte dünya genelinde bilinen ismi reishidir (Xie et al. 2006). Bu tür üzerinde yapılmış çalışmalar çoğunlukla türün antioksidan, antidiyabetik, antitümör ve antimetastaz etkilerinin belirlenmesine yönelik olmuştur (Wang ve Ng, 2006). Diğerlerine göre daha az sayıda olmakla birlikte *G. lucidum*'un antibakteriyel ve antifungal özelliklerini saptamaya yönelik çalışmalar da

bulunmaktadır (Gao et al. 2005; Russell ve Paterson, 2006). Bu çalışmalarda *Ganoderma* genusuna dâhil türlerin içerdikleri triterpenoidler (ganoderik asit, ganodermik asit ve lucidenik asit türevleri), peptidoglikanlar (ganoderans B ve C) ve hidrokuinonlar (ganomisin A ve B) ile çeşitli gram pozitif ve negatif bakteriler ve funguslar üzerinde inhibisyon etkisi gösterdikleri belirtilmiştir.

Makromantarlar ile ilgili literatür incelendiğinde yapılan antimikrobiyal aktivite çalışmalarının çok büyük bir kısmının doğadan toplanan veya yetiştirilen mantarların şapkaları kullanılarak yapıldığı görülecektir. Misellerin kullanıldığı çalışma sayısı oldukça azdır. Şapkadan misel eldesinin zahmetli ve titiz bir çalışma gerektirmesi, elde edilen miselleri canlı muhafaza edebilmenin ve çalışma için yeter miktarlarda çoğaltılmalarının da zorlukları göz önünde bulundurulduğunda araştırmacılar daha kolay bir yöntem olan şapka ile çalışma yolunu tercih etmektedirler. Ancak şapka oluşumunun bağlı olduğu ekolojik koşulların her zaman gerçekleşmemesi bir lokaliteden toplanan şapka örneklerinin aynı lokaliteden tekrar toplanmasını zorlaştırmaktadır. Makrofungusa ait misel ile çalışma yürütmenin zorlukları yanı sıra mevsimsel faktörlere bağlı olmadan çalışabilme ve saptanan etken maddelerin istenilen miktarda çoğaltılan miselden elde edilebilmesi gibi avantajlı yönleri de bulunmaktadır.

Yapılan literatür incelemesinde çalışmamız gibi çok sayıda yabancı makrofungus misellerinin kullanıldığı geniş çaplı bir araştırmaya rastlanılmamıştır. Önceki çalışmalar ile bir kıyaslama yapılacak olursa; Yamaç ve Bilgili (2006) çalışmalarında on farklı makrofungus strainine ait misellerin antimikrobiyal aktivitelerini incelemişler ve sonuçta *Clavariadelphus truncatus* ve *Trametes versicolor*'un yüksek antibakteriyel etkiye sahip olduklarını belirtmişlerdir.

Gerasimenya et al. (2002) Rusya'nın Moskova kenti yakınlarından topladıkları *Pleurotus ostreatus*'a ait 14 strainin antimikrobiyal aktivite denemelerinde makrofunguslara ait şapka ve misel formlarını kullanmışlar ve sonuç olarak her iki formun etanol ekstratlarından şapkada orta düzeyde antifungal etkinin miselde ise yüksek düzeyde antibakteriyel etkinin var olduğunu rapor etmişlerdir.



**Tablo 3.** Misellerin etanol ekstraktlarının antimikrobiyal aktivite sonuçları (zon çapı / mm)

Makromantar Türleri	Test Mikroorganizmaları*										
	EC	SA	SL	ST	CA	EF	PV	ECL	BS	BC	EA
<i>Omphalotus olearius</i>	---	---	---	12	---	---	---	---	12	---	---
<i>Gloeophyllum trabeum</i>	8	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
<i>Inocybe flocculosa</i> var. <i>crocifolia</i>	---	---	---	---	---	---	---	10	12	---	---
<i>Gymnopus dryophilus</i>	---	---	---	---	12	12	---	---	8	8	---
<i>Infundibulicybe geotropa</i>	---	---	---	---	---	---	---	---	8	---	---
<i>Lycoperdon excipuliforme</i>	---	---	---	---	---	---	---	14	10	---	---
<i>Postia stiptica</i>	8	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
<i>Macrolepiota excoriata</i>	---	8	---	---	---	---	---	---	8	8	---
<i>Pleurotus djamor</i>	---	---	---	---	12	---	---	8	12	---	---
<i>Inocybe catalaunica</i>	---	---	---	---	---	---	---	12	---	---	---
<i>Rhizopogon roseolus</i>	10	---	10	10	10	10	10	12	12	12	---
<i>Fomes fomentarius</i>	---	---	---	8	---	---	---	10	---	---	---
<i>Chroogomphus rutilus</i>	---	---	---	---	---	---	---	10	8	8	---
<i>Morchella esculenta</i> var. <i>rigida</i>	20 <sup>k</sup>	---	---	---	---	---	---	---	14	---	---
<i>Agaricus bresadolanus</i>	---	---	---	---	---	---	---	---	8	8	---
<i>Lentinus sajor-caju</i>	12 <sup>k</sup>	---	---	10	---	---	---	---	14	---	---
<i>Morchella intermedia</i>	---	---	---	---	---	---	---	10	8	---	---
<i>Auricularia auricula-judae</i>	---	---	10	---	12	---	---	10	8	8	---
<b><i>Ganoderma lucidum</i></b>	<b>13</b>	<b>12</b>	<b>14</b>	---	<b>16</b>	<b>16</b>	---	<b>20</b>	<b>14</b>	<b>16</b>	<b>10</b>
<i>Lentinula edodes</i>	10	---	10	---	10	---	10	10	10	10	---
<i>Stropharia inuncta</i>	8	10	14	12	10	---	---	---	10 <sup>k</sup>	---	8
Nalidiksik asit (30 µg/disk)	26	20	10 <sup>k</sup>	6 <sup>k</sup>	6	30	12 <sup>k</sup>	12 <sup>k</sup>	32	28	26
Novobiosin (30 µg/disk)	6 <sup>k</sup>	32	28	40	6	28	26	22	13 <sup>k</sup>	25	17 <sup>k</sup>
Penisilin G (10 i.u./disk)	6 <sup>R</sup>	24	20 <sup>R</sup>	6 <sup>R</sup>	6	24	10 <sup>kR</sup>	12 <sup>R</sup>	8 <sup>kR</sup>	10 <sup>R</sup>	6 <sup>R</sup>
Nistatin (10 µg/disk)	ND	ND	ND	ND	22	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Etanol (negatif kontrol)	---	8	8	10	10	---	---	---	---	---	---

\* Test mikroorganizmaları; EC: *Escherichia coli*; SA: *Staphylococcus aureus*; SL: *Sarcina lutea*; ST: *Salmonella typhimurium*; CA: *Candida albicans*; EF: *Enterococcus faecalis*; PV: *Proteus vulgaris*; BS: *Bacillus subtilis*; BC: *Bacillus cereus*; EA: *Enterobacter aerogenes*; ECL: *Enterobacter cloacae*; R: dirençli, ND: belirlenmedi, k: kısmi inhibisyon; - : aktivite yok, çukur çapı (6 mm)' ye eşit,

Efremenkova et al. (2003) Rusya'nın farklı bölgelerinden topladıkları *Coprinus* genusuna dâhil altı farklı türe ait 14 strain üzerinde antimikrobiyal aktivite çalışması yapmışlardır. Bu çalışmada tüm strainlere ait misellerin etanol ekstraktları test mikroorganizmaları üzerinde denenmiş ve *C. digitalis* türüne ait misellerin geniş bir antimikrobiyal aktivite gösterdiği ve beta-laktam grubu antibiyotiklere dirençli *S. aureus* (MRSA) ve glikopeptid türü antibiyotiklere dirençli *Leuconostoc mesenteroides* üzerinde de etkili olduğu rapor edilmiştir.

Fungal organizmaların sahip oldukları antimikrobiyal aktivite düzeylerinin sekonder metabolizma ürünleri ile oluştuğu bilinmektedir (Calvo et al. 2002).

Farmakolojik açıdan aktif makrofungus bileşiklerini genellikle polisakkaritler ya da peptidoglikanlar oluşturmaktadır. Bu tür bileşiklerin in-vitro ve in-vivo'da izolasyonları, kimyasal yapılarının aydınlatılması çalışmaları hızla artmaktadır. 182 cinsine dâhil 651 hetero- ve homobasidiomycetes sınıfına ait makrofungus türünde antitümoral ya da bağışıklık sistemini güçlendirici farklı polisakkaritler bulunduğu belirtilmektedir. Daha önceki çalışmalarla; *Lentinus* (*Lentinula*) *edodes*, *Schizophyllum commune*, *Grifola frondosa* ve *Sclerotinia sclerotiorum* makrofunguslarında özellikle β-glukanlar, lentinan, schizophyllan (sonifilan ya da sizofiran) ve grifolanın varlığı tespit edilmiştir (Fan et al. 2006).



Fungus ekstraktlarının sitotoksik ve antitümoral aktivitelerinin belirlenmesiyle ilgili çok sayıda araştırma mevcuttur. Bu tür çalışmalarda dikkati çeken bir husus bazı fungus özütlerinin tek başına değil de belli dozlarda bazı ilaçlarla beraber kullanıldıklarında bu ilaçların etkisini önemli derecelerde artırdığıdır (sinerjistik etki). Bu yönde son zamanlarda yapılan ilginç bir çalışmada; *P. ostreatus* ekstraktlarının sitostatik ilaçlar doxorubicine ve cyclophosphamide ile beraber transforme insan hücrelerinde (HeLa ve myeloid lösemi hücreleri) apoptatik hücreleri artırdığı tespit edilmiştir. (Polyakov et al. 2007). Bu açıdan yaklaşıldığında çalışmamızda herhangi bir antimikrobiyal aktivite göstermeyen türlerin olası sinerjistik etki düzeylerinin de farklı kimyasallar kullanılarak incelenmesi gerekliliği ortaya çıkmaktadır.

Çalışmamız ülkemizden toplanan makromantarların kullanıldığı ve çok sayıda türün antimikrobiyal etki düzeyinin incelendiği bir çalışmadır. Çalışmamızın temelini makromantar

misellerinin oluşturuyor olması da ayrı bir özgünlük kazandırmaktadır. Denemelerde misellerden elde edilen ham özütler kullanılmıştır. Bu ham özütlerin farklı karakterde birçok kimyasal bileşik içerdiği bilinen bir gerçektir. Bundan sonraki araştırmalar için aktif olduğu belirlenen türlerden elde edilecek özütlerin içerdikleri kimyasal bileşiklerin ayrıştırılması ve elde edilen her bir bileşiğin ayrı ayrı aktivite düzeylerinin belirlenmesi önerilmektedir. Bu şekilde elde edilecek aktif bileşikler ilaç ve gıda endüstrisinde kullanım imkânı bulabileceklerdir. Çalışmamız sonuçlarının literatürdeki boşlukları doldurarak ileriki araştırmalara ışık tutacağı ve ülkemiz makromantarları için yeni kullanım alanları açacağı düşünülmektedir.

#### Teşekkür

Bu çalışmanın gerçekleşmesi için finansal destek veren Tübitak'a (proje no: 107T668) teşekkür ederiz.

#### Kaynaklar

- Calvo A.M., Wilson R.A., Bok J.W., Keller N.P., *Relationship between secondary metabolism and fungal development*, Microbiology and Molecular Biology Reviews, 66, 447-459 (2002).
- Duman R., Doğan H.H., Ateş A., *Morchella conica (Pers.) Boudier ve Suillus luteus (L.) S.F. Gray makrofunguslarının antimikrobiyal aktiviteleri*, S.Ü. Fen Ed. Fak. Dergisi, 22, 19-24, (2003).
- Dülger B., Arslan Ü., *Coriolus versicolor (L. ex. Fr.) Quel makrofungusunun antimikrobiyal aktivitesi*, Turkish Journal of Biology, 23, 385-392, (1999).
- Dülger B., Yılmaz F., Gücin F., *Antimicrobial activity of some Lactarius species*, Pharmaceutical Biology, 40, 304-306, (2002).
- Efremenkova O.V., Ershova E.Y., Tolstych I.V., Zenkova V.A., Dudnik Y.V., *Antimicrobial activity of medicinal mushrooms from the Genus Coprinus (Fr.) S. F. Gray (Agaricomycetideae)*, International Journal of Medicinal Mushrooms, 5, 37-41, (2003).
- Fan L., Pan H., Soccol A.T., Pandey A., Soccol C.R., *Advances in mushroom research in the last decade*, Food Technology and Biotechnology, 44, 303-311, (2006).
- Gao Y., Tang W., Gao H., Chan E., Lan J., Li X., Zhou S., *Antimicrobial activity of the medicinal mushroom Ganoderma*, Food Reviews International, 21, 211-229, (2005).
- Gerasimenya V.P., Efremenkova O.V., Kamzolkin O.V., Bogush T.A., Tolstych I.V., Zenkova V.A., *Antimicrobial and antitoxic action of edible and medicinal mushroom Pleurotus ostreatus (Jacq.: Fr.) Kumm. extracts*, International Journal of Medicinal Mushrooms, 4, 127-132, (2002).
- Hatvani N., *Antibacterial effect of the culture fluid of Lentinus edodes mycelium grown in submerged liquid culture*, International Journal of Antimicrobial Agents, 17, 71-74, (2001).
- Kalmış E., Kalyoncu F., *The effects of some environmental parameters on mycelial growth of two ectomycorrhizal fungi, Tricholoma caligatum and Morchella angusticeps*, Mycologia Balcanica, 5, 115-118, (2008).
- Lindequist U., Niedermeyer T.H.J., Jülich W.D., *The pharmacological potential of mushrooms*, eCAM, 2, 285-299, (2005).



- Mau J.L., Lin H.C., Chen C.C., *Non-volatile components of several medicinal mushrooms*, Food Research International, 34, 521–526, (2001).
- Mau J.L., Tsai S.Y., Tseng Y.H., Huang S.J., *Antioxidant properties of methanolic extracts of Ganoderma tsugae*, Food Chemistry, 93, 641-649, (2005).
- Oskay M., Sarı D., *Antimicrobial screening of some Turkish medicinal plants*, Pharmaceutical Biology, 45, 176–181, (2007).
- Polyakov V.Y., Kiryanov G.I., Gerasimenya V.P., Orlov A.E., Lazareva E.M., Murasheva M.I., Chentsov Y.S., *Synergistic effects of mycelial fungus (Pleurotes ostreatus) extracts and some cytostatic drugs on proliferation and apoptosis in transformed human cells*, Biochemistry (Moscow) Supplement Series A: Membrane and Cell Biology, 1, 301–309, (2007).
- Russell R., Paterson M., *Ganoderma – A therapeutic fungal biofactory*, Phytochemistry, 67, 1985–2001, (2006).
- Sarangı I., Ghosh D., Bhutia S.K., Mallick S.K., Maiti T.K., *Anti-tumor and immunomodulating effects of Pleurotus ostreatus mycelia-derived proteoglycans*, International Immunopharmacology, 6, 1287–1297, (2006).
- Solak M.H., Kalmis E., Saglam H., Kalyoncu F., *Antimicrobial activity of two wild mushrooms Clitocybe alexandri (Gill.) Konr. and Rhizopogon roseolus (Corda) T. M. Fries collected from Turkey*, Phytotherapy Research, 20, 1085–1087, (2006).
- Wang H., Ng T.B., *Eryngin, a novel antifungal peptide from fruiting bodies of the edible mushroom Pleurotus eryngii*, Peptides, 25, 1-5, (2004).
- Wang H., Ng T.B., *Ganodermin, an antifungal protein from fruiting bodies of the medicinal mushroom Ganoderma lucidum*, Peptides, 27, 27-30, (2006).
- Xie Y.Z., Li S.Z., Yee A., Pierre D.P.L., Deng Z., Lee D.Y., Wu Q.P., Chen Q., Li C., Zhang Z., Guo J., Jiang Z., Yang B.B., *Ganoderma lucidum inhibits tumour cell proliferation and induces tumour cell death*. Enzyme and Microbial Technology, 40, 177–185, (2006).
- Yamaç M., Bilgili F., *Antimicrobial activities of fruit bodies and/or mycelial cultures of some mushroom isolates*, Pharmaceutical Biology, 44, 660–667, (2006).