



**BAZI MORCHELLA TÜRLERİNİN ANTİBAKTERİYEL VE
ANTİMUTAJENİK ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

İRUFAN YALÇIN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI
Doç. Dr. Necibe Canan USTA
Eylül - 2019
Her hakkı saklıdır**

T.C.
TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAZI MORCHELLA TÜRLERİNİN ANTİBAKTERİYEL VE
ANTİMUTAJENİK ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

İRFAN YALÇIN

TOKAT
Eylül - 2019

Her hakkı saklıdır



Bu tez çalışması;

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından 2018/46 nolu proje ile desteklenmiştir.

İrfan YALÇIN tarafından hazırlanan "Makrofungusların Antimikrobiyal Aktiviteleri Ve Diğer Tıbbi Etkileri" adlı tez çalışmasının savunma sınavı 07/ 08/ 2019 tarihinde yapılmış olup aşağıdaki jüri tarafından oybirliği ile Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü BİYOLOJİ ANABİLİM DALI'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman

Doç.Dr. Necibe Canan USTA
Gaziosmanpaşa Üniversitesi

Üye
Prof..Dr. Köksal Papuçcu
Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi

Üye
Prof. Dr. İbrahim TÜRKEKUL
Gaziosmanpaşa Üniversitesi

ONAY

Prof. Dr. Cetin CEKİÇ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEZ BEYANI

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdđiđi yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

İR FAN YALÇIN

9 Eylül 2019

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAZI MORCHELLA TÜRLERİNİN ANTİBAKTERİYEL VE ANTİMUTAJENİK ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

İRFAN YALÇIN

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

(TEZ DANIŞMANI:DOÇ. DR. NECİBE CANAN USTA)

Bu çalışmada, *Morchella elata*, *Morchella esculenta*, makromantar türlerinin antibakteriyel ve antimutajenik etkileri araştırılmıştır. Yozgat Akdağmadeni yöresinden toplanan mantarlar kurutulma işlemi sonrasında şapka ve sap kısımlarının metanol ve su ekstraktları elde edilmiştir. Sonuçlar çalışmada kullanılan mantar ekstraktlarının, test edilen mikroorganizmaların (*Proteus vulgaris*, *Streptococcus pyogenes*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, , *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Proteus mirabilis*, *Bacillus spiziens*, *Hafnia Alvei*, *Salmonella enteritidis*, *Listeria monocytogenes*, *Elongation factor 2*) gelişmeleri üzerinde değişik düzeylerde etkiye sahip olduğunu göstermiştir.

2019, 54 SAYFA

ANAHTAR KELİMELER: Makrofunguslar, antimikrobiyal aktivite, Morchella

ABSTRACT

MASTER THESIS

INVESTIGATION OF ANTIBACTERIAL AND ANTIMUTAGENIC PROPERTIES OF SOME MORCHELLA SPECIES

İRFAN YALÇIN

TOKAT GAZİOSMANPASA UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

DEPARTMENT OF BIOLOGY

(SUPERVISOR:) DOÇ. DR. NECİBE CANAN USTA

In this study, *Morchella elata*, *Morchella esculenta*, macrofungi were investigated. The collected fungi were also dried. The collected fungi were investigated for their methanol and water antimicrobial activities. The results showed that the fungal extracts used in the study had different levels of effect on the growth of microorganisms (*Proteus vulgaris*, *Streptococcus pyogenes*, *Clostridium perfringes*, *Bacillus cereus*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Salmonella thyphimurium*, *Proteus mirabilis*, *Bacillus spiziens*, *Hafnia Alvei*, *Salmonella enteritidis*, *Listeria monocytogenes*, *Elongation factor 2*) tested.

2019, 54 PAGE

KEYWORDS: Macrofungi, antimicrobial activity, Morchella

ÖNSÖZ

Makromantarlar ülkemizin genelinde önemli bir besin maddesi olarak tüketilmektedir. İlimizde de bu besin maddesine oldukça değer verilir. Tüketimi de çok yaygındır. Geçmişte dünyada birçok yerde bitkisel drog olarak kullanılmaktadır. makromantarlar, insanoğlunun şifa kaynağıdır. Bu çalışmanın amacı bazı makrofungus türlerinin antimikrobiyal aktivitesini araştırmaktır. Bu araştırmanın sonucunda bu alanda yapılan ve yapılacak olan yeni çalışmalara katkıda bulunmaktadır.

Günümüzde bilim ve teknolojiye büyük ilerlemeler gerçekleşmiştir. Bütün bu gelişime teknolojiye rağmen insanoğlunun sağlıkla ilgili sorunları da artmıştır. Bu gün bu sorunların en önemlilerinden biri enfeksiyon hastalıklarıdır. Bu enfeksiyonlara neden olan mikroorganizmaların mevcut antimikrobiyal ilaçlara özellikle de antibiyotiklere direnç kazanmasıdır. Direnç kazanmasının en büyük nedeni de antibiyotiklerin yanlış ve gereksiz kullanılmalarıdır. Her durumda antibiyotiklere başvurmak bizi sadece o anlık sıkıntıdan kurtarmaktadır. Fakat ilerleyen zamanlarda daha büyük sorunların çıkmasına neden olmaktadır. Bu durum yeni ilaçların keşfini zorunlu hale getirmiştir

Yüzyıllardır besin olarak kullanılan makrofunguslar tıbbi açıdan önem kazanmıştır. Bilimsel çalışmalara konu olmuşlardır. Yapılan araştırmalar sonucunda bazı makrofungusların ve onlardan elde edilen metabolitlerin önemli derecede antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları ortaya çıkmıştır. Günümüzde sık rastlanan hipertansiyon, diyabet, hiperlipidemi gibi kronik rahatsızlıklara karşı tedavi edici özellikleri bulunmuştur.

Tez danışmanlığımı üstlenen, çalışmalarımın her aşamasında değerli düşünceleriyle beni olumlu yönde yönlendiren, her konuda yakın ilgi ve yardımlarını esirgemeyen çok kıymetli hocam Doç. Dr. Necibe Canan USTA'ya, değerli bilgileri ve tecrübeleri ile bana yön veren Sayın Prof. Dr. İbrahim TÜRKEKUL'a ve Prof. Dr. Köksal PABUÇCU'ya en içten teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca fikirleriyle beni aydınlatan ve yol gösteren tüm bölüm hocalarıma, bana her konuda destek olan aileme ve arkadaşlarıma teşekkürü bir borç bilirim.

İRFAN YALÇIN

9 Eylül 2019

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ	ii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGE VE KISALTMALAR	v
ŞEKİL LİSTESİ.....	vi
ÇİZELGE LİSTESİ.....	vii
1. GİRİŞ	1
1.1. Mantarların Genel Özellikleri	1
1.1.1. Mantarların antimikrobiyal özellikleri.....	3
1.1.2. Mantarların biyolojik özellikleri	4
1.1.3. Mantar hücresinde bulunan makromoleküller.....	4
1.2. Makrofunguslar	5
1.2.1. Mantar metabolizmasının özellikleri	6
1.2.2. Çalışmada kullanılan makrofungus türleri.....	10
1.2.3. Coğrafi özellikler.....	12
1.2.4. Mantarların toplandığı yerler.....	12
1.3. Bakterilerin Yapısı.....	13
1.3.1. Bakteriyel stoplazma	14
1.3.2. Hücre zarı	14
1.3.3. Hücre çeperi	14
1.3.4. Kapsül	15
1.3.5. Bakteri kirpikleri veya kamçıları.....	15
1.3.6. Bakterinin üreme hızları ve dönemleri.....	15
1.3.7. Çevre ile ilişkiler	16
1.4. Çalışmada Kullanılan Mikroorganizmalar	16
1.4.1. <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	16
1.4.2. <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	17
1.4.3. <i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 19615.....	18

1.4.4. <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	18
1.4.5. <i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 98	19
1.4.6. <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	19
1.4.7. <i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315	19
1.4.8. <i>Serratia marcescens</i> ATCC 8100.....	20
1.4.9. <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	20
1.4.9. <i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124.....	20
1.4.10. <i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876.....	21
2. MATERYAL ve YÖNTEM	21
2.1. Materyaller	21
2.1.1. Antimutajenite Testleri	21
2.1.2. Test Şuslarının Saklanması.....	22
2.1.3. Master Plakların Hazırlanması	22
2.1.4. İstatistik Analizleri	23
2.1.5. Arazi Çalışmaları ve Mantarlar Örneklerini Toplanması	23
2.1.6. Çalışmada Kullanılan Besi Ortamları	24
2.1.7. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Çözücüler	24
2.1.8. Standart Antibiyotikler	24
2.1.9. Sterilizasyon	24
2.1.10. Ekstrakt İçeren Disklerin ve Kültürlerinin Hazırlanması.....	25
3. BULGULAR.....	25
3.1. <i>Morchella elata</i> Pers'nın Antimikrobiyal Aktivitesi	25
3.2. <i>Morchella esculenta</i> pers. ex St'nın Antimikrobiyal Aktivitesi	26
3.3. Ekstraksiyon Verimliliği	26
4. TARTIŞMA VE SONUÇ	38
5. KAYNAKLAR	40
6. ÖZGEÇMİŞ.....	42

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler	Açıklama
MgSO ₄	Magnezyumsülfat
H ₂ O	Su
KCl	Potasyum klorür
MgCl ₂	Magnezyum klorür
NaOH	Sodyum hidroksit

Kısaltmalar	Açıklama
DNA	Deoksiribonükleik asit
RNA	Ribonükleik asit
rRNA	Ribozom RNA
mRNA	Haberci-elçi RNA
tRNA	Nakil RNA
P	Fosfor
K	Potasyum
B7	Biotin
B1	Thiamin
B2	Riboflavin
B3	Pantotenik asit
B5	Nikotinik asit
1mş	1 metanol şapka
1mg	1 metanol gövde
2mş	2 metanol şapka
2mg	2 metanol gövde
1sş	1 su şapka
1sg	1 su gövde
2sş	2 su şapka
2sg	2su gövde

ŞEKİL LİSTESİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1. <i>Morchella elata</i> 'nın askokarpı.....	10
Şekil 1.2. <i>Morchella esculenta</i> 'nın askokarpı	11
Şekil 1.3. Aktaş mevki 1402 rakımlı.....	12
Şekil 1.4. Karapir mevki 1362 rakımlı.....	13
Şekil 1.5. Aşağı culhali büyük mevki 1380 rakımlı.....	13
Şekil 3.1. Ekim yapılan mantar ekstrelerinin görselleri.....	34



ÇİZELGE LİSTESİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
Tablo 3.1. <i>Morchella esculenta</i> ve <i>Morchella elata</i> nın 2 farklı çözücüdeki ekstraksiyon verimleri.....	25
Grafik 3.1. <i>Morchella elata</i> ’ nın GC-MS analiz grafiği.....	26
Grafik 3.2. <i>Morchella esculanta</i> ’nın GC- MS analiz grafiği.....	27
Tablo 3.2. <i>M. esculanta</i> ve <i>M. elatanın</i> şapka(ş) ve gövde(g) kısımlarının metanol ve su ekstrelerinin antimutajenisite test sonuçları.....	29
Tablo 3.3. Mantar ekstrelerinin antimutajenite test değerlendirilmesi.....	29
Tablo 3.4. Mantar örneklerinin (<i>M. esculenta</i> ve <i>M. elata</i>) 14 farklı patojenik bakteri suşuna inhibisyon etkileri, (50mg/ml); N. Penicillin A, Ampicillin.....	30
Grafik 3.3. 1mş ve 1 mg ölçüm sonuçları.....	32
Grafik 3.4. 2 mş ve 2 mg ölçüm sonuçları.....	32
Grafik 3.5. 1mş, 1 mg, 2 mş ve 2 mg ölçüm sonuçları.....	33

1. GİRİŞ

Coğrafik konumu nedeniyle Ülkemiz biyolojik çeşitliliği anlamında oldukça zengindir. İklim farklılıkları, jeolojik, topografik karakterleri, akarsu, deniz, göl, gibi farklı sucul ortam çeşitlilikleri gibi ekolojik özelliklerinden kaynaklanır. Organizmaların bilimsel metodlarla bireysel fark ve benzerlik ölçümlerinin geniş bir bakış açısı ile incelenerek sınıflandırılması, yüzyıllar öncesinden başlamış ve devam etmekte olan bir süreçtir. Canlılığın çeşitliliği ve yayılımını metodik olarak analiz eden ve gerektiği durumlarda yeniden yapılandırılmasını da kapsayarak yapılagelen araştırmalar canlı sistematığı olarak adlandırılır.

1.1 Mantarların Genel Özellikleri

Mantarların tarihçesi genel olarak çok uzundur. 300 milyon yıl öncesine ait fosilleşmiş mantarlar bulunmaktadır. O zamandaki insanlar mantarları toplamış daha sonrada yiyecek olarak tüketmişlerdir. *Terfezia arenaria* (Moris) Trappe, İncil’de “Cennet ekmeği” ya da “Yahudilerde kudret besini” denilen mantar bitkilerini kullanmışlardır.

Mantarlar uzun zaman yiyecek olarak kullanılmıştır. Daha sonraları birçok hastalığın tedavisinde de kullanmaya başlamışlardır. Mantarlı ilaç yapımında tercih etmeye başlamışlardır. Son yıllarda bu konuda bilimsel çalışmalar yapılmaya başlanmıştır. Yapılan bu çalışmalar mantarların bileşenlerinin terapötik (tedavi edici) özellikte olduğunu göstermektedir (Öztürk ve Çopur, 2009). Tıbbi mantarlar son birkaç yıldır batı ülkelerinde kullanılmaktadır. Gerçekte Asya ülkelerinin gıda tüketimlerinde çok uzun zamandır kullanılmaktadır (Lindequisit ve diğ., 2005). Çin tıbbında geleneksel olarak 3000 yıldan daha fazla hastalıklardan korunmak için ve tedavi amacıyla kullanılmıştır (Chang, 2006; Lindequisit ve diğ., 2005).

Asya ülkelerinde yenilebilir mantarlar gıda ve ilaç olarak kullanılmaktaydı. İnsanların ana besin kaynaklarından birisini oluşturmaktaydı. Besin değerleri açısından çok

önemlidir. Yaşamımızdaki değeri de her geçen gün artış göstermektedir. Her mantar tipi, kendi ortamında mikroorganizmalarla başa çıkması gerekmektedir. Bunun için ayrı bir yeteneğe sahiptir. Mantarları iyi bir protein ve mineral kaynağı olmalarından dolayı tüketimi gittikçe artmaktadır. Mantarlar, kalorisi ve temel yağ asitleri düşüktür. Bundan dolayı daha çok tercih sebebi olabilir. Ayrıca bitkisel proteinler, vitaminler ve mineraller açısından zengindir. Türkiye Mantarların büyümesi için elverişli bir çevreye sahiptir. Bunun için bu şartları değerlendirmek gerekir. Türkiye’de büyük bir yenilebilir mantar potansiyeli vardır (Çolak ve diğ., 2009).

Dünyada 1.5 milyon civarında mantar türü bulunmaktadır. Gıda olarak tüketilen sadece %10 u bilinmektedir (Hawksworth, 2001). Dünya üzerindeki yenilebilir mantar 5.000 kadardır (Öztürk ve Çopur, 2009). Mantarların inşaların beslenmesinde önemli etkisi bulunmaktadır. Yeni koparılmış bir mantar içerisinde %90 su bulundurmaktadır. Kalp ve damar hastaları içinde tavsiye edilmektedir. Çok önemli yararlarının olduğu vurgulanmaktadır. İçeriklerindeki protein oranı türüne göre değişmektedir. Örneğin herhangi bir türde 100 g ‘da 3-10gr protein bulunabilmekte ve hayvansal proteinin yaklaşık %30-40 sindirilebilirken mantarlarda bu miktarın %70’i sindirilebilir formdadır. Mantarlarda kolesterol gözlenmemiştir ve hayvansal proteinin sindirilmeyen kısmı damar içlerinde kolesterol olarak birikmeye başlar. Etle alınan protein fazla sindirilemez. Sindirilmeyen kısım damarlar içinde kolesterol olarak yapılır. Bu kolesterol sakıncalıdır. İlerleyen zamanlarda kişilerde hastalıklara neden olabilir (Özdemir, 2010). Karbonhidrat ve yağ oranları mantarlarda düşüktür. Sağlıklı ve dinç olmak için tüketilmesi faydalı bir yiyecektir (Diyabalanage ve diğ., 2008). Mantarlar biyolojik aktif maddeler içermektedir (Smith ve diğ., 2002). İçeriği kompleks polisakkaritler bakımından zengindir (Öztürk ve Çopur, 2009). Mantarların çoğu yeri tıbbi amaç için kullanılmıştır. Örneğin sap, şapka, misel ve sporları kullanılmaktadır (Cheung, 2008).

Esansiyel aminoasit içerikleri çeşitli ve zengindir. P (fosfor) ve K (Potasyum) oranları fazladır, ayrıca birçok mineral de bulundurlar. Biotin(B7), tiamin(B1), riboflavin(B2), pantotenik asit (B3), nikotinik asit(B5), C vitamini (ascorbic acid) ve

niacin gibi doğal vitamin kaynaklarıdır. Bazı mantarların folik asit içerikleri zengindir. Bazı türlerde β -karoten ve ergosterol gözlenmiştir. Yağ oranları genelde düşüktür. Bu mantarlar genel olarak kolesterol içermezler ve kalori değerleri düşüktür. Kalorilerinin düşük olmasından dolayı kilo vermeyi hızlandırır (Smith ve diğ., 2002).

1.2. Mantarların Antimikrobiyal Özellikleri

Günümüze değin birçok bilimsel araştırma yapılmıştır. Bu mantarların çeşitli kimyasal bileşiklere sahip oldukları belirlenmiştir (Benedict ve diğ., 1983).

Mantarlardaki antibakteriyel, antifungal sekonder bileşikler, çok az oranlarda da etkili olabildikleri gözlenmiştir. Mikrobiyal bölünmeyi engelleyici “bakteriostatik” veya “fungostatik” mikrobiyal hücrelerin parçalanmasına neden olarak “bakterisit (bakterisidal)” ve “fungisit (fungusidal)” küçük özgül ağırlıkta moleküler yapıdadırlar ve makroorganizmaya etkisizdirler (Schlegel 1992, Demain 1999, Türkmen, 2011).

Organizmalar yaşadığı ortamda varlığını sürdürmek için mücadele gösterirler. Bunun için çevresindeki rekabetçi türlere üstünlük sağlamaları gerekmektedir. Kimyasallara ihtiyaçları vardır, henüz farmakopilere sahip makromantar kaynaklı ticari antibiyotik yoktur (Kalyoncu ve diğ., 2010). Son yıllarda Methicyllin dirençli *Staphylococcus aureus*'a karşı yeni antibiyotik araştırmaları hızla devam etmektedir. Etkinlik mekanizması bakteri bölünmesi engelleyen birkaç fenolik bileşik (fenil propanoid) ile terpenoidler olduğu gözlenmiştir (Benedict ve diğ., 1983).

Antibiyotikler “Mucize İlaç” olarak adlandırılırlar. Kullanımının üzerinden uzun bir süre geçmemiştir. Fakat buna rağmen kullanımı fazlaca artmıştır. Bu artışından dolayı, gelişen dirençler ortaya çıkmaktadır (Akalın 1994, Balcı 2007).

1.3. Mantarların Biyolojik Özellikleri

Mantarlar besin değeri yüksek gıdalardır. Ana bileşenleri proteinler ve karbonhidratlardan oluşmaktadır. Mantarların protein içerikleri çeşitli faktörlerden etkilenmektedir. Bu faktörler arasında mantarın tipi, gelişim aşaması, numune alınan kısmı bulunmaktadır (Çolak ve diğ., 2009). Mantarlar, birçok et ve süt ürünlerinden daha az protein içermekte ancak, birçok bitkisel gıdadan daha fazla sindirilebilir protein içermektedir. Protein oranları kuru ağırlık % 10 – 40 değişim göstermektedir (Boztok, 1990).

1.4. Mantar Hücresinde Bulunan Makromoleküller

1.4.1. Proteinler

Mantar proteini aminoasitlerden oluşmaktadır. Protein olarak; asit özellikli aminoasitlerden enzimleri, yapı taşlarını sayabiliriz. Ayrıca bazı özellikli aminoasitlerden histonları, protaminleri ve ribozom proteinleri bulunmaktadır. Aminoasit'lerden oluşan proteinler basit veya bileşik proteinlerdir. Proteinler, enzimler ve skleroproteinler halinde bulunurlar. Skleroproteinler mantar bünyesine yapı, koruma ve biçim sağlar (Sümer, 2006).

1.4.2. Nukleik asitler

Nukleik asit'ler deoksiribonukleik asit (DNA) ve ribonukleik asit (RNA) asitten oluşmaktadır. Mantar hücresindeki hayat faaliyetleri DNA tarafından yönlendirilir. Bu yönlendirilen faaliyetler RNA'lar tarafından yürütülür. DNA tarafından üç çeşit ribonukleik asit (RNA) sentez edilir. Bunlar protein üretmede görevlidirler. Bunlar

ribozom RNA'sı (rRNA), haberci-elçi (Messenger) RNA'sı (mRNA) ve nakil RNA'sı (tRNA)'dır (Sümer, 2006).

1.4.3. Karbonhidratlar

Karbonhidratlar polisakkaridlerden oluşmaktadır. Polisakkaridler; heksoz, pentoz ve uronik asit polimerleridir. homopolimerler, heteropolimerler, glikoproteinler veya peptidopolisakkaridler olarak ortaya çıkabilirler. Selüloz, kitin, midodekstran ve pullulan özel isimli polisakkaridlerdir. Mantar hücresinin çeperinde bulunan monomerler; bazı maya mantarlarındaki glukomannanlardır (Sümer, 2006).

1.4.4. Lipidler

Mantar bünyesindeki lipid'ler bulunmaktadır. Bunlar alifatik hidrokarbonlar, yağ asitleri, gliserolipidler, sphingolipidler ve isoprenoidler bulunmaktadır (Sümer, 2006).

1.2. Makrofunguslar

Ascomycetes ve *Basidiomycetes* yenir, yenmez ve zehirli özellikteki organizmalardır. Mantarlar klorofilsiz organizmalardır, hiflerden oluşarak fruktifikasyon organları özelleşmiştir. Mantarlar eşeyli/ eşeysiz, sporla çoğalmaya sahiptirler. Klorofil içermediklerinden bağımsız şeker, yağ ve nişasta gibi organik bileşikler oluşturmazlar. Ayrıca büyüme ortamları ölü organizmalar (saprofitik) ve diğer canlılardan sağları (Taner, 2002). Funguslar besinlerini diğer canlılardaki organik bileşikleri absorpsiyon ile alarak beslenirler. Yani çift katlı membranla kuşatılmış bir gerçek nükleus, yine membranlar tarafından çevrelenmiş sitoplazmik organellere sahiptirler (Tamer, 2006).

Mantarların meyve kısmı şapka görünümündeki üst yapılarıdır, *Basidiomycetes* 'lerde basidiyokarp, *Ascomycetes* 'lerde askokarp olarak adlandırılır. Makrofunguslar da buldukları ortama misellerle tutunarak ortamdan su ve diğer besin maddelerini absorblayarak sap ve şapka gibi diğer vücut kısımlarına iletirler.

Günümüzde bilim ve teknolojiadaki büyük ilerlemeler yaşanmaktadır. Fakat buna rağmen, doğal kaynakların bilinçsizce tüketilmektedir. Bunun önüne geçilmezse sonu daha da vahim bir duruma gelecektir. Makrofunguslar halkımızın tükettiği önemli doğal bir besin kaynağıdır (Duman ve ark., 2003). Dünya nüfusu hızla artmaktadır. Bunun için makrofunguslar önemlidir. Kültür mantarcılığı Amerika, Avrupa ve Uzak Doğu ülkelerinde belli başlı endüstri dalları oluşturmuştur. Bazı ülkelerde makrofunguslar ilaç olarak ta kullanılmaktadır. Hatta bazı mantarlar zehirli olarak bildirilmiştir. Bunların yenmesi korkuya neden olmuştur (Dülger ve ark., 1999). Gıda endüstrisinde raf ömrü olması gereken ürünlerde sentetik kimyasal maddelerin kullanımı yerine makromantar bileşikleri kullanılabilir (Çete ve ark., 2005).

Mikroorganizmalar çeşitli hastalıkları sebep olmaktadır. Bu hastalıkların tedavisi içinde insanlar çok değişik yollar denemeye başladılar. Şifa bulmak için doğal yetişen ürünlerden faydalanmak istiyorlar. Daha çok şifalı otlar dedikleri bitkilerden yararlanıyorlar. Faydalandıkları bu bitkiler çeşitli hastalıklara karşı hala kullanılmaktadır (Ertürk ve Demirbağ, 2003). Yetişen doğal bitkilere ilgi büyük orandadır. Bu ilginin çeşitli sebepleri vardır. sentetik kökenli ilaçlar insan vücudunda beklenmedik bazı yan etkiler oluşturmaktadır. Bu yan etkiler doğal ürünlerde bulunmamaktadır. Diğer önemli bir neden bitki drogları birden fazla etkiye sahiptir. Fakat sentetik ilaçlar genellikle tek bir etkiye sahip olurlar (Ertürk ve Demirbağ, 2003).

1.2.1.Mantar metabolizması'nın özellikleri

Mantar metabolizmasının baskı altına almak için bazı çalışmalar yapılmaktadır. Öncelikle çevrede Oksijen eksikliği, besin maddesi yetersizliği, su eksikliği, ortamda biriken hücre atıklarının zehir etkisi, uygun olmayan pH halleri elverişsiz sıcaklık ve

elverişli rutubet ortamları oluşmaktadır. Oluşan bu olumsuz çevrede hüküm süren kötü, uygunsuz, elverişsiz şartlar, mantar hücrelerinde gerçekleşen birincil metabolizmanın ikincil metabolizmaya dönüşmesine yol açar. Böylece vejetatif büyüme de generatif gelişmeye yönelir. Yani büyüme faaliyetleri üreme faaliyetlerine dönüşür. Bu sebepten, mantarlardan faydalanmaya yönelik olarak, ikincil metabolizma ürünlerinin elde edilmesi istenebilir. Bunun için yapay olarak bu elverişsiz şartlar yaratılır (Sümer, 2006). Mantar metabolizmasının baskı altına alınma konusunda başka çözüm yolları da bulunmaktadır. Hastalık yaratan mantarların gelişmesinin istenmemesi söz konusu olabilir. Bu durumda bitki hastalıklarına karşı, kükürt, bakır ve civa gibi kimyasal maddelere dayalı ilaçlar kullanılabilir (Sümer, 2006).

Patojen mikroorganizmalar konakta doğrudan veya belli enzimler aracılığı ile enfeksiyon hastalıkları oluşmaktadır. Bu hastalıkların tedavisinde, toksik etki gösteren ilaçlar kullanılmaktadır. Fakat mikroorganizmalar bu ilaçlara da belli bir süre sonra direnç geliştirmektedir. Bu yüzden günümüzde yeni ilaç arayışları devam etmektedir. Ayrıca önemli nokta bu ilaçların hammaddelerinin araştırılmasıdır. Yapılan ilaçların birçoğu suni veya kimyasal özellik taşımaktadır. Bu ilaçların da insan sağlığı üzerinde yan etkilerinin fazla olduğu ortaya çıkmıştır. Onun için araştırmacılar yeni hammaddeler bulmak için doğaya yöneltmiştir. Enfeksiyon hastalığına karşı doğal kaynaklı hammaddeler araştırılmaktadır. Halen araştırmalar son hızıyla devam etmektedir (Çalışkan, 2001).

Medikal amaçlı kullanılan makrofungusların tıbbi etkileri şu şekildedir (Francia ve ark., (1999); Wasser ve Weis, (1999)).

- a) Antibiyotik Etkileri: Antiviral, Antibakteriyal, Anti fungal, Antiprotozoal etki
- b) Hipolipidemik Aktiviteleri: Yüksek kolesterolü önleyici etki
- c) Hepatoprotective Etkileri: Karaciğer koruyucu etkileri
- d) Immunomodulating Etkileri: Bağışıklık sistemini düzenleyici
- e) Antidiyabetik Etkileri: Diyabetik önleyici etkileri (Çalışkan, 2001).

1994 yılında Tr. J. of Botany’ de Asuman Baytop tarafından “Türkiye’nin Makrofungusları ile İlgili Bir Yayın Listesi” adlı bir makale hazırlanmıştır. Bu yayında Türkiye’nin yüksek mantarları ile ilgili yayınların listesi hazırlanmıştır. Listede Türkiye’ nin makrofungus florası, yenen mantarlar ve zehirli mantarları verilmiştir. Bu bilgilere göre insanların mantarlar hakkında bilgi sahibi olması amaçlanmıştır. Çalışmada mantarlarla ilgili birçok konu işlenmiştir. Verilen bilgiler insanların büyük yararına olmuştur. Bu çalışmada Türkiye’de mantar yetiştiriciliği, mantarlarla zehirlenme olayları, tedavi yöntemleri zehirli mantarların halka tanıtılması ve halkın uyarılması gibi konular ele alınmıştır (Çalışkan, 2001).

Ülkemizde makrofungus florasına yönelik çalışmalar bir hayli fazladır. Fakat makrofungusların antimikrobiyal aktivitesi konusundaki çalışmalar oldukça yeni ve sınırlı sayıdadır (Çalışkan, 2001).

Mantarlarda üretim birimi olan sporlar çimlenirler. Ortamdan sonra ilk önce miseller sonra misellerden şapka yapılırlar, şapka ve sap besin maddesi toplayarak kendi konumlarında yoğunlaşırlar. Buna tersiyer miseller de denilmektedir. Bu hifler tüp şekline benzeyen iplikçiklerdir. Hücre çeperlerinin yapısında bazı organik bileşikler bulunur. Bunlar; lignin, selüloz, kitindir. Hücre çeperinin bileşimi değişiklik gösterebilir. Bunlar çevre koşullarında, ortamın pH’sında, sıcaklığında hücrenin yaşında etkilidir. Hücrelerindeki kofullar hücrenin içinde önemli görevleri bulunmaktadır. Hücrenin gaz alışverişini düzenleme işi yapmaktadır. Ayrıca sitoplâzmanın atıklarını barındırır (Türkecul, 2001).

Makromantarların klinik amaçlı kullanımı özellikle doğu ülkelerinde eski zamanlara dayanmaktadır. Hatta Asya ülkelerinde kullanımı bir gelenek haline gelmiştir. Fakat Kuzey yarımkürede ise son yirmi beş yılda dikkate değer bir artış göstermiştir (Carlile ve Watkinson, 1994; Denis, 1995; Sümer, 2006). Bu durumun bir göstergesi olarak şu gerçek ortaya konabilir. Bu durum 2001 yılında altı milyar dolara yükselmiştir

(Lindequist et al. 2005). Günümüzde bilinen yaklaşık on bin makromantar türü bilinmektedir. Bunların içinde medikal önemi olabilecek tür oranı % 5' kadardır. Bu türler hakkındaki bilgi birikimi de maalesef oldukça azdır (Mau et al. 2001)

Günümüze değin mantarlarla ilgili bir sürü araştırma yapılmıştır. Organizmalar yaşamlarını sürdürebilmek için kimyasallara ihtiyaç duymaktadır (Solak et al. 2006).

Makromantarlar ile yapılan biyolojik aktivite çalışmalarının sonucunda iki durum söz konusu olmuştur. Birinci durumda çalışmalar doğadan toplanan şapkalar ile yapılmıştır (Dülger et al. 2002; Duman et al. 2003; Solak et al. 2006). Bu çalışmalar sonucunda etkili türler bulunmuştur. Fakat şapkalar yılın belirli bir döneminde ortaya çıkmaktadır. Hatta bazı yıllar hiç meydana gelmemektedir. Bu durumda düzenli olarak etkin maddelerin elde edilmesini imkânsız kılmaktadır. Bu bakımdan şapkadan ziyade mantara ait miselde ya da miselin yetiştirildiği ortamda etkin madde aramak daha mantıklıdır. Bu maddenin bulunması halinde yılın her döneminde üzerinde çalışma ve yeterince üretme imkânı sağlaması açısından oldukça önemlidir (Hatvani, 2001; Sarangi et al. 2006). Genellikle etken maddeye sahip olduğu anlaşılan az sayıda tür üzerinde detaylı araştırmalar yapılmıştır.

Makrofunguslar daha çok ormanlık ve çayırılık alanlarda yetişir. Yenen, yenmeyen ve zehirli olarak gruplara ayrılabilir. Makrofungusların yetişmesi için organik madde bakımından zengin topraklara ihtiyaç vardır. Bu konu ile ilgili pek çok çalışma gerçekleştirilmiştir. Artık dünya nüfusu hızla bir şekilde artmaktadır. Artan nüfusa karşılık besin yetersizliği bir zaman sonra gün yüzüne çıkacaktır. Bu durumda makrofunguslar bu duruma önemli bir çözüm yoludur. İçerisindeki minareller araştırmak için bir sürü çalışmalar yapılmıştır. bu araştırmalar sonucunda mantarların bileşenlerinde medikal etkiler; antimikrobiyal, antitümör, antiviral, antioksidan, kardiyovasküler hastalıklara karşı besin öğeleri bulunmaktadır (Lakhanbal ve Rana, 2005).

Makromantarlarda faydalarının yanında ölümlere neden olan zehirli bileşikleri olanları da bulunmaktadır. Bu amaçla, yenebilirler belirlenen türlerin kültürlerinin alınması gerekliliği de ele alınmalıdır. Kültür mantarcılığı endüstrileştirilerek ülke ekonomisindeki önemine dikkat çekilmelidir.

1.2.2.Çalışmada kullanılan makrofungus türleri

Morchella elata Pers

Zehirsiz ve lezzetli bir mantardır. Şapka 2-8 cm yüksekliğinde olabilir. Çapı 1-4 cm ve yumurta veya konik şekilde bulunurlar. Şapka üzerinde boyuna sıralı alveolleri merdiven gibi düzgün yapıda birbirine bağlı şekilde bulunurlar. Beyin kıvrımlarına şekilde olarak benzerlik gösterebilirler. İlk önce krem kahverengi tonlarında olur. İleriki zamanlarda koyulaşır, genellikle koyu kahve veya siyah tonlarını alırlar. Etli kısmı ince bir yapıdadır. Bal mumu renginde olup kırılmandır. Sap kısmı 3-10 silindirik, düz ve üzerinde oyuklar bulunabilir (Tatlı, 1996).



Şekil 1.1: *Morchella elata*'nın askokarpı

Morchella esculenta Pers. ex St.

Bu mantar Sünger mantarı olarak da adlandırılmaktadır. Boyu 5-10 cm civarındadır. Şapkanın şekli yuvarlağa benzemektedir. Daha Koni şeklinde benzer. Uç kısma çok sivri değildir ama üst yarısı genellikle daralır. Şapkanın yüzeyindeki alveoller diğer türlere göre daha fazla yuvarlaktır. Bu alveoller düzensiz bir dağılım gösterirler. Şapkaları griden tarçın rengine kadar renk skalası göstermektedir ve gelişmesinin ileri aşamalarında renkleri soluklaşır. Sap kısmı silindirik ve dip kısmı şişkince bir yapıda bulunmaktadır. Bu yapının içi boştur. İlkbahar aylarında genellikle yaşlı meyve ağaçlarında görülür. Ayrıca daha çok kayın, dişbudak, karaağaç, akçaağaç ve meşe ormanlarının altında rastlanmaktadır (Çakı, 2009)

Şapka 5-18 cm yuvarlak veya oval şekilli olup tepe kısmı genişçe, konik şeklindedir. Bal peteği şeklinde bulunmaktadır. başlangıçta soluk, sarımsı-kahverengi renkte olur daha sonra kahverengi, üzerinde sivri, düzensiz yapılı, 0.4-1 cm, derinlikte kabartılar bulunur.



Şekil 1.2: *Morchella esculenta*' nın askokarpları

Sap silindir şeklinde tabana doğru oluklu ve şişkin, içi boş ve uzunluğuna yivli, beyazımsı-krem renkte, üzeri ince tozludur. Eti beyaz, tadı ve kokusu hoştur. Sporları elips şeklinde, ortalama 12–19/9–10 mikrondur.

1.2.3. Coğrafi özellikleri

Yozgat İl'inin Akdağmadeni İlçesi'nde, İç Anadolu Bölgesinin yarı kurak karasal iklimi hâkimdir. Yozgat'ta kaydedilen en düşük sıcaklık -24,4 0C dir ve 23 Şubat 1985'te ölçülmüştür. Yağışın aylara ve mevsimlere göre dağılımı düzensizdir. Yıllık ortalama yağışı 554,6 mm dir. Ortalama bağıl nem % 66 ve en yüksek orana Aralık - Ocak aylarında % 77 olarak, en düşük orana Ağustos ayında % 54 olarak gözlenmiştir.

1.2.4. Mantarların toplandığı yerler



Şekil 1.3: Aktaş mevki 1402 rakımlı

Enlem: 39° 35' 37.41" K

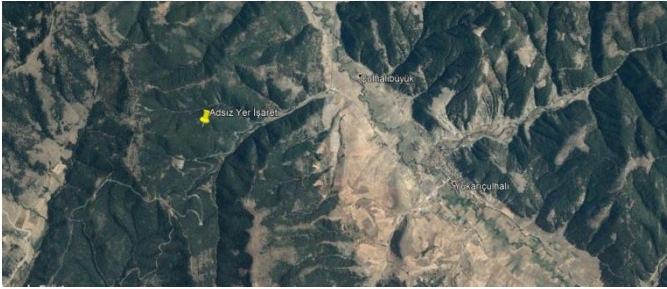
Boylam: 35° 50' 50.28" D



Şekil 1.4: Karapir mevkii 1362 rakımlı

Enlem: 39° 40' 10.92" K

Boylam: 35° 56' 4.63" D



Şekil 1.5: Aşağı Culhali büyük mevkii 1380 rakımlı

Enlem: 39° 39' 3.91" K

Boylam: 35° 58' 17.29" D

1.3. Bakterilerin Yapısı

Prokaryotik hücre yapısına sahip olan bakterilerin bir kısmı serbest olarak yaşamlarını sürdürürler. Bazıları da bitkilerde ve hayvanlarda parazit (asalak) olarak yaşarlar. Bir bakteri takriben bir mitokondri büyüklüğünde bulunmaktadır. Bakterilerde, bir çekirdek yoktur. DNA ve RNA'lar bir kitle halinde bulunurlar (Tatlı, 1996).

1.3.1. Bakteriyel stoplazma

Bakterilerin stoplazmaları saydam, hafif yapışkan kıvamda bulunmaktadır. Homojen bir yapıda bulunmaktadır. Sitoplazma içinde 10–20 nm çapında ve çok sayıda ribozom bulunur. Ribozomların temel yapısı ribozomal RNA dan meydana gelmektedir. Hücre RNA' sının yaklaşık % 80 'i ribozomlardır.

Mitokondri, golgi cihazı ve kloroplast gibi organeller bakterilerde bulunmamaktadır. Sitoplazma içerisinde küçük DNA molekülü bulunmaktadır. Bunlar bazı bakterilerin kromozomlarının yanında çoğalabilirler. Bu yapıya plazmid denir (Tatlı, 1996).

1.3.2. Hücre zarı

Hücre Zarı Sitoplâzmayı çepe çevre sarmaktadır. Bu zarın temel yapısı fosfolipid ve proteinlerden oluşur. Zarın mekanik sağlamlığı az olduğundan dolayı ancak hücre çeperi içerisinde yapısını muhafaza edebilir. Sitoplazma zarı belli noktalarda bakteri hücresi içerisine doğru katlanarak girintiler meydana getirir. Bunlara mezozom adı verilir. DNA'nın bölünmesinde, plazmitlerin eşleştirilmesinde ve spor teşekkülünde görev almaktadır (Tatlı, 1996).

1.3.3. Hücre çeperi

Hücre çeperi, bakteriyi kendi iç basıncına karşı koruma görevindedir. Ayrıca ona belli bir şekil de vermektedir. Hücre çeperinin kalınlığı, gram pozitif ve gram negatif bakterilere göre değişmektedir. Çeperin kalınlığı 10–20 nm' dir. Dış ve iç ortam arasında geçirgenliğin sağlanması gerekmektedir. Bunun için hücre çeperinde 1–2 nm genişliğinde açıklar vardır. Bu açıktan büyük moleküller bile geçebilmektedir. Hücre çeperi, bu geçirgenliğinde seçici değildir.

1.3.4. Kapsül

Bakteri hücrelerinin en dış kısmında bir kapsül bulunmaktadır. Bu kapsül polisakkarit yapısında bulunmaktadır. Ayrıca değişik yapı gösteren bakteri kapsülleri de vardır. Bakteriler bu kapsül sayesinde temas geçerler (Tatlı, 1996).

1.3.5. Bakteri kirpikleri veya kamçıları

Bakteriler hareketlilerdir. Bu hareketlerini sağlayan organlara kirpik veya kamçı (flagellum) adı verilir. Bakteriler bu kirpiklerin yerine ve sayısına göre gruplara ayrılır. Kutuplarda ve tek olan bakterilere monotrik, heriki uçta kamçılılara amfitrik denir. Kutupda çoklu kamçılılara logotrik ve tüm bakteri yüzeyinde ise peritrik, kamçısızlara ise atrik adı verilir (Hayran ve Kocagöz, 1991).

1.3.6. Bakterinin üreme hızları ve dönemleri

Uygun bir ortamda bakteri hücresi önce beslenmeye çalışır. Biraz geliştikten sonra bölünerek çoğalır. Yeni bölünmüş bir hücrenin tekrar bölünmesi için zamana ihtiyaç vardır. Ayrıca bu durum mikroorganizmanın cins ve türüne göre de değişiklik göstermektedir (Tatlı, 1996).

Bakteriler eğer uygun üreme ortamlarına sahiplerse metabolik faaliyetler gerçekleştirirler. Böylece buldukları besin yerlerindeki besin maddelerini sürekli olarak tüketirler. Aynı zamanda enzimleriyle ortamı ayrıştırırlar. Katabolizma sonucu toksik artık maddelerini de buldukları yere bırakırlar. Böylece zaman geçtikçe ortam bakteriler için daha elverişsiz hale gelerek üremelerini engeller (Tatlı, 1996).

1.3.7. Çevre ile ilişkiler

Plazma zarında bulunan bazı proteinler (kemoreseptörler) bakterinin, içinde bulunduğu ortamdaki kimyasal maddelere karşı reaksiyon göstermesine neden olur. Bu proteinler çevreden algıladıkları özel maddelere bağlanırlar. Böylece Hücre içerisine bu maddelerin varlığı ile ilgili mesajlar gönderirler. Hücre de yüzeyden gelen bu mesaja karşılık verir (Hasenekoğlu, 2002).

Proteinler Duyu organları olarak çalışmaktadırlar. Proteinler plazma zarından dışarıya doğru uzanmışlardır. Bir uçları dış ortamda diğer uçları ise hücre içinde stoplazmaya uzanmıştır (Hasenekoğlu, 2002). Bakteriler laboratuvar koşullarında da üretilmektedir. Bunun için öncelikle uygun şartların olması gerekmektedir. Ayrıca bakterilerin besin gereksinimlerinin de karşılanması gerekir. Bu amaçla geniş kapsamlı araştırmalar yapılmış ve sonuçta bakteri kültürleri için çeşitli besi yerleri geliştirilmiştir. Bakteri kültürleri kolay hazırlanmaktadır. Ayrıca hızlı üredikleri için, bakteriler fizyoloji, metabolizma ve moleküler genetik çalışmalarında kullanılan önemli bir araç olmuştur (Hayran ve Kocagöz, 1991).

1.4. Çalışmada kullanılan Mikroorganizmalar

1.4.1. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Stafilokoklar, üzüm salkımı şeklinde kümelerden oluşur. Gram (+) koklardır. Besiyerinde anaerop ve aerop koşullarda üretilirler. İnsan sağlığı açısından önemlidir. Etken olduğu infeksiyonların klinik belirtilerine yol açmaktadır. Bir dizi hücre dışı enzim ve ekzotoksinlere sahiptir. Örneğin koagülaz, alfatoksin, lökosidin, eksfoliatin, enterotoksin, toksik şok toksini. Patojenik ve semptomatik etkileri göz önüne alındığında *Staphylococcus aureus*'un etkili olduğu hastalıklar bulunmaktadır. bunlar, invazif infeksiyonlar (yara infeksiyonları, sinüzit, orta kulak iltihabı vb.),

toksikozlar (gerçek toksikozlar), enterotoksinle kontamine besinlerin yenmesiyle oluşan gıda zehirlenmeleridir. Birkaç saat gibi kısa sürenin ardından bulantı, kusma ile seyreden bir hastalık tablosu ortaya çıkar (Çakı, 2009)

Stafilokoklar basit besiyerlerin de üreseler de kanlı agarlarda daha iyi gelişme gösterirler. Koloni çevresinde tam hemoliz meydana getirir. 37 derece ve pH 7,4 de iyi ürer. Jeloz besiyerinde ürer. Yuvarlak kenarlı mat, kabarık, parlak yüzeyli, S tipinde ve 1-2 mm çapında koloniler yapar. Altın sarısı renginde pigment oluşturur.

Tedavide cerrahi girişimlerin yanı sıra antibiyotik uygulanmaktadır. Bu tedavinin ağırlık noktasıdır. Antibiyotik tedavisi için, suşların %70-80'inin penisilaz üretmektedir. Bu nedenle, penisilinaza dirençli penisilin seçilir. Bu penisilinler metisiline dirençli suşlara etkili değildirler. Çoğul direnç olması durumunda vankomisin veya teikoplanin seçilir. TSST-1 oluşumu klindamisin düşük dozlarıyla engellenir. *S. aureus*'un birincil yerleşim yeri deri ve mukozalardır. *Staphylococcus aureus* en yaygın bulunduğu yerler açısından incelendiğinde en önemli koruyucu önlem ellerin yıkanmasıdır (Kayser ve ark., 2002).

1.4.2. *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228

Staphylococcus epidermidis hareketsiz ve kapsülsüzdür. Gram (+) koklardır. Koagülaz ve mannitol negatiftir. Koagülaz (-) stafilokoklar içerisinde hastalık etkeni olarak en sık (%70- %80) izole edilmiştir. *Staphylococcus epidermidis* deri ve mukoza normal florasında bulunurlar. Fırsatçı patojendirler. Bağışıklık sistemi zayıflamış kişilerde tek başına veya başka bakterilerle infeksiyon oluşturabilirler (Kayser ve ark., 2002).

Bu bakterinin oluşturduğu infeksiyonlar kural olarak, yabancı cisimlerin varlığıyla ilişkilidir. Bu infeksiyonların patojenitesinde, stafilokokların yabancı yüzeylerin üzerine yapışması ve biyofilm oluşturma yetenekleri rol oynamaktadır. Koagülaz (-) stafilokokların pek çok kemoteropotige karşı dirençli olmaları nedeniyle, etken oldukları

infeksiyonlar antibiyotik tedavisinde sıklıkla sorunlar ortaya çıkartmaktadır (Kayser ve ark., 2002).

1.4.3. *Streptococcus pneumoniae* ATCC 19615

Streptococcus pneumoniae, Gram (+) diplokok veya kısa, sert kıvrımlı zincirlerden oluşur. Klinik örneklerden ilk izole edildiğinde kapsüllüdür. *Streptococcus pneumoniae* fakültatif anaerob bir bakteri türüdür. Fakat klinik örneklerden ilk izolasyonunda % 5-10 CO₂'li ortamda inkübe edildiklerinde daha iyi ürerler. *Streptococcus* cinsinde bulunan diğer bakteriler gibi, besin gereksinimleri komplekstir. Üreyebilmeleri için kan veya seruma gereksinim duyarlar. % 5 koyun kanı ilave edilmiş beyin-kalp infüzyon agar, triptik soy agar veya çikolata agarda iyi ürerler (Somer ve ark., 2008).

Streptococcus pneumoniae hücre duvarında teikoik asit bulunur. peptidoglikan tabakaları sitokinlerin oluşumuna ve komplemanın aktivasyonuna neden olurlar. Kompleman hem klasik hem de alternatif yoldan aktive olarak inflamasyonun oluşumunda rol oynamaktadır (Somer ve ark., 2008).

1.4.4. *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883

Klebsiella, hareketsiz, sporsuz, bazı ortamlarda kapsül geliştirebilen bakterilerdir. Gram (-) ve *Enterobacteriaceae* familyasının genel özelliklerini gösteren çomakçıklardır (Bilgehan, 2004).

1.4.5. *Salmonella typhimurium* ATCC 98

Gram (-), basil/çubuk şeklinde oluşur. peritrik kirpikleri ile hareketli (S. Gallinarum-pillorum hariç), sporsuz, kapsülsüz, aerob veya fakültatif anaerob bir bakteridir. S. typhimurium'un etken olduğu hastalıklar, ateş, bulantı, kusma ve çeşitli abdominal şikayetler ile ortaya çıkar. Gastroenterit ve bakteriyemi ile metastatik lokal

infeksiyonlardır (Çakı, 2009).Tüm *Salmonellar*'da bulunan somatik (O) antijeni, protein ve lipitlere bağlı olmaktadır. Polisakkarit olan bir polisakkarit olup hapten özelliği taşımaktadır.

1.4.6. *Escherichia coli* ATCC 25922

Gram (-), düzgün basil/çubuk şekilli bir bakteridir. *E. coli* peritrik kirpiklidir. Laktozu fermente eder. O ve H antijenlerinden kaynaklanmaktadır. Karmaşık bir antijen yapısı vardır. Fimbriya antijenleri de tanımlanmıştır. Bakteri çubuk şeklindedir. boyutları 1-2 µm uzunluğunda ve 0,1-0,5 µm çapındadır (Todar, 2008). *E. coli* bakterileri, makroorganizmada normal flora üyesi olarak buldukları yerlerden başka yerlere ulaşabilirler. Bu durumda ait olmadıkları yerlerde üremeleri için elverişli koşullar varsa, bağırsak dışı infeksiyonlara neden olurlar. İdrar yolu infeksiyonlarına neden olur. Bu durum en sık rastlanan *E. coli* infeksiyonudur. Ya sadece alt üriner sistemi tutar veya böbrek kapsülünü tutar. Sepsis, yara infeksiyonları, safra kesesi infeksiyonları, apandisit, peritonit, erken ve yeni doğanda menenjit diğer infeksiyon türleridir (Türkmen 2011, Çakı, 2009). *E.coli*, endospor oluşturmadığından pastörizasyon ve kaynatma ile dejenere olur. Memeli hayvan türlerinde bağırsaklara adapte olarak vücut sıcaklığında çoğalır (Türkmen 2011, Çakı, 2009).

1.4.7. *Proteus vulgaris* ATCC 13315

Proteus bakterileri *Enterobacteriaceae* familyasında yer alır. Gram (-), 1-3x0,4 – 0,6µ çubuksu veya kokobasil görünümde, sporsuz kapsülsüz yapıdadırlar. Genelde sindirim sistemlerinde yerleşerek enfeksiyon oluştururlar (Bozkurt ve ark., 2005).

1.4.8. *Serratia marcescens* ATCC 8100

Serratia'lar doğada yaygın olarak bulunurlar. Son zamanlarda gittikçe artan sıklıkla enfeksiyona neden olan Gram (-) kokobasillerdir. *Serratia* cinsinin en önemli ögesi *Serratia marcescens*'tir. Bu türü kemoterapötik alan, retiküloendotelyal malignansisi olan ve immünkompromize hastalarda sık rastlanan bir mikroorganizmadır. *Serratia marcescens*'in sepsisten sorumlu dış membran antijenleri lipopolisakkaritten oluşmuştur (Türkmen 2011,Hamadeh ve ark., 1990). *Serratia marcescens* adı verilen bakteriosinleri ve O,H antijenleri bulunur (Anonim, 2009)

1.4.9. *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615

Streptococcus pyogenes, streptokok ailesinde önemli patojenlerden biridir. İnsanlarda etken olduğu özellikle sepsis, pnömoni, nekrotizan fasiit ve streptokokal toksik şok sendromu olur. İnvazif olmayan hastalıklar arasında ise farenjit ve orta kulak iltihabı gibi süperatif ve akut romatizmal ateş ve akut glomerülonefrit gibi süperatif olmayan hastalıklar yer alır. *S.pyogenes* enfeksiyonları önemli bir morbidite ve mortalite nedeni olup, dünya genelinde yılda yaklaşık 500.000 'e yakın bu enfeksiyonlardan öldüğü tahmin ediliyor.(O'Loughlin RE ve ark., 2000)

1.4.10. *Clostridium perfringens* ATCC 13124

Cl. perfringens anaerobik, gram pozitif, spor oluşturan çubuk şeklinde olan bir bakteri türüdür. Mikroskop altında genellikle tekli ve ikili olarak görünür ve nadiren de olsa zincir şeklinde de görünebilir. Sporları subterminal veya terminal pozisyonda bulunurlar. Bu bakteri hareketsizdir. Kapsül oluştururlar ve jelatini parçalar. Birçok karbohidratı fermente etme yeteneğine sahiptirler. *Cl. perfringens* sülfiti indirgeyen tek bakteri türüdür (Kuleaşan H. 2000).

1.4.11. *Bacillus cereus* ATCC 10876

Bacillaceae familyasına ait olup, gram(+) (bazı türleri değişken), aerobik veya fakültatif anaerobik, spor oluşturan, çubuk şeklinde katalaz (+) olan bakteriler. Çoğunlukla mezofilik türdür ve endospor oluşturuyor. 100 °C 'de 10 dakika kaynatma bakterinin vejetatif şekillerini öldürür fakat sporlar ölmeyebilir. Toprak kökenlidir. Toz, toprak ile gerekse su ile yayılım gösterir. Beyaz-krem renkli, sarı, pembe, portakal rengi ve siyah renkli pigment halinde koloniler oluştururlar. şekeri fermente ederler ve asit üretirler. Gaz oluşturmazlar. Proteinleri ise, amonyak oluşumu altında parçalarlar ve böylece kokuşmaya neden olur.



2. MATERYAL ve YÖNTEM

2.1. Materyaller

Nutrient brot No:2 (Oxoid), D- Biotin (F.W.247,3), L- Histidin (F.W. 191,7), K_2HPO_4 , $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, $NaNH_4(HPO_4 \cdot 4H_2O)$, NaCl (Fluka), Ampisilin trihidrat (Sigma), Sodyum azid (Merck) 4- Nitro – o – fenilendiamin (Aldrich), Sitrik asit monohidrat, NaOH, İRA 743, KCl, $MgCl_2 \cdot 6H_2O$, $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$, Na_2HPO_4 , NADP (F.W. 765,4), Glucose – 6 – fosfat, 2 Aminofluorene, 50 XVB tuzu, Kristal viyole

Suşlar: *Salmonella typhimurium* TA 98, *Salmonella typhimurium* TA 100, *E.coli* CM 571 (recA-); *E.coli* CM 611(uvr A-, lex A-)

2.1.1. Antimutajenite Testleri

Çalışmada kullanılacak olan *Salmonella typhimurium*'un TA 98 ve TA 100 suşlarının master plaklarının hazırlanması, genetik özelliklerinin kontrol edilmesi ve stok kültürlerinin hazırlanması ve daha sonra, mantar ekstralarının antimutajenik etkilerinin araştırılması için antimutajenik test çalışmalarında, Maron ve Ames tarafından bulunan (Maron, D.& Ames, B.1983), Ruan ve ekibi tarafından geliştirilen essey sistemi uygulandı. (Ruan, C.,1992).

2.1.2. Test Suşlarının Saklanması

Bakteriler liyofilize şekilde ve ampisilinli bakterilerde buzdolabında saklanacaklardır. Genetik özellikleri doğrulanan test suşlarının bu özelliklerini uzun süre koruyabilmeleri için dondurulmuş örnekleri hazırlandı. Bu amaçla, *S. Typhimurium* TA 98 ve TA 100 suşları, sıvı üreme ortamında ml'de $1-2 \times 10^9$ bakteri bulunarak şekilde üretilerek hazırlandı. Bakteri kültürlerine, kültürün her ml si için 0,09 ml olacak şekilde (spektrofotometrik saflıkda) DMSO eklenerek hazırlanan kültürler 1-2 ml lik soğuğa

dayanıklı plastik tüplere dağıtılarak kuru buz içinde dondurulup -70° C lik derin dondurucuda saklandı. (Ascioglu, C. ve Bagci, H. 1992)

2.1.3. Master Plakların Hazırlanması

Rutin mutajenite çalışmalarında kullanılmak üzere, *S. typhimurium* TA98 ve TA100 suşları için hazırlanarak genetik işaretleri doğrulanan suşlar histidi/biotin/ampisilin içeren plaklara ekildi. Bu plaklar +4 ° C de iki ay süreyle saklanmak üzere hazırlandı.

Ayrıca kendiliğinden geriye dönüş sıklığının kontrolü negatif kontroller yapıldı. Her negatif kontrol için test ortamına sadece sediment ekstresinin elde edildiği çözgen sıvı eklendi ve (bakteri TA98/ TA100+ çözgen) üstte kalacak top agara (45° C su banyosunda tutulan) eklenerek dökme plaka ekimi yapıldı. Pozitif kontroller olarak TA 98 için nitrofluorene 20µg (2NF) (CAS no. 607-57-8) ve TA 100 için Na azide 0.5µg (AZS) (CAS no. 26628-22-8) 1.5 mg/plate kullanıldı.

Liyofilize şekilde ve ampisilinli petrielerde buzdolabında saklanan bakteriler, kullanılacakları zaman sıvı besiyerinde üretildi. Deneylerde kimyasal test bileşeni olarak kullanacağımız mantar ekstreleri (2 ayrı çözgen içinde) sıvı örnekler olarak -80 derecede saklandı. Antimutajenik essey çalışmalarında herbir örnekden 100µl, 100µl bakteri (yaklaşık $1-2 \times 10^9$ cells/ml; TA 98, TA100) ile öninkübasyonu yapıldıktan dökme plaka yöntemiyle minimal agar plakalarına ekimler yapılarak 37°C de 3 gün süre ile inkübe edilmiştir. Bütün esseyler ikili olarak çalışıldı. Olası antimutajenik etkiden dolayı oluşacak His⁻ > His⁺ revertant bakteri sayımları yapıldı. Her deney seti için spontane revertant bakteri sayısı (DMSO, etil alkol, metil alkol ve su) her bir Salmonella suşu için saptandı.

2.1.4. İstatistik analizleri

Bir maddeye antimutajen denilebilmesi için histidin prototroflarının sayısının spontan bakteri koloni sayısının en fazla iki katından az olması gerekmektedir. Antimutajenik etki için istatistiksel değerlendirmede, >80% revertant hücre sayısı ilgili su örneğindeki çözgede antimutajenik olmadığına işaret etmiştir. Diğer değerlendirmeler için tek yönlü Anova testi uygulandı.

2.1.5. Arazi Çalışmaları ve Mantar Örneklerinin Toplanması

Arazi çalışmaları 2018 bahar aylarında Yozgat- Akdağmadeni ilçesi çevresinde ki ormanlık alanlar, çalılık ve koruluklar, yüksek dağ eteklerinde, ilkbahar aylarında gerçekleştirildi. Arazi çalışmaları sırasında toplanan örnekler etiketlenilerek ve fotoğrafları alınarak kaydedildi.

2.1.6. Çalışmada Kullanılan Besi Ortamları

Çalışmada kullanılan suşları devamlılığını sağlamak ve aktifleştirmek için Nitrüent Agar (LABM, LAB8) Nutrient Broth (LAB M, LAB1H) kullanıldı. Bitki ekstralarının antibakteriyal aktivitelerini saptamak amacıyla yapılan Disk Difüzyon testi için Muller Hilton Agar (LAMB, LAB39) kullanıldı (Anonim, 2009).

Yozgat Akdağmadeni bölgesi iklim şartlarına dikkate alınarak makromantar örneklerimizi tez dönemi süresince bahar aylarını kapsayan dönemlerde (ağaçlık ve dağ/tepe etekleri) periyodik olarak gözlenerek toplanmıştır. Her bir örneğin alındığı lokasyon örneklere etiketlenilerek yer fotoğrafları çekilmiş ve kaydedilmiştir.

Getirilen mantar örneklerinin spor baskıları alınarak kurutma cihazında 10-12 saat 40-60 °C de bekletilerek kurumaları sağlanmış ve +4 °C de muhafaza edilmiştir (Benedict ve diğ., 1983).

2.1.7. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Çözücüler

Çözücü olarak Metanol (MERCK) ve steril distile su tercih edilmiştir.

2.1.8 Standard Antibiyotikler

Sertifikalandırmış firmalardan temin edilmiştir. Pozitif kontroller olarak kullanılmıştır.

2.1.9. Sterilizasyon

Elde edilen mantar ekstrelerin kontaminasyon riskine karşı, kimyasal içeriklerinin stabilitesini sağlayacak tipte sterilizasyon yöntemi seçilmiştir. Bu amaçla aşamalı filtrasyon yöntemi kullanılmıştır (Whatman No.2) ve 0.45mikrometre çaplı membran filtrelerden (SARTORIUS) geçirilerek steril edilmiştir.

2.1.10. Ekstrakt İçeren Disklerin ve Kültürlerinin Hazırlanması

Bu metoda göre 6 mm çapında boş antibiyotik disklere (OXOID) aseptik şartlara uyularak ekstrelerden 20 µl emdirilmiştir. Çalışmada besi yeri olarak mikroorganizmaların gecelik kültürlerinde Muller Hinton Broth (Fluka), antimikrobiyal aktivitesini belirlemede Mueller Hinton Agar (Fluka) kullanılmıştır.

Stok bakteri türlerini aktifleştirmek amaçlı kültürler 18 saat (37⁰C) inkübasyonları Muller Hinton Broth (Fluka) sıvı besi ortamı kullanılmıştır. Stok kültürden alınan bakteri suşları ayrı ayrı 4–5 ml sıvı besiyerinde süspense edilmiştir. Bu süre sonunda bakteri süspansiyonları 0,5 McFarland standart tüpüne karşı steril serum fizyolojik ile ayar edilerek her bir bakteri süspansiyondan 0,1 ml petrilere (Muller Hinton Agar-Fluka) yayma yöntemi ile aseptik şartlarda uygulanmıştır. Sonrasında ekimi yapılan petrilere eşit aralıklarla steril diskler (06mm) aseptik şartlarda yerleştirilerek her birine elde edilen mantar ekstreleri (yaklaşık 10mikrolitre) uygulanmıştır. Kontrol diskleri olarak penicilline kullanılmıştır. Yapılan inokulasyonlar sonrasında petriler 36 -3 ⁰C' de 24 saat, inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında disklerin çevresinde oluşan zonlar ölçülerek kaydedilmiştir. Deneyle 2 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

3. BULGULAR

3.1. *Morchella elata* Pers.'nın Antimikrobiyal Aktivitesi

Morchella elata'nın *Proteus vulgaris* ATCC 13315, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, üzerine yapılan çalışmalarda tüm ekstralarının antimikrobiyal aktivitesi olmuştur. *Escherichia coli* bakterisine karşı metanol ve su ekstralarının, *Bacillus cereus* ATCC 10876 üzerine metanol ekstralarının, üzerine su ekstresinin, üzerine metanol ve su ekstralarının etkili olduğu gözlenmiştir.

3.2. *Morchella esculenta* Pers. ex St.'nın Antimikrobiyal Aktivitesi

Morchella esculenta'nın tüm ekstralarının *Proteus vulgaris* ATCC 13315, üzerine antimikrobiyal aktivitelerinin bulunduğu tespit edilmiştir. üzerine metanol ve su ekstralarının, *Bacillus cereus* üzerine metanol ekstresinin üzerine metanol ve su ekstralarının antimikrobiyal aktivitelerinin bulunduğu ortaya çıkmıştır.

Staphylococcus aureus ATCC 25923, *Escherichia coli* üzerine sadece metanol ekstralarının etkili olmuştur. *Morchella esculenta*'nın ekstralarının hiç birinin üzerine antimikrobiyal aktiviteleri tespit edilememiştir.

3.3. Ekstraksiyon Verimliliği

Morchella esculenta ve *Morchella elata*'nın sapka ve sap kısımlarının metanol ve su çözücülerinde çözülerek ekstre elde edilebilmesi sonucunda % verimlilikleri belirlendi. Her iki türün su ekstre verimleri birbirine yakın, metanol ise *M. esculenta*'nın ekstraksiyonunda daha verimli olduğu gözlemlendi.

Mantar Türü	Mantar Ekstreleri	Ürün verimliliği %
<i>Morchella esculenta</i>	Su	43
	Metanol	38
<i>Morchella elata</i>	Su	41
	Metanol	33

*Ekstraksiyon verimi ürünYield(%) = ekstre (g)/10 g mantar × 100

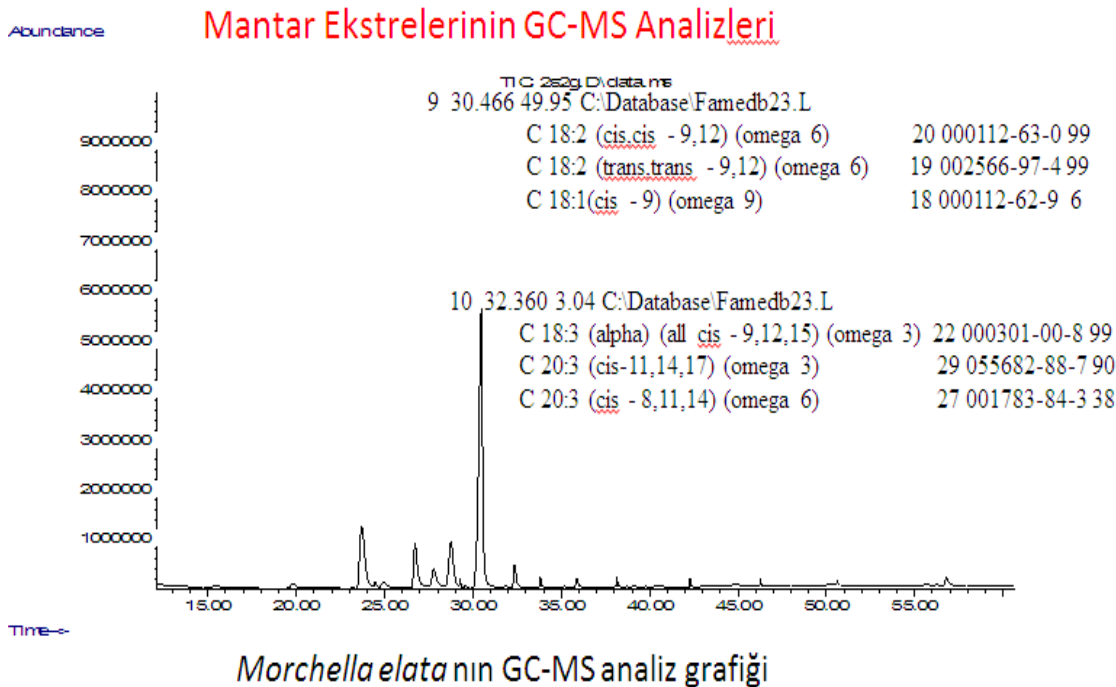
Tablo 3.1. *Morchella esculenta* ve *Morchella elata* nın 2 farklı çözücüdeki ekstraksiyon verimleri

3.3.1. Mantar Ekstrelerinin GC-MS Analizleri

Library Search Report

Data Path : D:\Morchella mantar2019\
Data File : 2s2g.D
Acq On : 5 May 2019 12:25 (#1); 5 May 2019 12:13 (#2)
Operator :
Sample : 2s2g Misc :
ALS Vial : 22 Sample Multiplier: 1

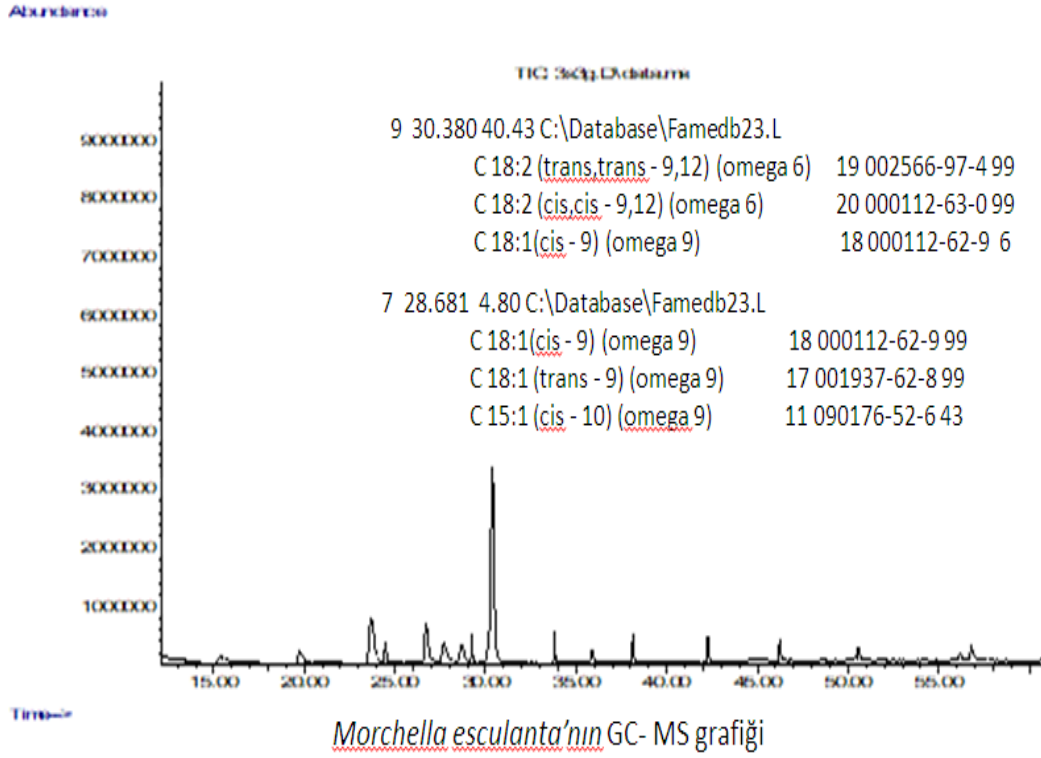
Search Libraries: C:\Database\Famedb23.L Minimum Quality: 80
C:\Database\Flavor3.L Minimum Quality: 80
C:\Database\W8N05ST.L



Grafik 3.1. *Morchella elata*'nın GC-MS analiz grafiği

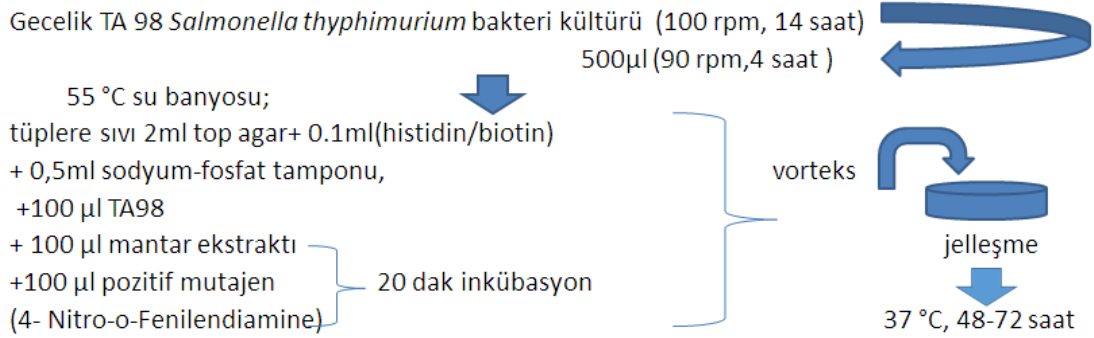
Data Path : D:\Morchella mantar2019\
 Data File : 3s3g.D
 Acq On : 5 May 2019 13:29 (#1); 5 May 2019 13:17 (#2)
 Operator :
 Sample : 3s3g Misc :
 ALS Vial : 23 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\Famedb23.L Minimum Quality: 80
 C:\Database\Flavor3.L Minimum Quality: 80
 C:\Database\W8N05ST.L



Grafik 3.2. *Morchella esculanta*'nın GC- MS analiz grafiği

Antimutajenite Testleri



Süre sonunda plaklardaki koloni sayımı. Her bir doz için üç ayrı plak kullanıldı.
 negatif kontrol (DMSO) pozitif kontrol (sadece pozitif mutajen)

Mantar ekstrlerinin (3s3g) GC-MS analizleri aşagıda da gözleendiği üzere; 30-33 dak süresinde çokdan aza doğru omega3, omega6 ve omega9 yağ asitlerinin pik yaptığı gözlenmiştir.

Morchella mantar ekstrlerinin antimutajenite özellikleri *Salmonella thyphimurium* TA98 suşu (mutasyon özellikleri; hisD3052, frameshift GC, rfa, Duvrb, pKM101) ile test edilmiştir (Maron, J ve B. Ames.1994). Deneyler öncesinde test sisteminin bakteri suşunun (*Salmonella thyphimurium* TA98) bilinen genetik mutasyonları kendi protokolündeki prosedürler takip edilerek kontrol edilmiştir. Deneyler her set üç tekrarlı, (pozitif kontrol 4- Nitro-o Fenilendiamin-200µg / 100µl); negatif kontrol, metanol ve dH₂O) olarak gerçekleştirilmiştir. Antimutajeniteler, 72 saatlik inkübasyondan sonra (37 ° C) değerlendirilmiştir. Kontrol grupları ile elde edilen sonuçlar SPSS 19.0 programı ile analiz edilmiştir.

Mantar ekstrleri	M(metanol) means/ortalama	M (dis.su) means/ortalama	Standart Sapma
1. <i>M. esculanta</i> (ş)	45,3612	52,0038	1,61302
2. <i>M. esculanta</i> (g)	45,0391	50, 1492	2,14349
3. <i>M. elata</i> (ş)	33,3040	47,25804	1,06504
4. <i>M. elata</i> (g)	38,5274	46,73201	2,03988

Tablo 3.2. *M. esculanta* ve *M. elatanın* şapka(ş) ve gövde(g) kısımlarının metanol ve su ekstrlerinin antimutajenisite test sonuçları

Mantar ekstreleri	Çözücüler	Konsantrasyon	Geriye dönen (revertant) koloni sayısı	
			Ortalama±SD	% İnhibisyon
Mantar Ekstreleri M. esculanta	Negatif kontrol ^a	0,1 ml/petri	46	
	Pozitif kontrol ^b	1mg/petri	487	
	Metanol	5mg/petri	322±16	30,60%
		0,5mg/petri	348±23	18,30%
		0,05mg/petri	357±45	15,20%
	Pozitif kontrol ^b	1mg/petri	487	
	Mantar Su	5mg/petri	318±33	28,80%
		0,5mg/petri	329±54	24,30%
		0,05mg/petri	352±34	16,40%
	Mantar Ekstreleri M. elata	Negatif kontrol ^a	0,1ml/petri	46
Pozitif kontrol ^b		1mg/petri	487	
Metanol		5mg/petri	237±32	55,30%
		0,5mg/petri	286±55	34,20%
		0,05mg/petri	341±27	20,70%
Pozitif kontrol ^b		1mg/petri	487	
Su		5mg/petri	327±32	32,40%
		0,5mg/petri	350±45	17,70%
		0,05mg/petri	382±34	13,70%

* a; DMSO (%10) b; 4- Nitro-o-Fenilendiamine,NPD (%0,01)

Tablo 3.3. Mantar ekstrelerinin antimutajenite test değerlendirilmesi

Test Mikroorganizmaları	Metanol				Pozitif Kontroller	
	1mş	2mş	1mg	2mg	Penicillin	Ampicillin
<i>Proteus vulgaris</i> (ATCC 13315)	1,5	1,3	4,2
<i>Streptococcus pyogenes</i> (ATCC 19615)	1,3	1,7	5
<i>Clostridium perfringes</i> (ATCC 13124)	1,7	1,4	5,1
<i>Bacillus cereus</i> (ATCC 10876)	1,3	1,3	4,4
<i>Serratia marcescens</i> (ATCC 8100)	1,3	1,3	4,3
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATCC 13883)	0,8	1	0,9	1,2	3,5
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	0,6	0,7	1	0,9	2,7
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (ATCC 12228)	0,7	0,6	0,7	0,8	1,3
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	0,9	0,8	0,7	2
<i>Salmonella typhimurium</i> (TA 98)	0,9	0,8	0,6	1	2,5
<i>Proteus mirabilis</i>	1,3	0,8	0,9	0,9	1,9
<i>Bacillus spiziens</i>	1	1	0,7	0,5	2,8
<i>Hafnia alvei</i>	0,8	1	0,9	2,1
<i>Salmonella enteritidis</i>	0,7	1	1,1

Tablo 3.4. Mantar örneklerinin (*Morchella esculenta* ve *Morchella elata*) 14 farklı patojenik bakteri suşuna inhibisyon etkileri, (50mg/ml); N. *Penicillin A*, *Ampicillin*

Mantar (*Morchella esculenta* ve *Morchella elata*) su, metanol ekstreleri filtrasyonla steril edildikten sonra 50mg/ml olarak hazırlanmıştır. Sonra, 6mm steril diskler önceden yüzeyine 0,1 ml bakteri kültürü inoküle edilmiştir. *Muller Hinton Agar* besi ortamlarına yerleştirilmiştir. bakteri suşları;

Streptococcus pyogenes (ATCC 19615), *Bacillus cereus* (ATCC10876) *Serratia marcescens* (ATCC 8100), *Clostridium perfringes* (ATCC 22525), *Proteus vulgaris* (ATCC 13315)

Yapılan ölçümlerin karşılaştırılması yapılmıştır. Bu ölçümlere göre;

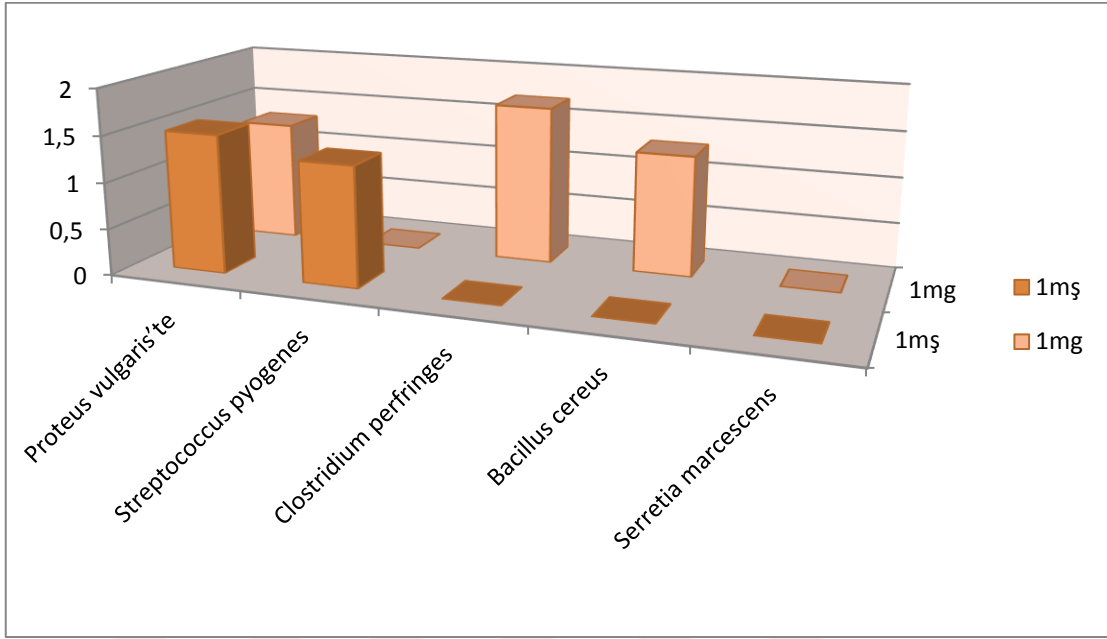
Proteus vulgaris 'te 1 mş de 1, 5 mm ve 1 mg de 1,3 mm inhibisyon zonlarının çaplarını göstermektedir.

Streptococcus pyogenes 1 mş de 1, 3 mm ve 2 mş de 1,3 mm inhibisyon zonlarının çaplarını göstermektedir.

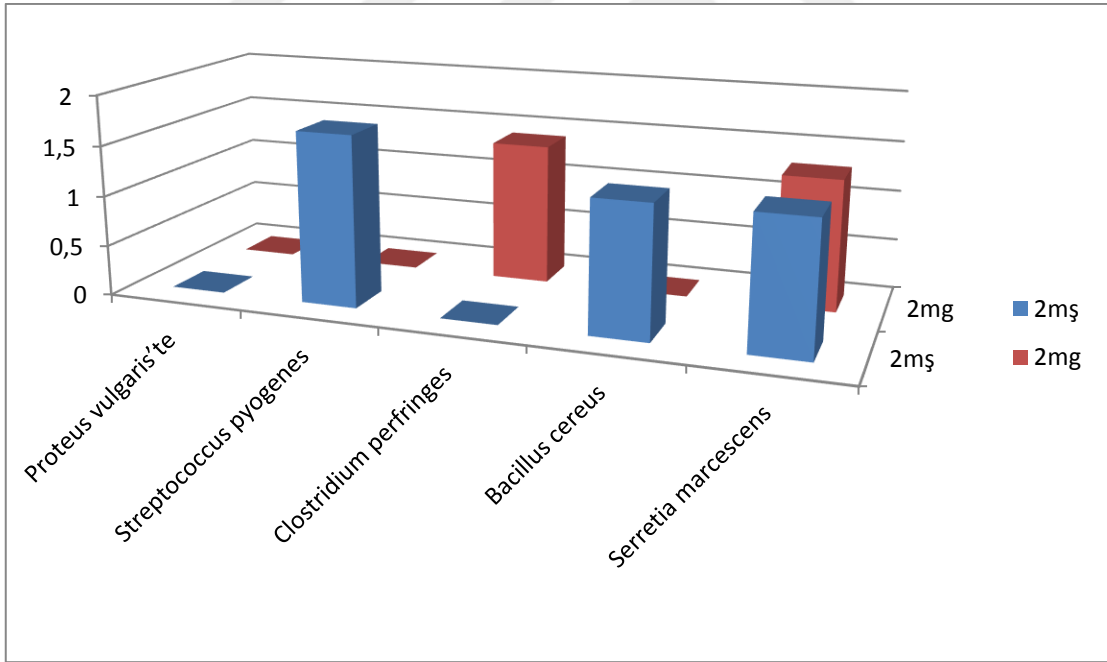
Clostridium perfringes 1 mg de 1, 7 mm ve 2 mg de 1,4 mm inhibisyon zonlarının çaplarını göstermektedir.

Bacillus cereus 2 mş de 1, 3 mm ve 1 mg de 1,3 mm inhibisyon zonlarının çaplarını göstermektedir.

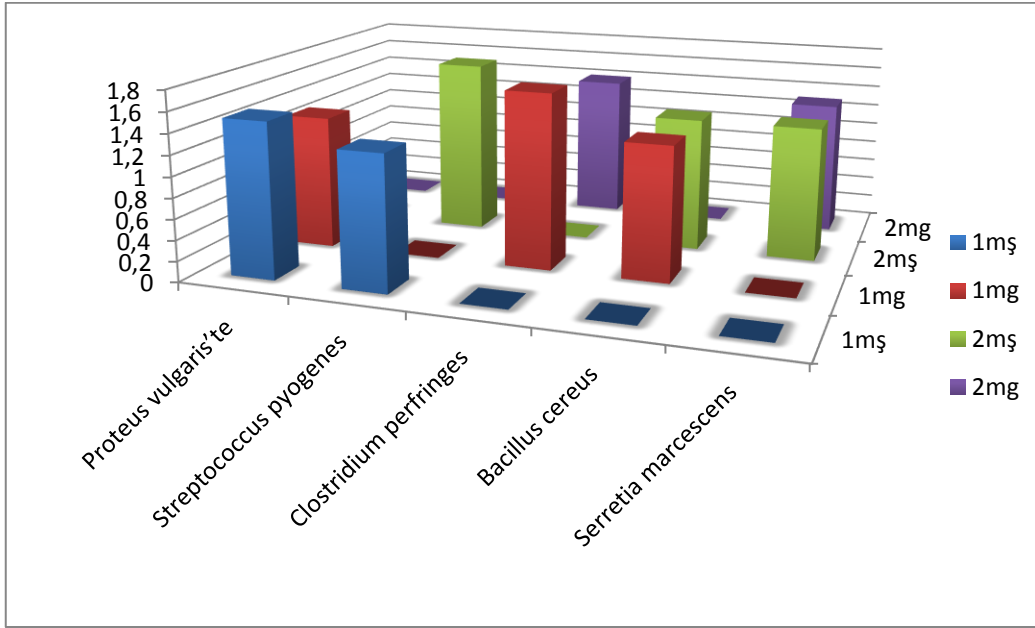
Serratia marcescens 2 mş de 1, 3 mm ve 2 mg de 1,3 mm inhibisyon zonlarının çaplarını göstermektedir.



Grafik 3.3. 1mş ve 1 mg ölçüm sonuçları



Grafik 3.4. 2 mş ve 2 mg ölçüm sonuçları



Grafik 3.5. 1mş, 1 mg, 2 mş ve 2 mg ölçüm sonuçları

Proteus vulgaris 'te 1 mş de max vermiştir. 1 mg de 1,3 mm çıkmıştır o kadar etkili olmamıştır. 2mş ve 2mg de etkili çıkmamıştır.

Streptococcus pyogenes 1 mş de ve 2 mş de 1,3 mm çıkmıştır orta düzeydedir. Ama 1 mg ve 2 mg de etkili çıkmamıştır.

Clostridium perfringens 1 mg de max değerde olmuştur. 2 mg de 1,4 mm düzeyinde çıkmıştır. Çok etkili değildir. 1 mş ve 2 mş etkili çıkmamıştır.

Bacillus cereus 2 mş de ve 1 mg de 1,3 mm çıkmıştır. Orta düzeyde etkilidir. 1 mş ve 2 mg de etkili değildir.

Serretia marcescens 2 mş de ve 2 mg de 1,3 mm orta düzey oranında çıkmıştır. 1 mş ve 1 mg etkili değildir.

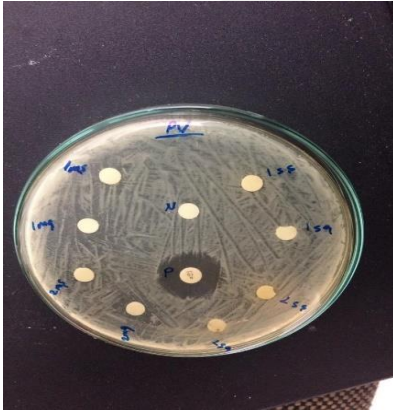
1 mş de en etkili *Streptococcus pyogenes* 'dir.

1 mg de en etkili *Clostridium perfringes* 'dir.

2 mş de en etkili *Streptococcus pyogenes* 'dir.

2 mg de en etkili *Clostridium perfringes* 'dir.

Şekil 3.1. Ekim yapılan mantar ekstrilerinin görselleri



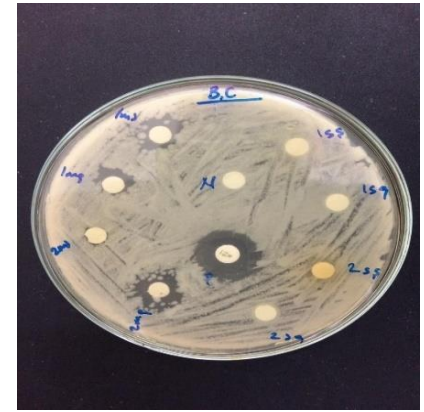
Proteus vulgaris



Staphylococcus pyogenes



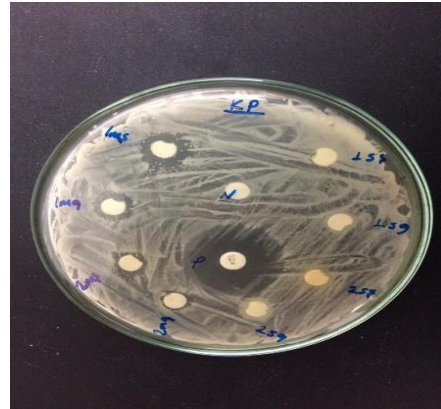
Clostridium perfringes



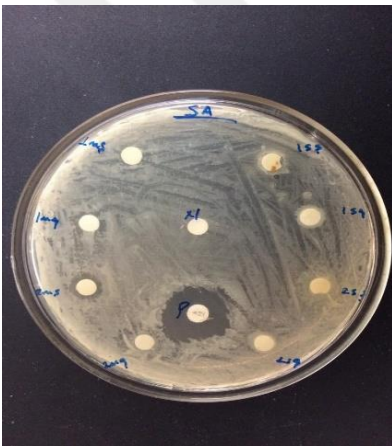
Bacillus cereus



Serratina marcescens



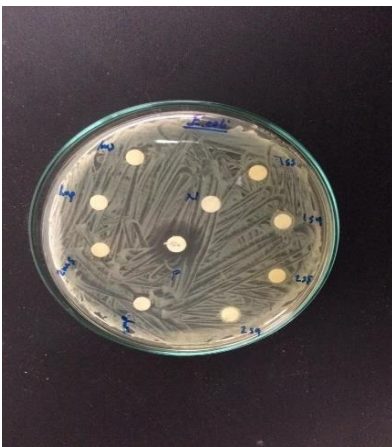
Klebsiella pneumoniae



Staphylococcus aureus



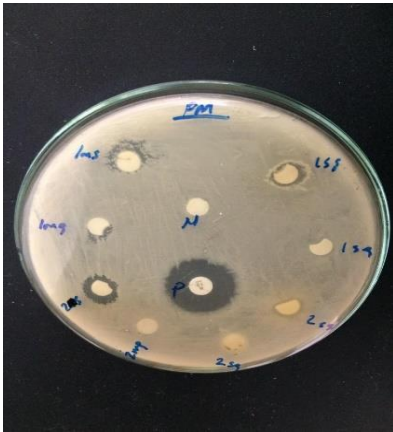
Staphylococcus epidermidis



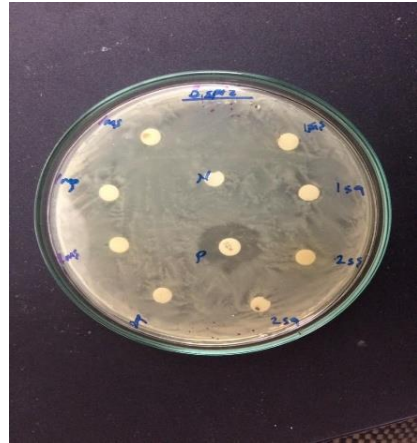
Escherichia coli



Salmonella thyphimurium



Proteus mirabilis



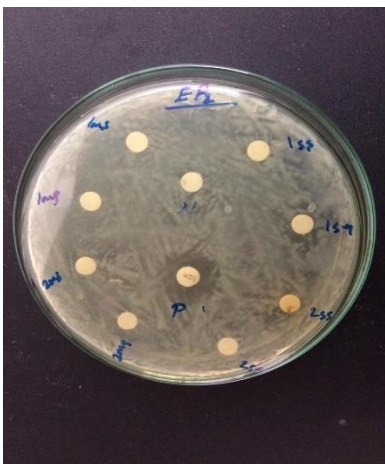
Bacillus spiziens



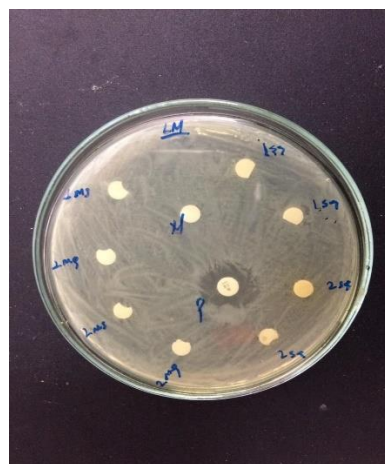
Hafnia alvei



Salmonella enteritidis



Listeria monocytogenes



Elongation factor 2

4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada *Morchella elata*, *Morchella esculenta*, metanol ve su ile elde edilen ekstraktların *Proteus vulgaris* ATCC 13315, *Staphylococcus pyogenes* ATCC 19615, *Clostridium perfringes* ATCC 13124, *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Serratia marcescen* ATCC 13883, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium* TA98, *Proteus mirabilis*, *Bacillus spiziens*, *Hafnia alvei*, *Salmonella enteritidis* karşı antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır. Etkisi araştırılan mantar ekstraktlarının test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal etkilerinin mikroorganizmalara göre farklılık gösterdiği saptanmıştır.

Morchella elata'nın *Proteus vulgaris* ATCC 13315, *Staphylococcus pyogenes* ATCC 19615, *Clostridium perfringes* ATCC 13124, *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Serratia marcescen* ATCC 13883, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium* TA98, *Proteus mirabilis*, *Bacillus spiziens*, *Hafnia alvei*, *Salmonella enteritidis* en yüksek methanol ekstraktlarının üzerinde etkili olmuştur. Işiloğlu ve Çoban (1992)'nin *Morchella elata* ile ilgili yapmış oldukları çalışmalarda, kullandıkları Gram (+) ve Gram (-) test mikroorganizmalarına karşı Antimikrobiyal aktivite bulunmuştur. Ancak mayalara karşı bir etkisi bulunmamıştır. Bu makrofungusun bazı mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivitesi bulunmuştur. *Morchella elata*'dan hazırlanan methanol ve su ekstraktlarının bazı mikroorganizmalara karşı etkili olduğu bildirilmiştir

Morchella esculenta'nın *Proteus vulgaris* ATCC 13315, *Staphylococcus pyogenes* ATCC 19615, *Clostridium perfringes* ATCC 13124, *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Serratia marcescen* ATCC 13883, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium* TA98, *Proteus mirabilis*,

Bacillus spiziens, *Hafnia alvei*, *Salmonella enteritidis* metanol ekstrelerinin etkili olduğu görülmüştür.

Morchella elata ve *Morchella esculenta* mantarlarından elde edilen metanol ve su ekstraktlarının toplam *antimikrobiyal* aktiviteleri belirlenmiştir.

Staphylococcus pyogenes ATCC 19615, *Clostridium perfringes* ATCC 13124 de 1,7 mş de max vermiştir. Hücre duvarı farkı bulunmaktadır. *Streptococcus pyogenes* 1 mg ve 2 mg de etkili çıkmamıştır. *Proteus vulgaris* ATCC 13315 2mş ve 2mg de etkili çıkmamıştır. Elde edilen sonuçlara göre test mikroorganizmalarına karşı değişik çözenlerden hazırlanan ekstrelerin farklı etkiler oluşturdukları belirlenmiştir.

Yapılan bu tip çalışmalarda halk makrofungusları yaygın olarak tüketmektedir. makrofunguslar bir antagonistik madde deposu durumundadır. Ayrıca doğal bir besin kaynağıdır. makrofungusların kullanım alanlarının belirlenmesi ve bunlardan izole edilecek antimikrobiyal maddelerin tanılanması amacını taşımaktadır. Ayrıca araştırmaların sonuçlarına göre tıp ve endüstride kullanılabilme imkanlarını elde edilebilecek ve onlardan gerektiği gibi yararlanmamız mümkün olacaktır.

5. KAYNAKLAR

- Değer Kaleli, Fügen Durlu- Özkaya Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları
- Ascioglu.C. ve Bağcı H. (1992) Microbial Detection Of Mutagens In Filtrates Of Airborne Particulates From Ankara. Doğa Tr. Journal of Biology 16, 33-58 TÜBİTAK
- Barış, A., (2007). Farklı tipteki pestisitlerin muhtemel mutajeniteleri Ames / Salmonella/ Mikrozom test yöntemiyle araştırılması, 1-3. Bilgehan, H., 1992. Klinik Mikrobiyolojik Tanı. 1. Baskı, Fakülteler Kitabevi.
- Boyacıoğlu, M., (2004) “Determination of direct mutagens in sediment samples of İzmir Bay”E.U.Journal of Fisheries ve Aquatic Sciences.Cilt/Volume21 ,Sayı/ Issue (1-2):23 27.
- Bozkurt, H., Güdücüoğlu, H., Kurtoglu, M.G., Körkoca, H., Çiftçi, İ.H., Aygül, K. ve Chang, R., “Functional properties of edible mushrooms”, *Nutrition Reviews*, 54(11), (1996).
- Cheung, P. C. K., “Mushrooms As functional foods”, Hoboken, NJ: John Willey ve Sons, (2008).
- Çakı, Z.,2009. Ege Denizi Kıyılarında Bulunan Bazı Makro Alg Türlerinin Antimikrobiyal ve Antioksidan Aktivitelerinin Saptanması. (Doktora Tezi), Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü Biyoloji ABD, Manisa
- Çalışkan, S., 2001. Bazı Makrofungus Türlerinin Antimikrobiyal Etkisi Üzerine Araştırmalar. (Yüksek Lisans Tezi), Pamukkale Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü,Biyoloji ABD, Denizli
- Çete, S., Arslan, F. ve Yaşar, A., 2005. *Aloe vera* ve *Nerium oleander*'in Bazı Mikroorganizmalara Karşı Antimikrobiyal Aktivitelerinin Araştırılması ve Bu Bitkilerin Siklosporinli Karaciğer Dokusundaki Ksantin Oksidaz Enzim Aktivitesine Etkilerinin İncelenmesi. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, 18(3), 375–380, Ankara.
- De Flora, S., (2005). Bagnasco, M., Lanachhi, P., (1991), Genotoxic, carcinogenic, and teratogenic hazards in the marine environment, with special reference to the Mediterranean Sea, *Mutation Research*, 258, 285-320
- Diyabalange, T., Mulabagal, V., Mills, G., DeWitt, D. L., ve Nair, M. G., “Health-beneficial qualities of the edible mushroom, *Agrocybe aegerita*” *Food Chemistry*, 108(1), (2008).
- GESAMP, Group of Experts on Scientific Aspects of Marine Environment Protection, The Revised GESAMP Hazard Evaluation Report, (2002), London,
- Gürler, N., 2007. Ülkemizde Saptanan Pnömonokok Tipleri ve Direnç. Çocuk Enf. Derg. 2007; 1: Özel Sayı 1; 46-51 <http://www.mikrobiyoloji.org>, (18.10.2011)
- Kayser, H.F., Bienz, K.A., Eckert, J., Zinkernagel, R.M., 2002. Tıbbi Mikrobiyoloji, Nobel Kitabevi, Genişletilmiş ve gözden geçirilmiş 9. Baskı
- Korkmaz, Burcu., Bazı 2-sübstitüe perimidin bileşiklerinin mutajenik aktivitelerinin Ames mutajenite testi ile belirlenmesi, 1-3.
- Kuleşan H. 2000. Clostridium perfringens. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Ank. Üniv. Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Yayını, Genişletilmiş 2. Baskı. Sim Matbaası, Ankara, 522 s.

- Lindequist, U., Niedermeyer, T. H., ve Jülich, W. D., “The pharmacological potential of mushrooms”, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2(3), (2005).
- Maron, D. M. ve Ames, B.N. (1983) Revised methods of *Salmonella* mutagenicity test. *Mutat. Res.*, 113, 173–215.
- Mercangöz, A. ve B. A. Tüylü, 2000. 2, 4, 5 Tri (Süstitüe) Fenil İmidazol ve Türevlerinin Mutajenik Etkilerinin Ames/*Salmonella* Test Sisteminde Saptanması. *Turk J Biol* 24(2000)57–64.
- Mau, J. L., Chao, G. R., ve Wu, K. T., “Antioxidant properties of methanolic extracts from several ear mushrooms”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(11), (2001).
- Mumcu, E., 2005. Seydi çayı (Eskişehir) çevresinden toplanan su ve toprak örneklerinde Ames / *Salmonella*/ mutajenite testi ile bor elementinin mutajenitesinin araştırılması, 1-4,36, 42.
- Ooi, V.E.C., LIU, F., “Immunomodulation and anti-cancer activity of polysaccharide-protein complexes”, *Current Medicinal Chemistry* 7 (7), (2000).
- O'Loughlin RE, Roberson A, Cieslak PR, et al. The epidemiology of invasive group A streptococcal infection and potential vaccine implications: United States, 2000-2004. *Clin Infect Dis* 2007; 45(7): 853-62.
- Öztürk, A., ve Çopur, Ö. U., “Derleme-Mantar Bileşenlerinin Teröpatik Etkileri” *Bahçe*, 38(1), (2009).
- Ruan C, Liang Y ve Liu J et al. (1992), Antimutagenic effect of eight natural foods on moldy foods
- Smith, J.E., Rowan N.J. ve Sullivan, R., “Medicinal Mushrooms: Their therapeutic properties and current usage with special emphasis on cancer treatments”, *Cancer research UK.*, (2002).
- Sümer, S., 2006. Genel Mikoloji. Nobel Yayın Dağıtım, 59–61, Ankara.
- Tatlı, A., 1996. Genel Biyoloji. Etam Matbaası, 7–12, Kütahya.
- Tamer, A.Ü., Gücin, F. ve Solak, M.H., 2006. Mikolojiye Giriş. Celal Bayar Üniversitesi, 9–10, Manisa
- Taner, H., Bazı Makrofungusların Antimikrobiyal Aktivitelerinin Araştırılması.(Yüksek Lisans Tezi), Selçuk Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya 2002
- Türkekul, İ., Tokat Yöresinde Yetişen Makromantarlar Üzerinde Taksonomik Bir Araştırma. (Doktora Tezi), Karadeniz Teknik Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon 2001

6. ÖZGEÇMİŞ

İrfan Yalçın 01.02.1990 tarihinde Alicik Köyünde dünyaya geldi. İlköğretimini Alicik Köyünde tamamlayıp, Liseyi Akdağmadeni Lisesinde bitirerek 2007 tarihinde mezun oldu. Üniversiteyi 2009 yılında Bozok Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünü kazandı. 2014 yılında üniversiteyi tamamladı. Yüksek Lisansını Gaziosmanpaşa Fen Bilimleri Enstitüsü Genel Biyoloji Ana Bilim Dalı'nda 2015 yılında başladı. 2016-2017 tarihleri arasında Alicik Köyü'nde Öğretmenlik yaptı ve daha sonra farklı işlerde çalıştı. Halen Akdağmadeni Belediyesinde çalışmaktadır.

