

**Çeşitli Makrofunguslara Ait Fruktifikasyon,
Vejetatif Misel Ve Eksopolisakkaritlerin
Antimikrobiyal Aktiviteleri
Üzerine Çalışmalar**

M. Said Demir

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı

Temmuz 2007

**Studies On Antimicrobial Activity
Of Some Macrofungus Fructifications,
Vegetative Myceliums And
Fungal Exopolysaccharides**

M. Said DEMİR

MASTER OF SCIENCE THESIS

Department of Biology

JULY 2007

**ÇEŞİTLİ MAKROFUNGUSLARA AİT
FRUKTİFİKASYON, VEJETATİF MİSEL
VE EKSOPOLİSAKKARİTLERİN
ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİ
ÜZERİNE ÇALIŞMALAR**

M. Said DEMİR

**Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Lisansüstü Yönetmeliği Uyarınca
Biyoloji Anabilim Dalı
Genel Biyoloji bilim Dalında
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır**

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Mustafa YAMAÇ

Temmuz 2007

M.Said DEMİR'in YÜKSEK LİSANS tezi olarak hazırladığı “Çeşitli makrofunguslara ait Fruktifikasyon, vejetatif misel ve eksopolisakkaritlerin antimikrobiyal aktiviteleri üzerine çalışmalar” başlıklı bu çalışma, jürimizce lisanüstü yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek edilmiştir.

../../....

Üye : Yrd. Doç. Dr. Mustafa YAMAÇ (Danışman)

Üye : Prof. Dr. Merih KIVANÇ

Üye : Yrd. Doç. Dr. Buket KUNDUHOĞLU

Üye : Yrd. Doç. Dr. Ahmet ÇABUK

Üye : Yrd. Doç. Dr. Cansu Filiz İŞCEN

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu' nun/...../..... gün ve/..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Abdurrahman KARAMANCIOĞLU

Enstitü Müdürü

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖZET	iv
SUMMARY	v
TEŞEKKÜR.	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
1.GİRİŞ	1
1.1. Genel Bilgiler	1
1.1.1. Mikrobiyal eksopolisakkaritler ve genel özellikleri	4
1.1.2. Bakteriyel polisakkaritler	6
1.1.3. Fungal polisakkaritler	7
1.1.3.1. Schizophyllan ve Scleroglukan	7
1.1.3.2. Lentinan	8
1.1.3.3. Grifon-D(GD)	9
1.1.3.4. Krestin (PSK), Polisakkaropeptid (PSP) ve Coriolan	10
2. MATERİYAL	11
2.1. Çalışmada Kullanılan Makrofungus Türleri ve Tanımları	11
2.1.1. <i>Ganoderma carnosum</i>	12
2.1.2. <i>Lentinus strigosus</i>	13
2.1.3. <i>Cerrena unicolor</i>	14
2.1.4. <i>Laetiporus sulphureus</i>	15
2.1.5. <i>Coprinus comatus</i>	16
2.1.6. <i>Lenzites betulina</i>	17
2.1.7. <i>Clavariadelphus truncatus</i>	18
2.1.8. <i>Polyporus arcularius</i>	19
2.2. Kullanılan Besiyeri ve Kimyasal Maddeler	20
2.2.1. Besiyerleri	20

İÇİNDEKİLER DİZİNİ (devam)

	<u>Sayfa No</u>
2.2.2. Kimyasal maddeler ve çözeltiler	21
2.3. Test Mikroorganizmaları	22
3. METOD	23
3.1. Makrofungus Fruktifikasyonlarının Antimikrobiyal Aktivitesinin Belirlenmesi	23
3.1.1. Makrofungusların ekstraksiyon için hazırlanması	23
3.1.2. Solvent ekstraksiyonu	23
3.1.3. Ekstre içeren disklerin hazırlanması	24
3.2. Batık kültürde Büyütülen Makrofungus Misellerinin Antimikrobiyal Aktivitesinin Belirlenmesi	24
3.2.1. Makrofunguslardan misel eldesi	24
3.2.2. Fermentasyon	25
3.2.3. Pellet formlarının kültür sıvısından ayrılması	25
3.2.4. Batık kültürde büyütülen makrofungus misellerinin ekstraksiyon için hazırlanması	26
3.2.5. Solvent ekstraksiyonu	26
3.2.6. Ekstre içeren disklerin hazırlanması	26
3.3. Makrofungus İzolatları Tarafından Üretilen Eksopolisakkaritlerin Antimikrobiyal Aktivitesinin Belirlenmesi	26
3.3.1. EPS' lerin üretimi ve ayrıştırılması	26
3.3.2. EPS' lerin hazırlanması	27
3.4. Antimikrobiyal Aktivite Testleri	27
3.4.1. Test mikroorganizmalarının aktifleştirilmesi	27
3.4.2. Makrofungus fruktifikasyonlarının antimikrobiyal aktivitesinin disk difüzyon yöntemi ile belirlenmesi	27
3.4.3. Batık kültürde büyütülen makrofungus misellerinin disk difüzyon yöntemi ile belirlenmesi	28
3.4.4. Agar kuyu yöntemi	28

İÇİNDEKİLER DİZİNİ (devam)

	<u>Sayfa No</u>
4.BULGULAR	30
4.1. Test Mikroorganizmalarına Karşı Fungal Fruktifikasyon Ekstraktlarının Antimikrobiyal Aktivitesi	30
4.2. Test Mikroorganizmalarına Karşı Batık Kültür Ortamında Büyütülmüş Misel Ekstraktlarının Antimikrobiyal Aktivitesi	32
4.3. Çeşitli Test Mikroorganizmalarına Karşı Fungal Eksopolisakkaritlerin Antimikrobiyal Aktivitesi	34
5.TARTIŞMA	36
5.1. Test Mikroorganizmalarına Karşı Fungal Fruktifikasyon Ekstraktlarının Antimikrobiyal Aktivitesi	36
5.2. Test Mikroorganizmalarına Karşı Batık Kültür Misel Ekstraktlarının Antimikrobiyal Aktivitesi	41
5.3. Test Mikroorganizmalarına Karşı Fungal Eksopolisakkaritlerin Antimikrobiyal Aktivitesi	47
6.KAYNAKLAR DİZİNİ	59

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekiller</u>	<u>Sayfa No</u>
2.1. <i>Ganoderma carnosum</i> mantarının morfolojik görüntüsü	12
2.2. <i>Lentinus strigosus</i> mantarının morfolojik görüntüsü	13
2.3. <i>Cerrena unicolor</i> mantarının morfolojik görüntüsü	14
2.4. <i>Laetiporus sulphureus</i> mantarının morfolojik görüntüsü	15
2.5. <i>Coprinus comatus</i> mantarının morfolojik görüntüsü	16
2.6. <i>Lenzites betulina</i> mantarının morfolojik görüntüsü	17
2.7. <i>Clavariadelphus truncatus</i> mantarının morfolojik görüntüsü	18
2.8. <i>Polyporus arcularius</i> mantarının morfolojik görüntüsü	19
3.1. Rotary Evaporator cihazı	23
3.2. Rotary Evaporator cihazı ve elde edilen ekstrakt	24
5.1-1. <i>Cerrena unicolor</i> 'un <i>S.aureus</i> ' a karşı antimikrobiyal aktivitesi	44
5.1-2. <i>Cerrena unicolor</i> 'un <i>M. luteus</i> ' a karşı antimikrobiyal aktivitesi	45
5.1-3. <i>Cerrena unicolor</i> 'un <i>E. coli</i> ' ye karşı antimikrobiyal aktivitesi	45

TABLÖLAR DİZİNİ

<u>TABLÖLAR</u>	<u>Sayfa No</u>
2.1. İzolasyon ve identifikasyonları sağlanmış izolatlar ve kodları	11
2.2. Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler ve çözeltiler	21
2.3. Çalışmada kullanılan test mikroorganizmaları	22
4.1. Çeşitli test mikroorganizmalarına karşı fungal fruktifikasyon ekstraktlarının inhibisyon zon çapı (mm.)	30
4.2. Çeşitli test mikroorganizmalarına karşı batık kültür ortamında büyütülmüş olan misel ekstraktlarının inhibisyon zon çapı (mm.)	32
4.3. Çeşitli test mikroorganizmalarına karşı fungal eksopolisakkaritlerin inhibisyon zon çapı (mm.)	34
5.1. <i>Ganoderma carnosum</i> ' un Fungal Eps, Misel ve Fruktifikasyonların Sonuçlarının karşılaştırılması	49
5.2. <i>Laetiporus sulphureus</i> ' un Fungal Eps, Misel ve Fruktifikasyonların Sonuçlarının karşılaştırılması	50
5.3. <i>Coprinus comatus</i> ' un Fungal Eps, Misel ve Fruktifikasyonların Sonuçlarının karşılaştırılması	51
5.4. <i>Lentinus strigosus</i> ' un Fungal Eps, Misel ve Fruktifikasyonların Sonuçlarının karşılaştırılması	52
5.5. <i>Cerrena unicolor</i> ' un Fungal Eps, Misel ve Fruktifikasyonların Sonuçlarının karşılaştırılması	53
5.6. <i>Lenzites betulina</i> ' nın Fungal Eps, Misel ve Fruktifikasyonların Sonuçlarının karşılaştırılması	54
5.7. <i>Clavariadelphus truncatus</i> ' un Fungal Eps, Misel ve Fruktifikasyonların Sonuçlarının karşılaştırılması	55
5.8. <i>Polyporus arcularius</i> ' un Fungal Eps, Misel ve Fruktifikasyonların Sonuçlarının karşılaştırılması	56
5.9. <i>Ganoderma carnosum</i> un Fungal Eps, Misel ve Fruktifikasyonların Sonuçlarının karşılaştırılması	57

**Çeşitli Makrofunguslara Ait Fruktifikasyon, Vejetatif Misel Ve
Eksopolisakkaritlerin Antimikrobiyal Aktiviteleri Üzerine Çalışmalar**

M. Said Demir

ÖZET

Bu çalışmada, makrofunguslarının fruktifikasyon yapılarının, batık kültürde üretilen misellerinin ve batık kültürde üretilen fungal eksopolisakkaritlerin çeşitli test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır. Çalışmada kullanılan *Ganoderma carnosum*, *Laetiporus sulphureus*, *Coprinus comatus*, *Lenzites betulina*, *Clavariadelphus truncatus*, *Polyporus arcularius*, *Lentinus strigosus*, *Cerrena unicolor* mantarları Eskişehir ili ve komşu illerden toplanmıştır. Çalışmada test mikroorganizması olarak Gr pozitif ve Gr negatif bakteriler ile mayalar kullanılmıştır.

Makrofungusların fruktifikasyon ekstraktları, misel ekstraktları ve fungal eksopolisakkaritlerin ekstraksiyonlarının test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktivitesi, pozitif kontroller olarak kullanılan Vankomisin ve Flukonazol antibiyotiklerinden alınan sonuçlar ile karşılaştırılmıştır. Yapılan deneyin sonuçlarına göre makrofungus ekstraksiyonlarının, misel ekstraksiyonlarının ve fungal eksopolisakkaritlerin antimikrobiyal aktivitesinin aynı çözücüde değişik sonuçlar göstermiştir. Sonuçların çözücü ve şuşa bağlı olarak değiştiği görülmüştür.

Anahtar kelimeler: Fungal fruktifikasyon, Batık kültür misel, Eksopolisakkarit, Antimikrobiyal Aktivite, Eskişehir, *Ganoderma carnosum*, *Laetiporus sulphureus*, *Coprinus comatus*, *Lenzites betulina*, *Clavariadelphus truncatus*, *Polyporus arcularius*, *Lentinus strigosus*, *Cerrena unicolor*

**Studies On Antimicrobial Activity Of Some Macrofungus
Fructifications, Vegetative Myceliums And Fungal Exopolysaccharides**

M. Said DEMİR

SUMMARY

In this study we investigate antimicrobial activity of mushroom fructifications, mycelial growth in submerged culture in liquid media and exopolysaccharides produced by submerged cultures in liquid media against the test microorganisms. The mushrooms *Ganoderma carnosum*, *Laetiporus sulphureus*, *Coprinus comatus*, *Lenzites betulina*, *Clavariadelphus truncatus*, *Polyporus arcularius*, *Lentinus strigosus*, *Cerrena unicolor* were collected in Eskişehir city and neighbour cities. In the study Gr pozitive and Gr negative bacteria and yeasts were used as test microorganisms.

Antimicrobial activity of macrofungus fructification extracts, mycelial growth extracts and fungal exopolysaccharides against test microorganisms has compared with the results of positive control antibiotics of Vancomycine and Fluconazole. The results of the experiment shows in the same species the antimicrobial activity of mushroom fructification extracts, mycelial extracts and mushroom exopolysaccharides has different results in same solvent. It has determined that antimicrobial activity of mushrooms changes depends on solvents and strains.

Key words: Mushroom extract, Submerged mycelial extract, Fungal Exopolysaccharides, Antimicrobial Activity, Eskişehir, *Ganoderma carnosum*, *Laetiporus sulphureus*, *Coprinus comatus*, *Lenzites betulina*, *Clavariadelphus truncatus*, *Polyporus arcularius*, *Lentinus strigosus*, *Cerrena unicolor*

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmalarım sırasında ders aşaması ve tez konusunun belirlenmesinde, çalışmalarımı değerli görüş ve bilgileri ile yönlendiren, desteğini esirgemeyen danışmanım ve sayın hocam Yrd. Doç. Dr. Mustafa Yamaç' a en derin teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarım ve tez çalışmam esnasında, her zaman yanımda olup bana sürekli yardım eden çok değerli arkadaşım Semra Yücel'e katkılarından dolayı çok teşekkür ederim.

Eğitim ve öğretim hayatım süresince maddi manevi yardımları hiçbir zaman eksilmeyen kardeşlerim Emre ve Enes Demir'e, desteklerini ve sevgilerini esirgemeyen Şerife ve Şükrü Demir'e çok teşekkür ediyorum.

Yüksek lisans ve tez yazım aşamasında bana destek olan arkadaşlarım Gökhan ve Erhan Benli'ye, Bülent Onutkan, Cenap Dizman ve Murat Akın'a ve ismini buraya yazamadığım tüm arkadaşlarıma çalışmalarında beni yalnız bırakmadıkları için teşekkür ederim.

1.GİRİŞ

1.1. Genel Bilgiler

Çok uzun zamandır insanlar için funguslar hem besin hem de tıbbi açıdan önemli olmuşlardır. Eski Roma döneminde mantarlara “Tanrının yiyecekleri” denirdi. Çünkü Mantarlar jupiterin yıldırımlarının dünyaya düştüğü yağmurlu günlerden sonra çıkıyordu. Mısırlılar ise “ Tanrı Osiris’ in hediyesi ”, Çinlilerde ise “Hayat iksiri” olarak bahsedilirdi (Conchran, 1978.). Asya uygarlıklarında çok eski zamanlarda bile tıbbi amaçlı kullanıldıkları bilinmektedir. Yine mantarların zehirli oldukları da bilinmekteydi. Bazı suikastlarda da kullanılmışlardı. *Amanita phalloides* Roma Kralı II Claudius ve Papa Clement II’ nin de öldürülmesinde kullanılmıştı. Mantarın tıbbi öneminden ilk olarak bahseden, M.Ö.400-470 yıllarında yaşamış olan Hipokrat’ tır. Birçok ülkede özellikle Çin ve Japonya gibi Uzak Asya ülkelerinde bazı makrofungusların çeşitli hastalıklara karşı halk ilacı olarak kullanıldığı bilinmektedir. Günümüzde ise funguslardan değişik ortamlarda elde edilen maddelerin saflaştırılması ile başlayan çalışmalar neticesinde fungusların bağışıklığı güçlendirici, hipoglisemik, hipolipidemik, karaciğeri koruyucu ve antimikrobiyal etki mekanizmalarının, immunostimulant ve benzer biyolojik ve farmakolojik özellikleri nedeni ile araştırılmaya başlanmış ayrıca kimya ve kozmetik endüstrisinde de boy göstermeye başlamıştır (Ying et al.,1987).

Mantarlar fotosentez yapamazlar, besinlerini başka canlıların ürettiklerinden dönüştürerek elde ederler. Heterotrofturlar. Besinlerin hücreye alınma yolu, absorpsiyon’ dur. Hiflerden oluşan ağsı bir yapıya sahiptirler. Hifler büyür ve dallanır, hiflerin kaynaşmasına ise anastomoz denir. Oluşan hif yığınları miselleri oluşturur. Ortam şartları uygunsa miseller büyüyerek toprak üstü yapı olan karpofor adını verdiğimiz şapkayı oluştururlar. Ökaryotik hücre yapısına sahip olan makrofunguslar, eşeyli ve eşeysiz üreyebilir. Yayılmak için spor adı verilen yapıları kullanırlar. Makrofungusların intrasellular ve ekstrasellular olmak üzere farklı tipteki ürünlerinin, çeşitli mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyal etkilerinin olduğu yapılan çalışmalarla belirlenmiştir. Bugün bilinen şapkalı mantar türü sayısı 12.000’ e yakındır. Çok değişken şekil ve büyüklüklerde olabilirler.

Ülkemizde makrofungus biyota yönelik çalışmaların son zamanlarda artmasına karşın makrofungusların medikal etkileri üzerine çok az çalışma bulunmaktadır. Bu konuya bilimsel anlamda ilgilenilmesine gerek vardır. Bu çalışma halkımız tarafından tanınıp, bilinen makrofungusların bakteri ve mayalara karşı antimikrobiyal aktivitesini belirlemek amacı ile yapılmıştır

Makrofungusların antimikrobiyal etkilerine, fungal yapıda sentezlenen ve ekseriyetle organizmaya has bazı fenolik bileşikler, purinler ve pirimidinler, kuinonlar, terpenoidler ve fenil propanoid türevi antagonistik maddeler neden olmaktadır. Antitümoral etki gösteren en önemli maddeler ise kalvasin, volvotoksin, flamutoksin, lentinan ve porisin gibi yalnızca makrofunguslardan izole edilmiş maddeler olup aynı zamanda antiviral bileşiklerdir (Conchran, 1978).

Klinik olarak önemli olan aspirin, digitoksin, progesteron, kortizon ve morfin, kinin gibi birçok ilaç bitkilerden ya da bitkilerin sayesinde elde edilen maddelerden üretilir. Bugün yeterince önem gösterilmese de funguslardan da birçok ilaç ve penisilin, griseofulvin gibi antibiyotikler, ergot alkaloidi ve cyclosporin elde edilmektedir. Son yıllarda yapılan araştırmalarda ise fungusların ve onlardan elde edilen metabolitlerin insan bağışıklık sistemi ile ilgili hastalıklarda pozitif sonuçlar verdikleri görülmüştür. Bugünlerde yapılan çalışmalarda ise fungusların kanser, AIDS/HIV, Hepatit ve bağışıklık sistemi hastalıklarına karşı etkileri araştırılmaktadır. Tarihsel olarak büyük mantarlar eski Çin’ de klinik ilaç olarak kullanılmaktaydı ve 100’ den fazla türün özellikle bağışıklık sistemi kaynaklı hastalıklarda nasıl kullanılacağı bilinmekteydi. Bugün bu mantarların çoğu Japon, Çin ve Kore kaynaklı ilaç firmaları tarafından piyasaya sunulmaktadır. Bazıları yenebilen mantarlar olsa da birçok yenmeyen mantardan elde edilen maddeler tıbbi araştırmalarda kullanılmaktadır. Tıbbi amaçla kullanılan birçok mantardan elde edilen ürünlerin antitümör, kardiyovasküler, antiviral, antibakteriyel, antiparazitik, hepatoprotektif ve antidiabetik aktivitesinin olduğu bulunmuştur.

Bugün Amerika, Çin ve Kore gibi ülkelerde bu etkilerin hayvan ve insanların sistemlerinde nasıl bir mekanizmayla olduğunu çözmek üzere birçok araştırma ve deneyler yapılmaktadır. Funguslardan elde edilen eksopolisakkaritlerin antitümör

aktivitesine sahip oldukları bilinmektedir. Fungal glukanlar en bilinenlerdir. Non-sitotoksik glukan protein kompleksleridir. Verildikleri konakçı da spesifik tepkimelere yol açarlar. Makrofajları, Nötrofilleri, Monositleri ve Dentritik hücreleri uyarak bağışıklık sistemini aktive ederler ve Sitokinler, İnterlökin, İnterferonlar, koloni uyarıcı faktörler gibi, kimyasal habercilerin salgılanmasını sağlayarak akut faz tepkimeleri verilmesini sağlarlar (Smith et al., 2002).

Sınırlı sayıda da olsa bazı polisakkaritlerin antitümör aktivitesi gösterdiği klinik araştırmalarla kanıtlanmıştır. Yapılan çalışmalarda *Lentinus edodes*'in fruktifikasyonundan elde edilen lentinan, *Schizophyllum commune*'den sıvı kültürde elde edilen schizophyllan ve *Trametes versicolor*'dan misel kültürden elde edilen PSP ve PSK, *Grifola frondosa*'dan elde edilen Grifon-D adlı eksopolisakkaritler kullanılmıştır. Günümüzde Kore ve Çin' de kemoterapi ve Radyoterapiye ek olarak kullanılmaktadırlar. Japonya' da yapılan araştırmalarda ise tıbbi mantarların karışımlarından meydana gelen ekstraktlarla kanser hastalarında iyileşmeler gözlenmiştir. Bunların polisakkaritlerin kemoterapi esnasında destekleyici etkileri sayesinde oldukları sanılmaktadır. Fungal eksopolisakkaritlerin tıbbi olarak kullanılabilmesinde önemli faktör toksisiteLERİDİR. Kore ve Japonya' da klinik deneylerle toksisite testleri yapılmaktadır (Smith et al., 2002).

Ikekawa ve arkadaşları (1969), Polyporacea familyasından mantarlara ait fruktifikasyonlarından elde ettiği esansiyel maddelerin antitümöral aktiviteye sahip olduklarını belirten bir makaleyi ilk kez yayınlamıştır. Daha sonraki çalışmalarında ise bu maddelerin hayvanlar üzerinde bazı kanser türlerinde aktivite gösterdiklerini açıklamıştır (Ikekawa et al. 1982, 1992, 2001). Bunun sonrasında ise bu mantarlardan β -glukan polisakkaritlerden oluşan üç ilaç geliştirilmiştir. *Trametes versicolor*'un kültüre edilmiş biyomasından elde edilen krestin, *Lentinus edodes*' in fruktifikasyon organlarından elde edilen lentinan, *Schizophyllum commune*'den sıvı kültürde elde edilen schizophyllan' dır.

Auricularia polytricha ile batık kültürde üretilen eksopolisakkarit (EPS) ile yapılan denemelerde diabetik ratlara verilen EPS ile plazma trigliserolde, kolesterolde, düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) miktarlarında % 70' lere varan bir düşüş kaydedilmiştir (Yang et al., 2002).

Hipoglisemik aktiviteleri Johnson ve arkadaşlarının fareler üzerinde yaptıkları deneylerde diabetik hayvanlarda verilen eksopolisakkaritlerin antidiabetik aktivite gösterdikleri belirlenmiştir (Johnson et al., 1991).

Yine yapılan araştırmalarda *Lentinus edodes*' in ürettiği eksopolisakkaritler kuru mantar toz haline getirilerek diabetik ratlara verilerek kan glikoz seviyelerinde düşüş gözlemiştir (Fukushima et al., 2001).

Phellinus linteus otantik doğu ilaçlarından biri olarak mide ağrısı tedavisinde ve dizde artrit tedavisinde uzun yıllardır kullanılmaktadır (Ikekawa et al., 1968). Bu gibi kullanım alanlarından dolayı *P. linteus* biyoaktif bileşenleri ile ilgili araştırmalar antitümör aktivitesi ile de ses getirmiştir (Chung et al., 1993). Son yapılan çalışmalarda birçok mantar türünün basidiyokarpları kullanılarak oldukça iyi hipoglisemik aktivite görülmüştür. Yine yapılan çalışmalarda kültür ortamında üretilen misellerin ve kültür ortamlarından elde edilen ürünlerin de hipoglisemik aktivite gösterdikleri belirlenmiştir (Song et al., 1998). Bilinen eksopolisakkaritleri kaynaklarına göre sıralarsak 3 kategoride inceleyebiliriz.

1. Mikrobiyal Eksopolisakkaritler
2. Bakteriyel Eksopolisakkaritler
3. Fungal Eksopolisakkaritler

1.1.1. Mikrobiyal Eksopolisakkaritler ve Genel Özellikleri

Polisakkaritlerde bulunan bir şeker ünitesi daha çok iki farklı şeker ile bağlanmaktadır. Bu şeker ünitesi dallara ayrılarak çok büyük makromoleküllü şekillere sahip yapılar meydana getirebilmektedir. Bu polisakkaritler farklı türdeki yüksek değişkenlik özelliği taşıyan bilgilere sahip makromoleküllerden oluşmaktadır. Nükleik asit ve proteinin içindeki, nükleotid ve aminoasit tek bir yolla birbirine bağlanırken, polisakkaritlerin içerisindeki monosakkarit üniteleri birkaç çeşidi farklı şekilde bağlanabilirler. Bazıları dallar oluştururken, bazıları düz yapılardan oluşmaktadır.

Polisakkaritlerin yüksek değişkenlik özellikleri, hücre-hücre ilişkisine gerekli esnekliği kazandırmaktadır. Mikrobiyal polisakkaritlerler, akışkan özelliğe sahiptirler.

Mikrobiyal polisakkaritler genel olarak çoğunlukla monosakkaritlerden; D-glikoz, D-galaktoz, D-mannoz, L-fruktoz ve L-ramnoz ve genellikle, N-asetilhekzozamin, N-asetil-D-glikozamin ve N-asetil-D-galaktoz içerir. Mikrobiyal polisakkaritlerde bunların dışında birçok şeker bulunduğu yapılan yeni çalışmalarla belirlenmektedir (Sutherland, 1994).

Mikrobiyal polisakkaritlerin çoğu, bileşimlerinde organik yapılar taşır. Asetil grupları sitokiyometrik miktarlarda tek bir şekere bağlı olarak bulunur. Fakat bakteriyel alginatlar ve bazı ksantan preperasyonları gibi ürünlerde monosakkarit kalıntıları çoklu asetlenmiş ve toplam ester içeriği oldukça yüksektir. Bazı eksopolisakkaritlerde belirli monosakkarit kalıntıları asitlenmelerle tekrarlı bir yapı göstermektedir. Ayrıca bakteriyel polisakkaritlerde ketal bağlı piruvat grupları da oldukça yaygındır. Ksantanın ticari preperasyonlarında pirüvat sitokiyometrik olarak ölçülebilir miktarda bulunmaktadır. Birden fazla şeker içeren polisakkaritlere örnek olarak *Rhizobium* türlerinden elde edilen bazı örnekler verilebilir (Sutherland, 1994).

Sülfatın ökaryotik polisakkaritler ve proteoglikanlarla sınırlı olduğunun düşünülmesine rağmen, sülfat az miktarda prokaryotik polimerlerde de bulunmaktadır. Bu polimerler Cyanobacteria ve Archae grubunda bulunmaktadır. Diğer bir örnek ise, *Haloferax mediterranea*’ dan elde edilen vizkoz, yüksek moleküler ağırlıklı ve % 6 sülfat içeren bir polisakkarittir. Çok sayıda fosforlanmış eksopolisakkaritler gram pozitif bakterilerin hücre duvarlarında bulunan asitlere benzemektedir. Bazı gram pozitif bakteriler ise, hem fosfat içeren çeper polimerlerini hem de ekstrasellüler polisakkaritleri üretebilmektedirler. Günümüze kadar yapılan çalışmalarda Gram negatif bakterilerin polisakkaritlerinde fosfat bulunamamasına rağmen, *Klebsiella*, *Rhizobium*, *Xanthomonas* ve *Pseudomonas* gibi bakterilerdeki polisakkaritlerde fosfat bulunmuştur (Sutherland, 1994).

1.1.2. Bakteriyel Eksopolisakkaritler

Laktik asit bakterileri yiyecek endüstrisinde besinleri zenginleştirmek, aroma katmak gibi amaçlarla kullanılmaktadır. Metabolizmalarının sonucu olarak da ortama küçük bir miktarda eksopolisakkarit üreterek bıraktıkları bulunmuştur (100–200 mg/ml) (Cerning 1995). Fakat modifiye ortam şartları ve *Lactobacillus sakei* O-1 gibi özel türler sayesinde bu miktar çok daha yüksek değerlere çıkabilmektedir.(4 g/ml) (Van den Berg et al. 1995). Fermente süt ürünlerinde peynir üretimi esnasında düşük miktarda EPS üretildiği bulunmuştur (Rawson ve Marshall 1997). Mesofilik ve termofilik bakteriler tarafından EPS üretimi ile ilgili yapılan çalışmalarda *Streptococcus thermophilus* kullanılarak süt ve buğday bazlı ortamlarda üretilmiştir (Cerning et al., 1988; Doco et al., 1990; Ariga et al., 1992; Mozzi et al., 1995; Bubb et al., 1997; Lemoine et al., 1997; Ricciardi et al., 1997)

Kompleks laboratuvar besiyerlerinde üretim denenmiş ve normalde 400 mg/ml olan EPS üretimi 1100-3000 mg/ml değerlerine ulaşılmıştır (Petit et al. 1991; De Vuyst et al., 1998).

Yüksek oranda ekstraselüler madde üretimi *Myxobacteria*' larda görülmektedir. *Myxobacteria*' nın ürettikleri ekstraselüler maddeler arasında polisakkarit ve protein bulunmaktadır (Ding et al., 2004).

Bakteriyel polisakkaritlerin, sıklıkla D-glukuronik asit' e sahip olduğu görülürken, bazılarında D-galakturonik asit' e sahip olduğu görülmektedir. Bakteriyel aljinatlar D-mannuronik asit ve L-gluronik asit içerir. Az sayıda ki diğer bakteriyel polisakkaritler, üronik asit içerirler. Prokaryotik kaynaklı polimerlerin çoğunda pentozlar bulunmaz. Kurdlan, Ksantan, Jellan, Alginat bilinen bakteriyel eksopolisakkaritlerdir (Sutherland, 1994).

1.1.3. Fungal Eksopolisakkaritler

Geçtiğimiz on sene müddetince mikroorganizmaların özellikle de mantarların ürettiği polisakkaritler çok dikkati çekmiştir. Bunun başlıca sebebi de, bağışıklığı güçlendirici, antitümör ve hipolipidemik aktivite gösteren değişik biyolojik ve farmakolojik aktiviteye sahip olmalarıdır. *Lentinus edodes* tarafından Lentinan, *Schizophyllum commune* tarafından Schizophyllan ve *Coriolus versicolor* tarafından üretilen Krestin ticari değere sahiptir (Hwang et al., 2003).

1.1.3.1.Schizophyllan ve Scleroglukan

Skleroglukan, fungal bir eksopolisakkarittir. Kurdiana benzer ve tahminen her ana zincirin üçüncü glikozuna (1,3)- β bağlı D-glikoz artıklarının bağlanmasından oluşmaktadır. Moleküler ağırlığı yaklaşık olarak $5-6 \times 10^6$ daltondur (Sutherland, 1994).

Bir Basidiomycetes türü olan *Schizophyllum commune* Schizophyllan, *Sclerotium rolfii* ise Scleroglukan üretmektedir (Rau, 2004). Laboratuvar ortamında besiyerlerine inokule edilen *Schizophyllum commune* ve *Sclerotium rolfii*’ den Schizophyllan ile Scleroglukan üretirken besiyerindeki değişimler gözlemlenmiştir. Besiyerlerindeki misel pelletleri kuvvetli şekilde çalkalanarak geliştirilmiş olan Schizophyllan ve Scleroglukan üretilirken besiyerindeki azot azalarak sıfır değerine yaklaştığında bu metabolitlerin üretimi de azalmakta hatta sabit faza geçmektedir. Her iki mantarda farklı miktarda kompleks azot kaynağı içeren yeast ekstrakt besiyerine ihtiyaç duymaktadır. *Sclerotium rolfii* yeast ekstrakttaki az konsantrasyondaki azotu kullandığında da scleroglukan üretebilmektedir. Çalkalamalı biyoreaktör kullanılarak geliştirilen misel pelletlerindeki gelişim azalırken, hücre duvarından elde edilen serbest β -glukan miktarı artmaktadır. Fakat çok hızlı çalkalama önemli bir şekilde hiflere ve β -glukan’ a zarar vermektedir. Mantarlar üzerinde hız ve sallama denenmiş, bu baskının oluşan yapışkan Schizophyllan üretimini etkilediği gözlemlenmiştir. Her iki mantar için de besiyerinde bulunan glikoz önemlidir. Çünkü besiyerindeki glikoz tükendiğinde β -glukan oluşumu baskılanarak azalmaktadır. İnkübasyon esnasında önemsiz derecedeki

glukoz azalması spesifik yapışkan serbest β -glukan salınımının azalmasına sebep olmaktadır (Kızılcıklı, 2004).

Zamk gibi yapışkan ve lastiğimsi Schizophyllan ve Scleroglukan hücre dış duvarına gevşek bir şekilde birleşik ya da besiyerinde serbest olarak bulunmaktadırlar. Sıvı solüsyon içerisindeki Schizophyllan ve Scleroglukan, tripleks bir yapı oluşturur. Bu yapının dışına asılı olarak β -(1,6)-zinciri D-glukoz yapısı ile üçlü heliks oluşturur. Dimetilsülfoksit' te 135 °C' nin üstünde ve pH 12 ve üstü değerinde üçlü heliks erir, tek parça haline gelir ve rasgele sarılarak ortalama moleküler ağırlığı üçte birine iner. Doğal süspansiyona ek olarak ilave edilen içerik mantar hiflerinin artmasına ve internal zikzaklar yaparak filemöntöz ağ oluşturmaya sebep olur (Kızılcıklı, 2004).

Schizophyllan Japonya' da 1986 yılından beri kanser hastalığına karşı bağışıklık sistemini destekleyici ajan olarak kullanılmaktadır. Klinik araştırmalar, glukanların makrofaj aktivitesini, daha sonrada T-hücrelerin çok hızlı bir şekilde çoğalmalarına dayanarak glukanın insanın bağışıklık ve savunma sistemini güçlendirdiği vurgulamaktadır (Kızılcıklı, 2004).

Schizophyllanın geleneksel kemoterapide kullanılmasına ilişkin daha önceden 367 hasta üzerinde yürütülen çalışmada, tedavisi mümkün olmayan mide kanseri vakalarında ortalama yaşam süresinde önemli artışlar sağlanmıştır. Schizophyllan yakın zamanda yapılan birçok çalışma dağırtlak kanseri hastalarında da önemli iyileşmeler göstermiştir. Düzenli yapılan çalışmalarda Schizophyllan' ın radyoterapiyle birlikte kullanımlarında, ikinci seviye kanser vakalarında önemli iyileşmeler sağladığı fakat üçüncü seviye vakalarda etkisinin olmadığı görülmüştür (Kızılcıklı, 2004).

1.1.3.2. Lentinan

Lentinan, *Lentinus edodes* tarafından üretilir. Bu mantar türü dünyada bolca tüketilmektedir. Haşlanarak yada kızartılarak tüketilen *Lentinula edodes* mantarının bazı kişilerin derilerinde alerjik reaksiyonlara ve kollar bacaklarda çizgi şeklinde kırmızılıklar oluşmasına sebep olabilmektedir. Tüketilen miktarın ve pişirme şeklinin

ilgisi olmadığının, bu reaksiyona bilinmeyen bir kofaktörün sebep olduğu düşünülmektedir (Kızılcıklı, 2004).

Japonya ve Çin’ de mantarlar yüzyıllardır yemeklere tat vermesi için baharat olarak, daha uzun ve sağlıklı yaşamak için bolca tüketilmektedir. *Lentinula edodes* Avrupa’ da kültürde geliştirilerek, taze yada kurutulmuş olarak tüketilmektedir. Dünyada ki toplam tüketiminin 10000 ton civarında olmasından dolayı en çok tüketilen ikinci mantar türüdür. Gıda olarak kullanılmasının yanında ilaç olarak da; güneş yanıklarına, kanser ve AİDS’ e kadar pek çok farklı hastalıkta kullanım alanı bulmaktadır (Kızılcıklı, 2004).

Günümüzde hazır yiyecek maddesi olarak ta karşımıza (Örneğin; Shiitake-çikolata) çıkmaktadır. Bu mantarın ayrıca protein, kalsiyum ve çinko, vitaminlerden B1, B2 ve D içermesinin yanında kolesterol düşürücü, bağışıklık sistemini destekleyici olduğu bildirilmektedir. Grip aşısı yerine *Lentinula edodes*’ ten yapılan tabletler önerilmektedir. Lentinan ısıya oldukça dayanıklıdır (Kızılcıklı, 2004).

Kurutulan *Lentinus edodes* pişirildiğinde, gama-glutmytransferi aktive olarak Lentinan korunur. Pişirilmeye başladıktan 40 dk sonra Lentinan’ nın yapısı bozulmaktadır. Buzlukta dondurulan *Lentinus edodes*’ ten ve misellinden elde edilen polisakkaritin ana yapısı β -(1-3)-Glukan ve β -(1-4), β -(1-6)-glukan yan zincirlerinden oluşmaktadır. Solunum sorunu olan hastalara Lentinan verilmiş, hastalarda İmmunoglobulin G (IgG) hücrelerinin *Lentinus edodes*’ in sporlarına karşı sayılarının arttığı gözlenerek alerjik reaksiyona sebep olmuştur. *Lentinus edodes* mantarı tüketildikten sonra derinin UV ışık ile temasa geçtiğinde alerjik reaksiyona sebep olduğu bulunmuştur (Kızılcıklı, 2004).

1.1.3.3. Grifon-D (GD)

Grifola frondosa A.B.D.’ nin batısında, Avrupa ve Asya’ da doğada yetişmektedir. Yapılan birçok çalışmada *Grifola frondosa*’ dan elde edilen β -D-glukan’ nın güçlü antitümör etkiye sahip olduğu görülmüştür. Bu β -D-glukan’ nın β -(1-6)-glukan zincirine β -(1-3) ile bağlanmıştır. (Grifon-D, GD) (Daba and Ezereonye, 2003).

Ayrıca kan basıncını ve kan plazmasındaki yüksek lipoprotein oranını (High Density Lipid) değıştirmeden düşürmektedir. Buna karşın *Lentinus edodes* ise HDL oranını da düşürerek kan basıncını düşürebilmektedir. *Grifola frondosa* farelerde yapılan çalışmalarda kandaki glikoz metabolizmasını yavaşlattığı görülmüştür. Amerika’ da insanlar üzerinde yapılan klinik denemelerde göğüs kanserinde, AIDS tedavisinde, Çin’ de ise akciğer, mide hepatoselüler ve lösemi hastalıklarında öncü umut verici çalışmalar yapılmıştır (Kızılcıklı, 2004).

1.1.3.4. Krestin (PSK), Polisakkaropeptid (PSP) ve Coriolan

Ticari alanda en kullanışlı olan polisakkaropeptid Krestin ve polisakkaropeptid (PSP)’ dir. Krestin ve polisakkaropeptid (PSP), *Corioulus versicolor*’ un misellerinin ekstraksiyonundan elde edilirken, Coriolan ise *C. versicolor*’ un hücre dışına salgıladığı bir polisakkarittir. PSK, PSP ve Coriolan protein zincirine sahip olduğu ve antitümör etkisine sahip olduğu belirtilmektedir . PSK ve PSP yapısal yönden farklı olsalar da aktiviteleri benzer özellikler göstermektedir (Kızılcıklı, 2004).

2. MATERİYAL

2.1. Çalışmada Kullanılan Makrofungus Türleri ve Tanımları

Çalışmada kullanılan makrofunguslar Eskişehir yöresi il sınırları içinden komşu illerden bölgelerden toplanmış ve laboratuvarında uygun koşullar altında kurutularak ve kültür ortamlarında depolanmıştır.

Tablo 2.1. İzolasyon ve identifikasyonları sağlanmış izolatlar ve kodları

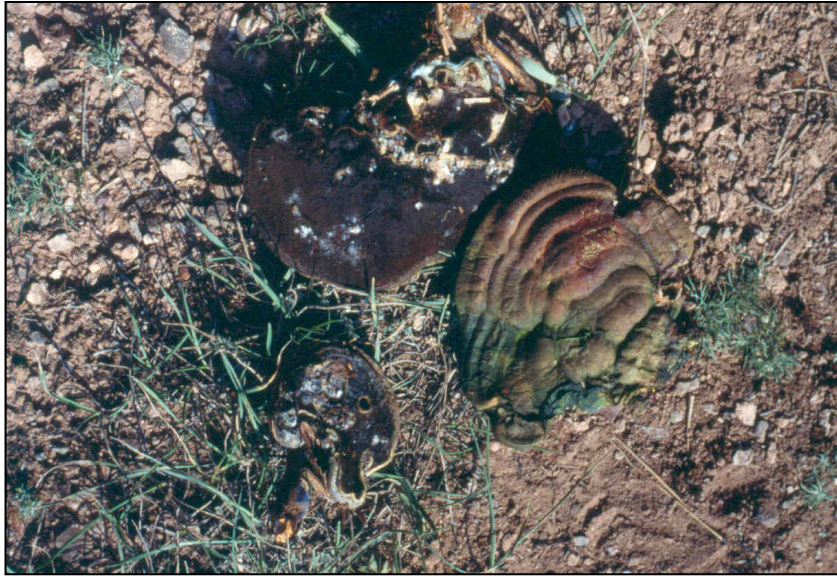
Mantar Türleri	Kodu	Lokalite - Kaynak	İl
<i>Ganoderma carnosum</i>	M-88	Merkez	Eskişehir
<i>Laetiporus sulphureus</i>	M-107		
<i>Coprinus comatus</i>	M-118		
<i>Lenzites betulina</i>	S-2	Sarıcakaya	
<i>Clavariadelphus truncatus</i>	T-192	Türkmenbaba Dağı	
<i>Polyporus arcularius</i>	T-438		
<i>Ganoderma carnosum</i>	D-21	Kuşkayası Yol Anıtı	Bartın
<i>Lentinus strigosus</i>	D-26	Geyve	Sakarya
<i>Cerrena unicolor</i>	D-30		

2.1.1. *Ganoderma carnosum* Pat.

Syn: *Ganoderma atkinsonii* (Jahn, Kotlaba & Pouzar)

Makroskobik ve Mikroskobik Özellikleri

Şapka boyutu 4-20 cm., yuvarlak, oval, böbrek veya yelpaze şeklinde, yüzey çeşitli renklerde. Gençken sarımsı-kahverengi, kırmızı, daha sonra kestane kırmızısından koyu kırmızıya kadar değişen tonlarda olabilir. Üst yüzey katmanlı ve parlak görünümündedir (Şekil 2.1). Himenyum gri-beyazdan krem renge kadar değişen renklerde. Zedelendiği zaman kahverengileşir. Her milimetrede 3-4 por bulunur. Tüpler 0.5-2 cm. uzunluğunda, açık kahverengiden gri-kahverengiye değişen renklerde. Sap 5-25 X 1-4 cm., bir tarafından sıkıştırılmış silindir şeklindedir. Tabana doğru incilir ve sapa lateral bağlanır. Yüzeyi düz ve parlaktır. Sporlar 11-13 X 7.5-8.5 µm, eliptik, siğilli, açık kahverengi renkte ve germinasyon poru hyalindir. *Abies* ve diğer konifer türlerinin çürümekte olan kütükleri üzerinde tüm yıl boyunca gözlenebilir. Alındığı lokasyon; Kirazlı yolu, 1130 m., 22.04.2002, Köstekci.



Şekil 2.1. *Ganoderma carnosum* mantarının morfolojik görüntüsü

2.1.2. *Lentinus strigosus*

Makroskobik ve Mikroskobik Özellikleri

Bazidyokarpın dış yüzey beyazımsı beyazdan krem renge kadar değişiklik gösterir, üstü ters açılmış şemsiye benzeri dış bükey uzun bir şapkası vardır (Şekil 2.2) Himenyum lameller uzun ve düzgün şekillidir. Alt yüzeyleri açık kahverengi, sporlar 5-10x10 µm, kübik düz yüzeylidir. Canlı ve ölmüş ağaç gövdelerinde kümeler halinde bulunurlar. Yenebilir bir mantar türüdür. Toplandığı lokasyon : D 26, *Lentinus strigosus*, 14.05.2005, Yeşilvadi Dinlenme Tesis Üstü – Geyve



Şekil 2.2. *Lentinus strigosus* mantarının morfolojik görüntüsü

2.1.3. *Cerrena unicolor* (Bull.:Fr.) Murr.

Daedalea unicolor Bull.:Fr.

Ağaç zemin üzerinde 0,5-10 cm' e kadar büyüyebilirler. Kümeler halinde büyüyen raf mantarlarıdır (Şekil 2.3).Basidiyokarpın Üst yüzeyleri beyazdan griye, griden kahverengiye kadar değişiklik gösterir. Genellikle saça benzer uzantılar oluşturun alglerle kaplıdırlar. Üzerlerinde belirgin büyüme zonları vardır. Himenyum beyazdan duman rengine kadar renklenme gösterir. Tipik olarak dişe benzer şekilde lamelleri vardır. Tüpler 0,4-4 mm derinliktedir. Topuza benzer. Porlar diş gibi tırtıklıdır. Por çapları 2-3 mm ,beyazdan griye değişik renklerde. Sporları Elipsoid, düzgün, 4.5-5.5 x 2.5-3.5µm. Parazitik yada saprotofik, genellikle ölmüş ağaç gövdelerinde büyüyen tek yıllık bir mantardır. Toplandığı lokasyon D-30, *Cerrena unicolor*, 15.10.2005, Sakarya/Geyve Kamışlı Köyü-Akyazı yol ayrımı (817 m), N 40 32 731-E 30 21 781



Şekil 2.3. *Cerrena unicolor* mantarının morfolojik görüntüsü

2.1.4. *Laetiporus sulphureus*

Polyporaceae familyasından bir mantar türüdür. Kükürt mantarı olarak ta bilinen bu türün şapkası 10-40 cm genişliğinde, birbiri üzerine raf biçimi binmiş, çok sayıda konsol şeklindedir. Çoğunlukla 20-40 kadarı bir arada salkım gibi bulunur. Genç halde iken, etli, yumuşak ve nemli, üstte açık portakal kırmızısı renginde, kenarları daha açık renktedir. Alt yüzü parlak sülfür sarısı, kükürt sarısı rengindedir. Olgunlaşınca sert, gevrek bir yapıda, kirli beyaz ya da tebeşir rengine dönmektedir (Şekil 2.4). Bazidyokarpda tüpler 1,5-3 mm ve kükürt renginde, porlar mm de 1-3 tane, dairemsi veya yuvarlağımsı ve kükürt rengindedir. Sporların izi beyaz, sporlar eliptik, 5-7x3,5-4,5 μm . Yapraklı ve iğne yapraklı ağaçlarda; meşe, kiraz, kestane, söğüt, porsuk, ladin ve köknar ağaçlarında, geç ilkbahardan sonbahara değin görülür, yaygındır, tek yıllıktır.



Şekil 2.4. *Laetiporus sulphureus* mantarının morfolojik görüntüsü

2.1.5. *Coprinus comatus*

Şapka boyu 5-15 cm. arasında değişen üst yüzeyi pullu beyaz renkli ya da kül renginde olabilen, şapkası çan şeklinde konik bir biçimdedir. Yaşlandıkça eriyen şapka sonunda sporlarla birlikte dağılır. Himenyum birkaç günde erir. Akıcı bir şapka yapısı vardır. Lamelli ve Siyah renktedir. Sporları düzgün elipsoid şekilde, pembemsi siyah, mm.de 13-17adet ve 7-9 µm. boyutlardadır. Toprak üzerinde çayırlar otlak alanlar gibi düzlüklerde daha çok bulunur (Şekil 2.5) Toplandığı lokasyon, Eskişehir, meşelik yerleşkesi, M. Yamaç, M-118.



Şekil 2.5. *Coprinus comatus* mantarının morfolojik görüntüsü

2.1.6. *Lenzites betulina* (L.: Fr.) Fr.

Syn: *Trametes betulina*

Bazidyokarp yarı yuvarlak şekilli, yelpaze veya rozet şeklindedir. Substratına lateral bir şekilde bağlantı yapar. 2-9 X 1-5 cm. ve 1-2 cm. kalınlığındadır. Üst yüzey radial dalgalı ve oyuklu, aynı noktadan başlayan dar zonlar vardır. Kadifemsidir. Gri-toprak kırmızısı, açık kahverengi, genellikle yeşil renklenmeler mevcuttur (Şekil 2.6). Kenarları keskindir. Lamellerin kenarları hafifçe tırtıklıdır ve santimetrede 12-15 adet lamel bulunur. Lamellerin kalınlığı yaklaşık 1 cm.' dir. Krem renginden toprak kırmızısına griden kahverengi renklerine kadar renklilik gösterebilir. Sporları 4.5-6.5 X 2-3 µm boyutund, eliptik şekilli, hyalin ve düzdür. *Quercus*, *Betula* ve *Fagus* gibi yaprak döken ağaçların ölü dal parçaları üzerinde tüm yıl boyunca görülebilir. Toplandığı lokasyon; Sarıcakaya, 950 m, 16.03.2003 Köstekci S2



Şekil 2.6. *Lenzites betulina* mantarının morfolojik görüntüsü

2.1.7. *Clavariadelphus truncatus* (Quell.) Donk.

Basidyokarp büyüklüğü 5-10 boyunda 2-5 cm. çapında olabilir, silindirik, uç kısmı kalın, aşağıya doğru incelen özellikte, baş kısmı kesilmiş gibi bir görünümündedir. Sarı, turuncu-sarı renktedir. Tabana doğru incelen bir sap vardır, mat ve kahverengi-sarı renklidir. Sağlam bir dokuya sahiptir. Süngerimsi, yumuşak, kesildiği zaman leylak-kahverengimsi bir renk alır. Koku zayıf, tadı hafiftir. KOH ile himeniyum kırmızı renk alır. Sporlar 10-13 X 6-7.5 µm boyutlarında, eliptik, hyalin, düzdür. İçerisinde küçük granüller vardır. Yaprak döken ağaçlar ve koniferlerin oluşturduğu ormanlık alanlar. Kirazlı yolu, 1102m., 13.10.2002, Köstekci 192.(Şekil 2.7)



Şekil 2.7. *Clavariadelphus truncatus* mantarının morfolojik görüntüsü

2.1.8. *Polyporus arcularius* Batsch: Fr.

Syn: *Polyporus anisoporus* Del. & Mont. in Mont.

Şapkası 2-6 cm., yuvarlak, merkezi içeriye doğru hafifçe basık, üst yüzeyi pul puldur. Olgunlaşınca bu pullar dökülür. Sarı-kahverengi, toprak kırmızısı-kahverengi, açık kahverengi tonlarda olabilir. Merkezi daha koyudur. Himenyum bal peteği şeklinde, beyaz-krem rengindedir. Porlar çok açılı ve uzamış şekildedir. 0.1-0.2 cm. uzunluğunda ve 0.1 cm. genişliğindedir. Porlar merkezde daha küçüktür. Sap 1.5-4 X 0.5-1 cm. büyüklüğünde, şapkaya merkezden bazen de eksantrik olarak bağlanabilir. Silindirik, esnek-sert arası bir yapıdadır. Kök çürüklüğüne neden olur. Sporları 5.5-8 X 2-3 µm boyutlarında, silindirik-eliptik şekilli, düz ve hyalindir. Yaprak döken ağaçların kopmuş dal parçaları üzerinde tespit edilmiştir. Efsunbaba mevkii, 1230m., 23.11.2002, Köstekci 438 (Şekil 2.8).



Şekil 2.8. *Polyporus arcularius* mantarının morfolojik görüntüsü

2.2. Kullanılan Besiyeri ve Kimyasal Maddeler

2.2.1. Besiyerleri

Çalışmada kullanılan tüm besiyerleri hazır olarak temin edilmiş saf suyla çözülüp otoklavda 121 °C sıcaklıkta, 15 dakika tutularak steril edilmiştir.

Sabouraud Dextrose Agar (Difco): Ticari besiyerinden 65 g/l oranında tartılarak saf suda çözülmüştür. Maya kültürlerinin stok kültürlerinin korunmasında ve maya kültürlerinin antimikrobiyal aktivite testlerinde kullanılmıştır.

Patato Dektroz Agar (Acumedia): Ticari preparat olarak elde edilen hazır besi yerinden 39 g/l oranında tartılarak hazırlanır. Makrofungusların misel kültürlerini geliştirmek için kullanılmıştır.

Mueller Hinton Broth (Merck): Ticari besiyerinden 21g/l oranında tartılarak saf suda çözülmüştür. Bakteri ve maya kültürlerinin aktifleştirilmesinde kullanılmıştır.

Mueller Hinton Agar (Fluka): Ticari besiyerinden 38 g/lt oranında tartılarak distile suda çözülmüştür. Bakteri kültürlerinin stoklanmasında ve bakteri kültürlerinin antimikrobiyal aktivite testlerinde kullanılmıştır.

PMP Besiyeri (Potato Malt Peptone Medium)

Malt extract	10 g
Peptone	1 g
Potato dextrose broth	24 g
Distile su	1000 ml

Makrofungus hücrelerini sıvı besiyerinde kitlesel formda büyütmek için kullanılmıştır (Kim et al., 2002).

2.2.2. Kimyasal maddeler ve çözeltiler

Meteryallerin deney için işlenmeleri ve deney metaryallerinin hazırlanmasında kullanılan çözücü, çözelti ve kimyasallar ve kullanım amaçları (Tablo 2.2)

Tablo 2.2. Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler ve çözeltiler

Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler	Kullanım Amaçları
Kloroform (Merck)	Makrofunguslardan intrasellular ve ekstrasellular madde ekstraksiyonu
Etil asetat (Merck)	Makrofunguslardan intrasellular ve ekstrasellular madde ekstraksiyonu
Diklorometan (Merck)	Makrofunguslardan intrasellular ve ekstrasellular madde ekstraksiyonu
Etanol (Merck)	Makrofunguslardan intrasellular ve ekstrasellular madde ekstraksiyonu
Dietil Eter (Merck)	Makrofunguslardan intrasellular ve ekstrasellular madde ekstraksiyonu
Heptan (Merck)	Makrofunguslardan intrasellular ve ekstrasellular madde ekstraksiyonu
Ringer çözeltisi	Bakteri kültürlerinin Mc Farland (0.5)' e göre seyreltilmesi
Dimetilsülfoksit (DMSO) (Merck)	Makrofunguslardan elde edilen ekstratların belirli konsantrasyonda çözülmesi
Mc Farland (No:0.5) bulanıklık standardı - % 1.175 BaCl ₂ (0,5 ml) - (0,36 N) H ₂ SO ₄ (99,5 ml)	bakteri kültürlerinin standart bulanıklılığının ayarlanması
0,1 N NaOH	Besiyeri pH'nın ayarlanılmasında kullanılmıştır.
0,1 N HCl	Besiyeri pH'nın ayarlanılmasında kullanılmıştır

2.3. Test Mikroorganizmaları

Çalışmada kullanılan mikroorganizmalardan *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve *Candida glabrata* Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Enterococcus faecium*, *Proteus vulgaris*, *Candida albicans*, mikroorganizmaları ise United States Department of Agricultural Research Service, Peoria, Illinois-USA adresinden temin edilmiştir(Tablo 2.3.).

Tablo 2.3. Çalışmada kullanılan test mikroorganizmaları

	Test Mikroorganizmaları	Suş Numaraları
Bakteriler	<i>Bacillus subtilis</i>	NRRLB-3711
	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC-25923
	<i>Micrococcus luteus</i>	NRRLB-1018
	<i>Enterococcus faecium</i>	NRRL B-2354
	<i>Escherichia coli</i>	ATTC-25992
	<i>Proteus vulgaris</i>	NRRLB-123
	<i>Candida albicans</i>	NRRLY-12983
Mayalar	<i>Candida glabrata</i>	Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Hasta izolatu

3. METOD

3.1. Makrofungus Fruktifikasyonlarının Antimikrobiyal Aktivitesinin Belirlenmesi

3.1.1. Makrofungusların ekstraksiyon için hazırlanması

Araziden toplanan makrofungus örnekleri, uygun koşullarda laboratuvarda kurutulduktan sonra IKA marka öğütücü yardımı ile toz haline getirilmiştir.

3.1.2. Solvent ekstraksiyonu

Toz halindeki makrofunguslardan 0.2 g tartılarak, 10 ml çözügen içinde küçük kavanozlara yerleştirilmiş ve 24 saat 20 °C’ de 150 rpm’ de ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Bu işlem, kloroform, dietileter, etilasetat, heptan ve diklorometan için ayrı ayrı uygulanmıştır. Ekstraksiyon aşamasından sonra, çözügenler rotary evaporator yardımı ile uçurulmuş ve daha sonra elde edilen ekstraktlar tartılmış ve 1 ml DMSO’da çözülerek, kullanılıncaya kadar 4 °C’ de saklanmıştır (GÜCİN, 1997).



Şekil 3.1. Rotary Evaporator cihazı



Şekil 3.2. Rotary Evaporator cihazı ve elde edilen ekstrakt

3.1.3. Ekstre içeren disklerin hazırlanması

Antimikrobiyal aktivite testlerinde kullanılacak olan 6 mm çapındaki diskler, Whatman No:1' den hazırlanmıştır. Hazırlanan diskler Etilen oksit gazı ile ESOGÜ Tıp Fakültesi Sterilizasyon Merkezinde steril edilmiştir. Bu disklere emdirilen ekstrelerin konsantrasyonu 30 µg/disk olacak şekilde ayarlanmıştır. Sıvı emdirilen diskler steril kabinde oda sıcaklığında 1 saat süre ile havalandırılarak kuruması sağlanmıştır.

3.2. Batık Kültürde Büyütülen Makrofungus Misellerinin Antimikrobiyal Aktivitesinin Belirlenmesi

3.2.1. Makrofunguslardan misel eldesi

Makrofungusların ekstrasellüler ürünlerini elde etmede gerekli olan misel formlarını geliştirmek için, makrofunguslardan alınan doku parçaları, steril koşullarda Patato Dekstroz Agar'a (PDA) inoküle edilmiştir. Makrofungusların yüzey

sterilizasyonu, % 96' lık alkol içersine batırılıp bek alevinde yakılarak gerçekleştirilmiştir. PDA' ya üç nokta ekimi ile inoküle edilen doku parçaları, 25 °C' de 7-10 gün süre ile inkübe edilmiş ve makrofungusların misel formları elde edilmiştir. Petrilerde büyütülen misel formları yatık PDA tüplerinde geliştirilerek stok kültür haline getirilmiş ve kullanılıncaya kadar 4 °C' de saklanmıştır.

3.2.2. Fermentasyon

Misel ve EPS üretimini gerçekleştirmek için gerekli olan kültür stok kültürden PDA besiyerine inoküle edilerek 25 °C' de 7 gün süre ile inkübe edilmiştir (Kim et al., 2005). Gelişen misellerden önceden steril edilen disk çıkarıcı ile 5 mm çapında diskler çıkarılmıştır. Çıkarılan diskler, 50 ml Potato Malt Peptone Medium (PMP) içeren 250 ml' lik erlenlere aktarılmıştır. PMP içeren 250 ml' lik erlenler çalkalamalı etüvde 25 °C' de 150 rpm çalkalama hızında 4 gün süre ile inkübe edilmiştir (Lee et al., 2003). Dört gün sonunda gelişen hücreler homojenizatörde aseptik koşullarda homojenize edilmiştir. Homojenizasyon ile elde edilen hücre süspansiyonu, Potato Malt Peptone Medium (PMP) besiyerine % 4 (v/v) oranında inoküle edilmiştir (Maziero et al., 1999).

Besiyerlerinin başlangıç pH değeri 0,1 N NaOH ve 0,1 N HCl kullanılarak PH 5 olacak şekilde ayarlanmıştır. İnoküle edilen besiyerleri çalkalamalı etüvde 25 °C' de 150 rpm çalkalama hızında 10 gün geliştirilmiştir (Kim et al., 2002).

3.2.3. Pellet formlarının kültür sıvısından ayrılması

İnkübasyon süresi sonucunda gelişen kültürler, filtrasyon cihazından geçirilerek pellet formları ve kültür sıvısı birbirinden ayrılmıştır. Yaş ağırlıkları kaydedilen pelletler 45 °C sıcaklıktaki etüvde 2 gün bekletilerek tamamen kurumaları sağlanmıştır. Daha sonra da kuru ağırlıkları kaydedilmiştir.

3.2.4. Batık kültürde büyütülen makrofungus misellerinin ekstraksiyon için hazırlanması

Sıvı besiyerinden süzülerek ayrılan miseller etüvde 45 °C’ de kurutularak ağırlıkları tartıldı ve değirmen yardımı ile toz hale getirildi. Etiketlenerek kavanozlarda 4 °C’ de saklandı.

3.2.5. Solvent ekstraksiyonu

Etiketlenerek saklanan örneklerden alınan misellere yapılan işlemler bölüm 3.1.2’ de anlatıldığı şekilde uygulanmıştır.

3.2.6. Ekstre içeren disklerin hazırlanması

Solvent ekstraksiyonundan sonra elde edilen ekstraktlere yapılan işlemler bölüm 3.1.3’ de anlatıldığı şekilde uygulanmıştır.

3.3. Makrofungus İzolatları Tarafından Üretilen Eksopolisakkaritlerin Antimikrobiyal Aktivitesinin Belirlenmesi

3.3.1. EPS’ lerin üretimi ve ayrıştırılması

Eksopolisakkarit (EPS) üretimini gerçekleştirmek için gerekli olan kültür, bölüm 3.2.2. Fermentasyon konusunda anlatıldığı şekilde yapılmış daha sonra inkübasyon süresi sonunda, erlenler kurutma kağıdı yardımı ile süzülerek pellet ve süzüntü olarak iki kısma ayrılmıştır. Elde edilen süzüntü, Whatman No: 2 filtre kağıdından (Whatman

International Ltd., Maidstone, UK) geçirilerek süzölmüştür (Hwang et al., 2003). Her süzüntüye hacminin dört katı kadar saf etanol eklenerek vorteks ile kuvvetlice çalkalandıktan sonra bir gece boyunca 4 °C’ de bekletilmiştir (Lee et al., 2003). EPS, sıvı ortamdan 4500 g’ de 10 dakika santrifüjlenerek ayrılmıştır. Santrifüjleme işlemi sonucunda oluşan EPS çökeltisi, saf etanol ile çözölerek darası alınmış küçük şişelere aktarılmış ve etiketlenerek etüvde 35 °C de kurutulmuştur (Kim et al., 2005).

3.3.2. EPS’ lerin hazırlanması

2 mg/ml konsantrasyonda tartılıp hazırlanan EPS örnekleri tindalizasyonla steril edilmiştir.

3.4. Antimikrobiyal Aktivite Testleri

3.4.1. Test mikroorganizmalarının aktifleştirilmesi

Denemede kullanılacak olan mikroorganizma kültürleri, Mueller Hinton Broth (MHB) besiyerinde ioküle edilerek aktifleştirilmiştir. Stok kültürlerden alınan bakteri ve maya kültürleri 10’ ar ml.lik MHB’ a inoküle edilerek 37 °C’ de, 150 devir/dakika 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

3.4.2.Makrofungus fruktifikasyonlarının antimikrobiyal aktivitesinin disk difüzyon yöntemi ile belirlenmesi

Bakteri ve maya kültürleri inkübasyon süresi sonrasında bulanıklıkları Mc Farland (No:0.5) standart tüpüne göre steril Ringer ile seyreltilerek hazırlanmıştır. Hazırlanan kültür sıvılarından mikropipetlerle 100 µl alınarak petrilere aktarılmış ve drigalski spatülü yardımı ile tüm yüzeye homojen olarak yayılmıştır. Çalışmada

bakteriler için 15 ml Mueller Hinton Agar (MHA) içeren plastik petriler, mayalar için ise 15 ml Sabourod Dekstroz Agar (SDA) içeren steril plastik petriler kullanılmıştır.

Hazırlanan petriler etüvde 37 °C' de 1 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bakteri ve maya kültürlerinin inoküle edildiği petrilere, içlerine aseptik olarak intrasellular ve ekstrasellular metabolit içeren makrofungus ve misel formlardan elde edilen ekstraktlar 30 µg/ml konsantrasyonda emdirilmiş diskler yerleştirilmiştir. Bakteri ve mayalar 37 °C' de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda disklerin etrafında oluşan inhibisyon zonlarının çapları, 6 mm disk çapı da dahil olmak üzere ölçülmüştür. Negatif kontrol için sadece çözenlerin emdirilmiş olduğu diskler, Pozitif kontrol olarak hazır antibiyotik diskleri kullanılmıştır. Bakteriler için, 30 µg/disk konsantrasyonda vankomisin diski kullanılmıştır. Mayalar için ise, flukonazol 30 µg/disk konsantrasyonda hazırlanmıştır. Test mikroorganizmalarına karşı yapılan antimikrobiyal aktivite denemeleri 2 paralel halinde çalışılmış ve sonuçlar her bir ekstre ve kontrol antibiyotikleri için inhibisyon zonlarının ortalaması alınarak değerlendirilmiştir (Bauer and Kirby, 1966).

3.4.3. Batık kültürde büyütülen makrofungus misellerinin disk difüzyon yöntemi ile belirlenmesi

Batık kültürde büyütülen makrofungus misellerinin antimikrobiyal aktivite testi bölüm 3.4.2. de anlatılan disk difüzyon yöntemi ile yapılmıştır.

3.4.4. Eksopolisakkaritlerin antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi, agar kuyu yöntemi

Bölüm 2.4.1. de anlatılan yöntemle hazırlanan ve mikroorganizma inokülasyonu yapılan petriler etüvde 37 °C' de 1 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bakteri ve maya kültürlerinin inoküle edildiği petrilere aseptik koşullarda 6 mm çapında kuyular açılmış ve bu kuyulara EPS çözeltileri 2 mg/ml konsantrasyonda 15 µl çözelti eklenmiştir.

Daha sonra bakteri ve mayalar 37 °C de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda kuyuların etrafında oluşan inhibisyon zonlarının çapları, 6 mm kuyu çapı da dahil olmak üzere ölçülmüştür. Negatif kontrol için sadece steril saf su kullanılmıştır. Pozitif kontrol olarak bakteriler için 30 µg/disk konsantrasyonda Vankomisin diski kullanılmıştır. Mayalar için ise, Flukonazol antibiyotiğinden 30 µg/disk konsantrasyonda diskler hazırlanmıştır.

4.BULGULAR

Elimizde bulunan mantar fruktifikasyonları, batık kültürde büyütülen mantar miselleri ve batık kültürde üretilmiş fungal eksopolisakkaritlerin çeşitli çözücülerle ekstrasyonları ile elde edilen maddeler kullanılarak mikroorganizmalara karşı denenmiş ve antimikrobiyal etkileri gözlenmiştir.

4.1. Test Mikroorganizmalarına Karşı Fungal Fruktifikasyon Ekstraktlarının Antimikrobiyal Aktivitesi

Çeşitli bölgelerden toplanan makrofungusların değişik çözücüler kullanılarak ekstraksiyonlar yapılmış ve bu ekstraksiyonların test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal özellikleri denenmiştir (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Çeşitli test mikroorganizmalarına karşı fungal fruktifikasyon ekstraktlarının inhibisyon zon çapı (mm.)

M-88/<i>G. carnosum</i>	A	B	C	D	E	F	G	H
HEPTAN	-	7	-	-	-	-	7	7
DİETİLETER	7	10	-	-	-	-	7	8
KLOROFORM	-	9	-	-	-	-	8	7
DİKLOROMETAN	-	8	-	-	-	-	7	7
ETİLASETAT	-	7	-	8	-	-	7	7
M-107/<i>L. sulphureus</i>	A	B	C	D	E	F	G	H
HEPTAN	-	8	-	7	7	-	-	7
DİETİLETER	-	7	-	8	7	7	9	7
KLOROFORM	-	7	9	-	7	7	9	8
DİKLOROMETAN	-	7	-	-	7	7	7	8
ETİLASETAT	-	8	-	-	7	-	-	9

A: *Bacillus subtilis* **B:** *Staphylococcus aureus* **C:** *Micrococcus luteus* **D:** *Enterococcus faecium* **E:** *Escherichia coli* **F:** *Proteus vulgaris* **G:** *Candida albicans* **H:** *Candida glabrata*, **DM:** Denenmedi

Tablo 4.1(Devamı) Çeşitli test mikroorganizmalarına karşı fungal fruktifikasyon ekstraktlarının inhibisyon zon çapı (mm.)

M-118/ <i>C. comatus</i>	A	B	C	D	E	F	G	H
HEPTAN	-	-	-	-	-	15	-	-
DİETİLETER	-	7	-	14	7	-	-	13
KLOROFORM	-	-	-	11	-	8	-	12
DİKLOROMETAN	-	-	-	-	-	-	-	11
ETİLASETAT	-	-	-	-	7	-	-	-
D-26/ <i>L. strigosus</i>	A	B	C	D	E	F	G	H
HEPTAN	-	-	-	14	7	9	-	-
DİETİLETER	-	-	-	11	-	-	-	7
KLOROFORM	-	-	-	-	-	8	-	12
DİKLOROMETAN	-	-	-	-	-	-	-	11
ETİLASETAT	-	-	-	-	7	-	-	-
D-30/ <i>C. unicolor</i>	A	B	C	D	E	F	G	H
HEPTAN	-	7	-	-	-	-	-	8
DİETİLETER	-	8	-	8	9	-	8	7
KLOROFORM	-	-	-	-	-	-	8	7
DİKLOROMETAN	-	8	-	-	-	-	-	8
ETİLASETAT	-	-	-	-	-	-	10	9
S-2/ <i>L. betulina</i>	A	B	C	D	E	F	G	H
HEPTAN	-	8	-	7	-	-	-	7
DİETİLETER	-	9	-	8	-	8	8	7
KLOROFORM	-	-	9	8	-	9	9	7
DİKLOROMETAN	-	7	8	7	-	8	9	7
ETİLASETAT	-	-	-	-	-	-	-	7
T-192/ <i>C. truncatus</i>	A	B	C	D	E	F	G	H
HEPTAN	-	8	-	-	-	-	8	8
DİETİLETER	-	8	-	8	-	-	8	9
KLOROFORM	9	7	10	10	-	-	10	8
DİKLOROMETAN	-	8	-	9	-	-	10	7
ETİLASETAT	-	-	-	-	-	-	-	-
T-438/ <i>P. arcularius</i>	A	B	C	D	E	F	G	H
HEPTAN	-	8	-	-	-	-	-	-
DİETİLETER	-	7	-	-	-	-	-	-
KLOROFORM	-	9	-	-	-	-	-	-
DİKLOROMETAN	-	8	-	-	-	-	-	-
ETİLASETAT	-	8	-	-	-	-	-	-
Vankomisin	20	14	12	14	11	-	DM	DM
Flukonazol	DM	DM	DM	DM	DM	DM	13	11

A: *Bacillus subtilis* **B:** *Staphylococcus aureus* **C:** *Micrococcus luteus* **D:** *Enterococcus faecium* **E:** *Escherichia coli* **F:** *Proteus vulgaris* **G:** *Candida albicans* **H:** *Candida glabrata*, **DM:** Denenmedi

4.2. Test Mikroorganizmalarına Karşı Batık Kültürde Büyütülen Misel lerin Ekstraksiyonlarının Antimikrobiyal Aktivitesi

Fungal kültürler batık kültür ortamında büyütülmüştür. Elde edilen misellerden çeşitli çözücüler kullanılarak ekstraksiyonlar yapılmış ve bu ekstraksiyonların test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal özellikleri denenmiştir. *Ganoderma carnosum*, *Lenzites betulina*, *Clavariadelphus truncatus*, *Polyporus arcularius*, *Ganoderma carnosum* (D-26), *Lentinus strigosus*, *Cerrena unicolor* 'da olumlu sonuçlar elde edilmiştir (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Çeşitli test mikroorganizmalarına karşı batık kültür ortamında büyütülmüş olan misel ekstraktlarının inhibisyon zon çapı (mm.)

M-88/ <i>G. carnosum</i>	A	B	C	D	E	F	G	H
HEPTAN	-	-	-	-	-	-	-	10
DİETİLETER	-	-	-	-	-	-	-	8
KLOROFORM	-	-	-	-	-	-	-	8
DİKLOROMETAN	-	-	-	-	-	-	-	7
ETİLASETAT	-	-	-	-	-	-	-	8
M-107/ <i>L.sulphureus</i>	A	B	C	D	E	F	G	H
HEPTAN	-	-	-	-	-	-	9	9
DİETİLETER	-	-	-	-	-	-	-	9
KLOROFORM	-	-	-	-	-	-	-	8
DİKLOROMETAN	-	-	-	-	-	-	-	7
ETİLASETAT	-	-	-	-	-	-	-	9
M-118/ <i>C. comatus</i>	A	B	C	D	E	F	G	H
HEPTAN	-	-	-	-	-	-	-	8
DİETİLETER	-	-	-	-	-	-	-	10
KLOROFORM	-	-	-	-	-	-	-	7
DİKLOROMETAN	-	-	-	-	-	-	-	7
Vankomisin	20	14	12	14	11	-	DM	DM
Flukonazol	DM	DM	DM	DM	DM	DM	13	11

A: *Bacillus subtilis* **B:** *Staphylococcus aureus* **C:** *Micrococcus luteus* **D:** *Enterococcus faecium* **E:** *Escherichia coli* **F:** *Proteus vulgaris* **G:** *Candida albicans* **H:** *Candida glabrata*, **DM:** Denenmedi

Tablo 4.2(devamı) Çeşitli test mikroorganizmalarına karşı batık kültür ortamında büyütülmüş olan misel ekstraktlarının inhibisyon zon çapı (mm.)

D-21/ <i>G. carnosum</i>	A	B	C	D	E	F	G	H
HEPTAN	7	-	-	-	-	8	9	8
DİETİLETER	-	-	-	-	-	-	-	9
KLOROFORM	8		-	-	-	-	-	8
DİKLOROMETAN	-	-	9	-	-	-	-	8
ETİLASETAT	-	-	-		8	-	-	9
D-26/ <i>L. strigosus</i>	A	B	C	D	E	F	G	H
HEPTAN	-	-	-	-	-	-	-	10
DİETİLETER	-	-	-	8	-	-	-	9
KLOROFORM	-	-	-	8	-	-	-	9
DİKLOROMETAN	-	-	-	8	-	-	-	8
ETİLASETAT	-	-	-	7	-	-	-	7
D-30/ <i>C. unicolor</i>	A	B	C	D	E	F	G	H
HEPTAN	-	9	8	16	7	-	-	9
DİETİLETER	-	9	9	9	9	-	-	9
KLOROFORM	-	10	11	16	9	-	-	9
DİKLOROMETAN	-	10	11	16	9	-	-	11
ETİLASETAT	-	7	8	16	7	-	-	9
S-2/ <i>L. betulina</i>	A	B	C	D	E	F	G	H
HEPTAN	-	-	-	9	-	-	-	-
DİETİLETER	-	-	-	7	-	-	-	-
KLOROFORM	-	-	-	-	-	-	9	10
DİKLOROMETAN	-	-	-	-	-	-	9	9
ETİLASETAT	-	-	-	-	-	-	8	-
T-192/ <i>C. truncatus</i>	A	B	C	D	E	F	G	H
HEPTAN	-	-	-	-	-	-	-	-
DİETİLETER	-	7	7	8	7	-	8	-
KLOROFORM	-	-	-	-	-	-	-	-
DİKLOROMETAN	-	-	-	-	-	-	7	-
ETİLASETAT	-	7	-	-	-	-	8	-
T-438/ <i>P. arcularius</i>	A	B	C	D	E	F	G	H
HEPTAN	-	-	-	-	-	-	-	-
DİETİLETER	-	-	-	-	-	-	-	7
KLOROFORM	-	-	-	-	-	-	-	8
DİKLOROMETAN	-	-	-	-	-	-	-	7
ETİLASETAT	-	-	-	-	-	-	8	8

A: *Bacillus subtilis* **B:** *Staphylococcus aureus* **C:** *Micrococcus luteus* **D:** *Enterococcus faecium* **E:** *Escherichia coli* **F:** *Proteus vulgaris* **G:** *Candida albicans* **H:** *Candida glabrata*, **DM:** Denenmedi

4.3. Çeşitli Test Mikroorganizmalarına Karşı Fungal Eksopolisakkaritlerin Antimikrobiyal Aktivitesi

Ganoderma carnosum (M-88)' dan elde edilen eksopolisakkaritler *B. subtilis*' e 11 mm'lik bir inhibisyon zonu, *M. luteus*' a karşı 15 mm'lik bir zon, *E. faecium*' a karşı 14 mm. zon , *E. coli*' ye ise 7 mm. zon oluşturmuştur. *C.albicans*' a karşı en yüksek aktiviteyi göstererek 16 mm'lik bir zon çapı gözlenmiştir (Tablo 4.3).

Polyporus arcularius' dan elde edilen eksopolisakkaritler de ise *S. aureus*' a karşı 11 mm'lik zon oluşturmuş. *M. luteus*' a karşı en yüksek aktiviteyi 12 mm'lik zon oluşturarak göstermiştir. Diğer mikroorganizmalara karşı herhangi bir etki göstermediği gözlemlenmiştir (Tablo 4.3).

Tablo 4.3 çeşitli test mikroorganizmalarına karşı fungal eksopolisakkaritlerin inhibisyon zon çapı (mm.)

EPS	A	B	C	D	E	F	G	H
M-118	-	-	-	-	-	-	-	-
D-21	-	-	15	14	-	-	16	-
T-438	-	11	12	-	-	-	-	-
S-2	11	-	12	-	7	-	-	-
D-30	-	-	-	13	7	-	-	-
M-88	9	-	-	13	7	-	-	-
T-192	-	-	-	-	-	-	-	-
M-107	-	-	-	-	-	-	-	-
D-26	-	-	-	-	-	-	-	-
Vankomisin	20	14	12	14	11	-	DM	DM
Flukonazol	DM	DM	DM	DM	DM	DM	13	11

A: *Bacillus subtilis* **B:** *Staphylococcus aureus* **C:** *Micrococcus luteus* **D:** *Enterococcus faecium* **E:** *Eschericha coli* **F:** *Proteus vulgaris* **G:** *Candida albicans* **H:** *Candida glabrata*, **M-118:** *Coprinus comatus*, **D-21:** *Ganoderma carnosum*, **T-438:** *Polyporus arcularius*, **S-2:** *Lenzites betulina*, **D-30:** *Cerrena unicolor*, **M-88:** *Ganoderma carnosum*, **T-192:** *Clavariadelphus truncatus*, **M-107:** *Laetiporus sulphureus*, **D-26:** *Lentinus strigosus*, **DM:** Denenmedi

Lenzites betulina' dan elde edilen eksopolisakkaritler de 11 mm'lik zonla *B. subtilis*' e karşı, 12 mm'lik zonla *M. luteus*' a ve 8 mm'lik zonla *E. coli*' de düşük antimikrobiyal aktivite görülmüştür. Diğer mikroorganizmalara karşı herhangi bir etki saptanmamıştır (Tablo 4.3).

Cerrena unicolor' dan elde edilen eksopolisakkaritler de *E. faecium*' a karşı 13 mm'lik zon oluşumu, *E. coli*' de ise 8 mm'lik zonla düşük antimikrobiyal aktivite gözlenmiştir. Diğer mikroorganizmalara karşı ise herhangi bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir (Tablo 4.3).

Clavariadelphus truncatus, *Laetiporus sulphureus* ve *Lentinus strigosus*' dan elde edilen eksopolisakkaritler de deney mikroorganizmalarına karşı herhangi bir aktivite göstermedikleri tespit edilmiştir (Tablo 4.3).

5.TARTIŞMA

Patojen mikroorganizmalar insanlar için her zaman sorun olmuştur. Günümüz koşullarında bakterilerin antibiyotiklere karşı direnç kazandıkları da düşünüldüğünde sürekli yeni antibiyotikler aranmaktadır. Modern teknolojiden yararlanılarak günümüzde fungal antimikrobiyal maddelerin izolasyonu ve fungal kökenli ilaçların üretim çalışmaları hız kazanmıştır. Yapılan çalışmada ülkemizin farklı bölgelerinden izole edilmiş makrofungus izolatlarının çeşitli yaşam formları ve metabolitlerinin antimikrobiyal aktiviteleri karşılaştırılmıştır. Bu amaçla makrofungus izolatlarından elde edilen eksopolisakkaritler, batık kültür ortamında büyütülmüş miseller ve fruktifikasyon yapıları, sahip oldukları antimikrobiyal aktivite açısından çeşitli test mikroorganizmalarına karşı taranmıştır. Çalışmada kullanılan test mikroorganizmaları insanda patojendir. Çalışmada kullanılan 9 makrofungus türünün intrasellüler ve/veya ekstrasellüler ürünlerinin test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktiviteleri incelenmiştir. Elde edilen veriler antimikrobiyal aktivitenin çözücü ve suşa bağlı olarak değiştiğini göstermektedir. Tür içi farklılıkları ortaya koyabilmek amacı ile farklı lokalitelerden elde edilmiş aynı türe ait izolatlar da çalışmaya dahil edilmiştir.

5.1. Test Mikroorganizmalarına Karşı Fungal Fruktifikasyon Ekstraktlarının Antimikrobiyal Aktivitesi

Ganoderma carnosum (M-88), *Bacillus subtilis*’ e karşı etki sadece dietileter ekstraksiyonunda görülmüş ancak pozitif kontrolde kullanılan vankomisine göre çok etkili değildir. *Staphylococcus aureus*’ a karşı tüm çözücü ekstraksiyonlarında aktivite görülürken yine pozitif kontrole göre aktivite düşüktür. Tüm ekstraksiyonlar *Micrococcus luteus*’ a karşı herhangi bir etki gösterememiştir. *Enterococcus faecium*’ a karşı aktivite sadece etilasetat ekstraksiyonunda görülmüş fakat aktivite vankomisine göre daha zayıf kalmıştır. *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*’ de herhangi bir etki yaratmazken tüm çözücülerde *Candida albicans* ve *Candida glabrata*’ ya karşı zayıf da olsa etki göstermiştir. (Tablo 4.1).

Laetiporus sulphureus *Bacillus subtilis*' e karşı hiçbir ekstraksiyonda etkili olamamasına rağmen geniş spektrumlu bir etkiye sahip olduğu bulunmuştur. *Staphylococcus aureus*' a tüm çözücü ekstraksiyonlarında etkili olmasına rağmen vankomisinde elde edilen değerlere göre düşüktür. *Micrococcus luteus*' a karşı sadece kloroform ekstraktında etki görülmüştür. Heptan ve dietileter ekstraktlarında *Enterococcus faecium*' a karşı çok az etki görülmesine karşın diğer çözeltilerde etki saptanmamıştır. *Escherichia coli*' de tüm çözelti ekstraktlarında etkili olmasına rağmen vankomisine göre zayıf kaldığı görülmüştür. *Proteus vulgaris* ve *Candida albicans*' a dietileter, kloroform ve diklorometanda çok zayıf etki gözlenmiştir. Tüm çözücülerde *Candida glabrata*' ya karşı vankomisine göre daha düşük de olsa aktivite görülmüştür. (Tablo 4.1).

Coprinus comatus' da *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus* ve *Candida albicans*' a karşı herhangi bir etkisinin olmadığı bulunmuştur. *Staphylococcus aureus*' a karşı zayıf bir etki sadece dietileter ekstraksiyonu ile elde edilmiştir. *Enterococcus faecium*' a dietileterden elde edilen sonuç pozitif kontrolde kullanılan vankomisini ile aynı değerdedir. Bu sonuç *Coprinus comatus*' tan elde edilen en yüksek antimikrobiyal aktivite sonuçlarından biridir. *Escherichia coli* ve *Proteus vulgaris*' e karşı da zayıf aktivite görülmüştür. *Candida glabrata*' da kloroform ekstraksiyonundan elde edilen sonuç da yine pozitif kontrol olarak kullanılan flukonazole göre daha yüksek çıkarak *Coprinus comatus*' un antifungal aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir. (Tablo 4.1).

Lenzites betulina' dan *Bacillus subtilis* ve *Escherichia coli*' ye karşı aktivite görülmemiştir. *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Enterococcus faecium*, *Proteus vulgaris*, *Candida albicans* ve *Candida glabrata*' ya karşı pozitif kontrollere göre daha zayıf etki göstermiş ancak sekiz mikroorganizmadan altısına karşı etki göstererek geniş spektrumlu antimikrobiyal etken maddelere sahip olduğunu anlaşılmıştır. (Tablo 4.1).

Clavariadelphus truncatus tüm çözelti ekstraksiyonlarında *Escherichia coli* ve *Proteus vulgaris*' e hiçbir aktivite göstermemiştir. *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Enterococcus faecium*, *Candida albicans* ve *Candida glabrata*' ya karşı pozitif kontrole yakın değerlerde antimikrobiyal aktivite göstermiştir (Tablo 4.1).

Deney sonuçlarına göre etilasetatla ekstraksiyon sonuçlarında hiçbir mikroorganizmaya etki göstermemesi de ilginç bir sonuçtur. Diğer çözücülerle yapılan denemelerde elde edilen sonuçlar çok yüksek değerlerde olmasa da *Clavariadelphus truncatus*' un antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu ve test mikroorganizmalarına etkili olduğu görülmüştür. (Tablo 4.1).

Polyporus arcularius tüm çözücülerde sadece *B. subtilis*' e karşı etki göstermiş ve diğer mikroorganizmalara karşı herhangi bir etkisi olmamıştır. *Polyporus arcularius*' un spesifik bir antimikrobiyal etki göstermesi bu alanda yapılacak çalışmalar için bir basamak oluşturabilecek bir sonuçtur. (Tablo 4.1).

Lentinus strigosus Enterococcus faecium' a karşı heptanda vankomisin ile aynı değerlerde dietileter de daha düşük değerler olmasına rağmen yine aktivite görülmüştür. *Escherichia coli* ve *Proteus vulgaris*' de sadece heptanda etki göstermiş fakat çok etkili olmadıkları görülmüştür. *Candida glabrata*' ya karşı yapılan denemelerde ise kloroformda flukanozolden daha yüksek sonuç alınmış diklorometanda ise flukonazolle aynı değerler bulunmuştur. Dietileterde ise çok az etki görülmüştür. (Tablo 4.1).

Cerrena unicolor Bacillus subtilis, Micrococcus luteus ve *Proteus vulgaris*' e karşı etki göstermemiştir. En yüksek değerler dietileter ekstraktlarında görülmüştür. *Enterococcus faecium, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Candida albicans* ve *Candida glabrata*' da pozitif kontrole göre daha az aktivite görülmüş ancak geniş spektrumlu etki göstermiştir. (Tablo 4.1).

Tüm fungus fruktifikasyonlarının Heptanla ekstraksiyonundan deney mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktivite gözlenmiştir. *Ganoderma carnosum*' da *Staphylococcus aureus* ve *Candida albicans*' a karşı az bir aktivite göstermiştir. *P. vulgaris*' e karşı heptan ekstraksiyonu vankomisinle karşılaştırıldığında çok yüksek değerlerdedir. Spesifik bir aktivite söz konusudur. *Laetiporus sulphureus*' ta ise *Staphylococcus aureus, Enterococcus faecium, Escherichia coli*' ye karşı aktivite görülmüştür. *Coprinus comatus*' da ise Heptan ekstraksiyonu *Proteus vulgaris*' e karşı aktivite göstermiştir. Bu değer *P. vulgaris*' e karşı vankomisinden daha etkili olduğunu ve etkili antimikrobiyal aktivitesi olduğunu göstermiştir. *Lentinus strigosus*' ta *Enterococcus faecium*' a karşı yüksek aktivite göstermiş ve vankomisin ile aynı değerleri vermiştir. *Escherichia coli, Proteus vulgaris*' e karşı da aktivite gösterdiği bulunmuştur. *Cerrena unicolor*' da düşük de olsa aktivite görülmüştür. *Lenzites*

betulina Staphylococcus aureus, Enterococcus faecium ve *Candida glabrata*' ya karşı düşük aktivite göstermiştir. *Clavariadelphus truncatus*' da *Candida glabrata*' ya karşı aktivite gözlenmiştir. Heptan ekstraksiyonunun en yüksek aktivite gösteren örnekleri *Lentinus strigosus* ve *Coprinus comatus*' dur (Tablo 4.1).

Dietileter ekstraksiyonunda tüm funguslarda sonuç alınmıştır. *Ganoderma carnosum*' da *Bacillus subtilis, Candida albicans, Candida glabrata*' da aktivite görülmüş, *Staphylococcus aureus*' a karşı daha yüksek aktivite göstermiştir. *Laetiporus sulphureus* ise *Bacillus subtilis* ve *Micrococcus luteus* haricindeki tüm deney mikroorganizmalarına karşı etki göstermiştir. *Coprinus comatus, Staphylococcus aureus Escherichia coli, Candida glabrata*' ya karşı etki gösterirken *Enterococcus faecium*' a karşı yüksek antimikrobiyal aktivite göstermiş bu sonuçlar vankomisin ile aynı değerdedir. *Lentinus strigosus Enterococcus faecium*' a karşı yüksek antimikrobiyal aktivite gösterirken *Candida glabrata*' ya karşı da az da olsa antimikrobiyal aktivite göstermiştir. *Cerrena unicolor* ise *Bacillus subtilis, Micrococcus luteus, Proteus vulgaris* haricindeki deney mikroorganizmalarına düşük de olsa aktivite göstermiştir. *Lenzites betulina*' dan elde edilen ekstraktlarda ise *Bacillus subtilis, Micrococcus luteus, Escherichia coli*' de herhangi bir aktivite görülmemiştir. *Proteus Vulgaris*' te vankomisininden daha etkili sonuç vermiştir. *Clavariadelphus truncatus*' da *Staphylococcus aureus, Enterococcus faecium, Candida albicans* ve *Candida glabrata*' ya karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir. *Polyporus arcularius*' de sadece *Staphylococcus aureus*' a karşı düşük aktivite görülmüştür. Dietileter ekstraksiyonda hemen hemen tüm örneklerde etkili sonuçlar çıkmıştır. *Laetiporus sulphureus, Coprinus comatus, Cerrena unicolor, Lenzites betulina* geniş spektrumlu ve etkili antimikrobiyal etki gösteren türler olmuştur (Tablo 4.1).

Kloroform ekstraksiyonu sonuçlarında *Bacillus subtilis*' e sadece *Clavariadelphus truncatus*' da etki görülmüştür. *Staphylococcus aureus*' a *Ganoderma carnosum* ve *Polyporus arcularius*' de yüksek aktivite değerleri görülmüştür. *Micrococcus luteus*' a karşı *Clavariadelphus truncatus* en fazla etki gösteren ekstrakt olmuştur. *Enterococcus faecium*' a karşı en etkili ekstrakt *Coprinus comatus* ve *Clavariadelphus truncatus* olduğu görülmüştür. Kloroform ekstraktlarında *E. coli*' ye sadece *Laetiporus sulphureus* etkili olmuş ancak vankomisine göre çok etkisiz kalmıştır. *Proteus vulgaris*' e karşı *Laetiporus sulphureus, Coprinus comatus,*

Ganoderma carnosum ve *Lenzites betulina* yüksek aktivite göstermiş vankomisin ise etkisiz kalmıştır. *Candida albicans*' a *Clavariadelphus truncatus* flukanozole göre daha az almasına rağmen deneyde en iyi sonucu vermiştir. *C. glabrata*' ya *Polyporus arcularius* haricinde tüm kloroform ekstraktlarında aktivite görülmüş en yüksek değerler *G.carnosum* ve *C. comatus*' dan elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlar flukanozolden daha etkili olduklarını göstermektedir. Kloroform ekstraksiyonu sonuçlarında *Laetiporus sulphureus*, *Coprinus comatus*, *Lenzites betulina*, *Clavariadelphus truncatus* geniş spektrumlu etkiye sahip türler olmuş ve aktiviteleri yüksek türlerdir (Tablo 4.1).

Diklorometan ekstraksiyonlarında *B. subtilis*' e karşı aktivite görülmemiştir. *Staphylococcus aureus*' a karşı vankomisine göre düşük aktivite belirlenmiştir. *Ganoderma carnosum* ve *Coprinus comatus*' da aktivite görülmemiştir. Diklorometan ekstraksiyonunda *Micrococcus luteus*' a karşı aktivite gösteren sadece *Lenzites betulina* olmuş ancak etkili bir aktivite görülmemiştir. *Enterococcus faecium*' a karşı etkili bir aktivite saptanmamış ancak *Lenzites betulina* ve *Clavariadelphus truncatus*' ta düşük aktivite gözlenmiştir. *Proteus vulgaris*' e karşı kullanılan vankomisin etki göstermezken *Laetiporus sulphureus* ve *Lenzites betulina*' da antimikrobiyal aktivite görülmüştür. Diklorometan ekstraksiyonlarından *Ganoderma carnosum*, *Laetiporus sulphureus*, *Lenzites betulina*, *Clavariadelphus truncatus*' da *Candida albicans*' a karşı aktivite görülmüş. İçlerinde flukonazole en yakın sonucu *Clavariadelphus truncatus*' da görülmüştür. *Candida glabrata*' ya karşı antimikrobiyal aktivite *Polyporus arcularius* haricinde tüm ekstraksiyonlarda görülmüş olup en yüksek aktiviteyi *Coprinus comatus* ve *Laetiporus sulphureus* göstermiştir. Genel itibari ile diklorometan ekstraksiyonlarında en fazla mikroorganizma çeşidine etkili olan türler *Laetiporus sulphureus*, *Lenzites betulina* olmuştur. En etkili türler ise *Coprinus comatus* ve *Laetiporus sulphureus* olmuştur (Tablo 4.1).

Etilasetat ekstraksiyonlarında *B. subtilis*' e karşı aktivite gösteren olmamıştır. *S. aureus*' a *Ganoderma carnosum*, *Laetiporus sulphureus* ve *Polyporus arcularius* olumlu sonuçlar alınmasına rağmen çok etkili değerlere ulaşamamıştır. Yine *M. luteus*' a karşı herhangi bir aktivite olmamıştır. *Enterococcus faecium*' a karşı ise sadece *Ganoderma carnosum* etkili olmuştur. *Escherichia coli*' de ise *Laetiporus sulphureus*, *Coprinus comatus* ve *Lentinus strigosus* da aktivite görülmüş ancak vankomisine göre

çok zayıf bir etkide olduğu tespit edilmiştir. *Proteus vulgaris*' e etilasetat ekstraksiyonundan herhangi bir sonuç alınamamıştır. *Candida albicans* ve *Candida glabrata*' da sonuçlar alınmış ancak etkili olmadıkları görülmüştür. Etilasetat ekstraksiyonlarında çok yüksek değerlere ulaşamamasına rağmen en geniş etki *Laetiporus sulphureus*, *Ganoderma carnosum*, *Cerrena unicolor*' da görülmüştür. Ancak pozitif kontrolde kullanılan antibiyotiklere göre etkisiz kaldıkları bulunmuştur (Tablo 4.1).

5.2. Test Mikroorganizmalarına Karşı Batık Kültür Misel Ekstraktlarının Antimikrobiyal Aktivitesi

Batık kültür ortamında üretilen makrofungus misellerinin çeşitli çözücülerle ekstraksiyonu sonrasında elde edilen ekstraktlar test mikroorganizmalarına karşı denenmiş ve sonuçlar elde edilmiştir. Bu sonuçlara göre ;

Ganoderma carnosum (M-88)' un tüm ekstraksiyonları sadece *C. glabrata*' ya karşı etki göstermiş en yüksek aktivasyon ise heptan çözücüsünde görülmüştür. Ancak elde edilen veriler pozitif kontrole göre daha düşüktür. Bir diğer lokaliteden alınan *Ganoderma carnosum* (D-21)' un tüm ekstraksiyonlarında yine *C. glabrata*' ya karşı aktivite görülmüştür. Ancak bu deneyde heptanla ekstraksiyonda daha geniş bir etki alanında aktivasyon görülmüştür. *B. subtilis*, *P. vulgaris* ve *C. albicans*' a da aktivite göstermiştir. Kloroform ekstraksiyonunda *Bacillus subtilis*' e, diklorometan ekstraksiyonunda *M. luteus*' a, etilasetat ekstraksiyonunda ise *E. coli*' ye etki göstermiştir. Bunun nedeninin çözücülerdeki farklı polariteler yüzünden farklı etken maddelerin elde edilmiş olmalarından kaynaklandığı düşünülmektedir (Tablo 4.2).

Coprinus comatus' da tüm çözücülerde sadece *C. glabrata*' ya karşı aktivite görülürken en fazla antimikrobiyal aktivitenin görüldüğü ekstrakt etilasetat çözeltisinin kullanıldığı deneyde elde edilmiştir. Ancak deney sonuçları yine pozitif kontrole göre zayıf bir aktivite olduğunu göstermektedir (Tablo 4.2).

Laetiporus sulphureus' un heptanla ekstraksiyonunda antifungal etki göstererek sadece *Candida glabrata* ve *Candida albicans*' a etki etmiştir. Diğer tüm ekstraksiyonlarında ise sadece *C. glabrata*' ya karşı aktivasyon görülmüş ancak pozitif kontrole göre etkinin zayıf kaldığı görülmüştür (Tablo 4.2).

Lenzites betulina' da heptan ve dietileter çözeltisinde sadece *Enterococcus faecium*' a karşı etki gösterdiği bulunmuştur. Kloroform ve diklorometan çözeltisi ekstraktlarında ise antifungal etki göstermiş ve *Candida albicans* ve *Candida glabrata*' ya karşı pozitif kontrole göre daha zayıf etki gösterdikleri görülmüştür. Etilasetat ekstraktı deney sonucunda ise sadece *Candida albicans*' a karşı etkili olduğu ancak bu etkinin zayıf olduğu görülmüştür (Tablo 4.2).

Polyporus arcularius heptan ekstraksiyonu sonuç vermemiştir. Dietileter, kloroform, diklorometan ekstraksiyonlarında sadece *Candida glabrata*' ya karşı etkili oldukları ancak pozitif kontrole göre daha zayıf oldukları görülmüştür. *Clavariadelphus truncatus* heptan ve kloroform ekstraksiyonunda sonuç alınamamıştır. Ancak dietileter ekstraksiyonu sonucu daha geniş bir etki göstererek *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*' a karşı pozitif kontrole göre zayıf da olsa etki göstermiştir. Diklorometan ekstraksiyonunda ise sadece *Candida albicans*' a karşı etkili olmuştur. Etilasetat ekstraksiyonunda *Staphylococcus aureus* ve *Candida albicans*' da etkili olmuş ancak pozitif kontrolde kullanılan antibiyotiklere göre daha zayıf kaldıkları bulunmuştur (Tablo 4.2).

Lentinus strigosus heptan ekstraksiyonunda sadece *Candida glabrata*' ya karşı etki göstermiş diğer test mikroorganizmalarına karşı etkili olmamıştır. Diğer tüm çözücü ekstraksiyonlarında ise *Enterococcus faecium* ve *Candida glabrata*' da antimikrobiyal aktivite görülmüştür. Ancak pozitif kontrole göre daha düşük aktivite görülmüştür

Heptan çözücü kullanılarak *Clavariadelphus truncatus*, *Polyporus arcularius* haricinde tüm mantarların misel ekstraksiyonlarında sonuçlara ulaşılmıştır. *Cerrena unicolor*' un heptan ekstraktlarında en yüksek aktivite gözlenmiş yine *Ganoderma carnosum* misellerinin heptanla ekstraksiyonundan elde edilen sonuçlarda yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir (Tablo 4.2).

Ganoderma carnosum, *Laetiporus sulphureus*, *Coprinus comatus*' un Dietileter ekstraktlarında sadece *Candida glabrata*' ya karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. *Lentinus strigosus*' un *Enterococcus faecium* ve *Candida glabrata*' ya karşı etkili olduğu bulunmuştur. *Cerrena unicolor*' dan elde edilen ekstraktların ise *Bacillus subtilis*, *Proteus vulgaris*, *Candida albicans* haricindeki tüm test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği bulunmuştur. *Clavariadelphus truncatus*' dan elde edilen ekstraktların ise *Bacillus subtilis*, *Proteus vulgaris*, *Candida glabrata* haricindeki tüm test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği bulunmuştur (Tablo 4.2).

Diğer mantarlara göre daha geniş etkili olduğu görülen *Cerrena unicolor*' da tüm ekstraksiyonlarda *Bacillus subtilis*' e etkili olmamış, *Staphylococcus aureus* (Şekil.5.1), *Micrococcus luteus* (Şekil.5.2), *Escherichia coli*' de (Şekil.5.3) pozitif kontrole göre daha az etki göstermiştir. *Enterococcus faecium*' a karşı etkili olduğu görülmüştür. *Proteus vulgaris*, *Candida albicans*' a karşı etkili olmadıkları ancak *Candida glabrata*' ya karşı zayıf etki gösterdiği deney sonucunda görülmüştür. *Enterococcus faecium* ve *Escherichia coli*' ye karşı alınan sonuçlar pozitif kontrolde alınan sonuçlardan daha etkili oldukları görülmüştür.

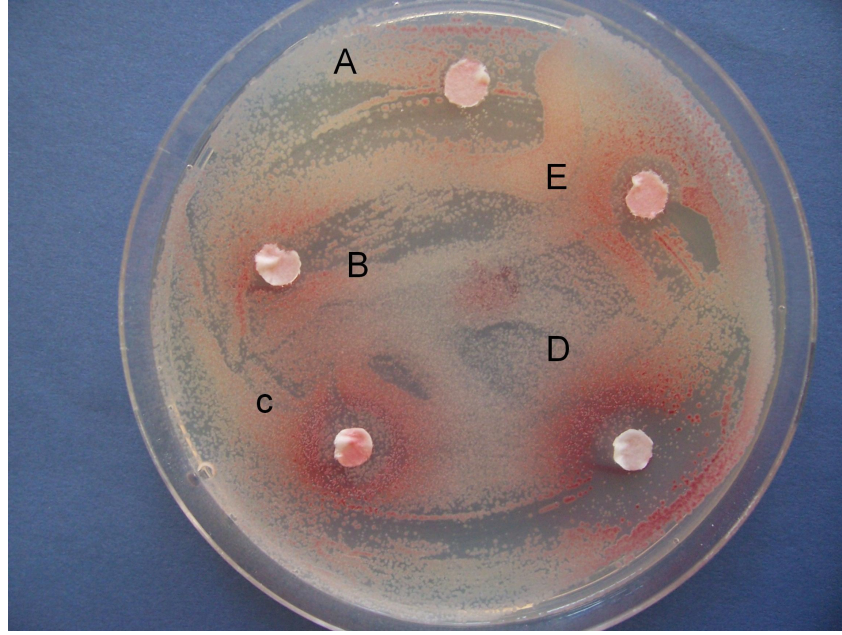
C. unicolor deney sonucunda en geniş zon çai ve en etkili türlerden biri olmuştur. Geniş bir etki yelpazesi göstermiş en fazla *S.aureus*, *Micrococcus luteus* ve *Escherichia coli*' de aktivite göstermiştir



Şekil.5.1-1. *Cerrena unicolor*' un *S.aureus*'a karşı antimikrobiyal aktivitesi.
A: Heptan, B: Dietileter, C: Kloroform, D: Diklorometan, E:Etilasetat



Şekil.5.1-2. *Cerrena unicolor* 'un *Micrococcus luteus*'a karşı antimikrobiyal aktivitesi.
A: Heptan, B: Dietileter, C: Kloroform, D: Diklorometan, E:Etilasetat



Şekil.5.1-3. *Cerrena unicolor* 'un *Escherichia coli* ' ye karşı antimikrobiyal aktivitesi
A: Heptan, B: Dietileter, C: Kloroform, D: Diklorometan, E: Etilasetat

Lenzites betulina ' dan elde edilen ekstrakt sadece *Enterococcus faecium* ' a karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği bulunmuştur. *Polyporus arcularius* ' den elde edilen ekstrakt sadece *Candida glabrata* ' ya karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği bulunmuştur. Dietileter ekstraksiyonları ile yapılan denemelerde genel itibari ile en geniş etkili olan türler *Cerrena unicolor* ve *Clavariadelphus truncatus* olduğu bulunmuştur (Tablo 4.2).

Batık kültür misellerinin kloroformla ekstraksiyonundan elde edilen ekstraktlar dan sadece *Clavariadelphus truncatus* hariç tümünde *Candida glabrata* ' ya karşı antimikrobiyal aktivite gözlemlendi. *Clavariadelphus truncatus* ' da diğer test mikroorganizmalarına karşı herhangi bir aktivite gözlenmemiştir. *Ganoderma carnosum* ' da *Bacillus subtilis* ve *Candida glabrata* ' ya aktivite gösterirken diğer test mikroorganizmalarına etki etmediği görülmüştür. *Lentinus strigosus* misel ekstraktı *Enterococcus faecium* ve *C. glabrata* ' ya karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir. *Cerrena unicolor* kloroform ekstraksiyonunda en fazla mikroorganizma çeşidine etki gösteren fungus olmuştur. *Lenzites betulina* ' da ise *C. albicans* ve *C. glabrata* ' ya etki etmiştir. *Polyporus arcularius* ' de sadece *C. glabrata* ' ya etki etmiştir (Tablo 4.2).

Batık kültür misellerinin diklorometan ekstraksiyonundan elde edilen sonuçlara göre geniş etki yelpazesine sahip olan *Ganoderma carnosum* (D-21), *Lentinus strigosus*, *Cerrena unicolor* ve *Lenzites betulina*’dır. *Cerrena unicolor* ise en aktif etkiye sahip tür olarak belirlenmiştir (Tablo 4.2).

Batık kültür misellerinin diklorometan ekstraksiyonundan elde edilen ekstraktlar dan tüm mantarlarda sonuç elde edilmiştir. *Cerrena unicolor* yine en yüksek değerlerde antimikrobiyal aktivite göstermiştir. *Clavariadelphus truncatus* hariç tüm mantar misel ekstraktları *Candida glabrata*’ya karşı etki göstermiştir. *Ganoderma carnosum* *Micrococcus luteus*’a karşı etki göstermiştir. *Lentinus strigosus*, *Enterococcus faecium*’a karşı etki göstermiştir. En etkili sonuçları *Cerrena unicolor* *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*’ye karşı göstermiştir. *Lenzites betulina* ve *Clavariadelphus truncatus*’da *Candida albicans*’a karşı antimikrobiyal etki gösterdiği bulunmuştur (Tablo 4.2).

Yapılan deneyin sonucuna göre diklorometan ekstraksiyonunda en etkili türün *Cerrena unicolor* olduğu bulunmuştur. Batık kültür misellerinin Etilasetat ekstraksiyonundan elde edilen ekstraktlar dan tüm mantarlarda sonuç elde edilmiştir. *Cerrena unicolor* yine en yüksek değerlerde antimikrobiyal aktivite göstermiştir. *Ganoderma carnosum*, *Laetiporus sulphureus*, *Coprinus comatus* ekstraktları *Candida glabrata*’ya karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir. *Ganoderma carnosum* ekstraktı *Escherichia coli* ‘ye ve *Candida glabrata* *Lentinus strigosus* *Enterococcus faecium*’a karşı etki göstermiştir. *Cerrena unicolor* *Staphylococcus aureus* *Micrococcus luteus*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*’de antimikrobiyal etki göstermiştir. *Lenzites betulina* *Candida albicans*’a karşı, *Clavariadelphus truncatus* *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*’a karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir. *Polyporus arcularius* ise mayaların ikisine birden etki göstermiştir (Tablo 4.2).

5.3. Test Mikroorganizmalarına Karşı Fungal Eksopolisakkaritlerin Antimikrobiyal Aktivitesi

En yüksek değerlerin bulunduğu *G. carnosum* (D-21) ve *G. carnosum* (M-88) *Enterococcus faecium*' a karşı etki göstermiş ayrıca *Micrococcus luteus*' a karşı pozitif kontrolde kullanılan vankomisinden daha etkili olduğu görülmüştür. *Candida albicans*, *Bacillus subtilis* ve *E. coli*' ye karşı da etki göstererek geniş spektrumlu antimikrobiyal bir etkiye sahip olduğu görülmüştür. Bunun nedeninin kültürlerin alındıkları ortamlara farklı adaptasyonlar yapmış olmalarından dolayı farklı metabolitler üretmelerinden kaynaklandığı sanılmaktadır. *G. carnosum* (D-21) EPS aktivite deneyinde *Candida albicans*' a karşı etki gösteren tek kültür olduğu görülmüştür. Ayrıca pozitif kontrol olarak kullanılan flukonazol antibiyotiginden daha etkili olduğu da deney sonucunda bulunmuştur. *Staphylococcus aureus*' a karşı aktivite gösteren tek EPS *P. arcularius*' den elde edilmiştir (Tablo 4.3).

Polyporus arcularius' de ise *S. aureus*' a karşı 11 mm'lik zon oluşturmuş. *M. luteus*' a karşı 12 mm'lik zonla aktivite göstererek pozitif kontrolle aynı etkiye sahip olduğu görülmüştür. Diğer mikroorganizmalara karşı herhangi bir etki göstermediği gözlemlenmiştir. *Lenzites betulina*' da 11 mm'lik zonla *B. subtilis*' e karşı, 12 mm'lik zonla *M. luteus*' a karşı pozitif kontrolde kullanılan vankomisin ile aynı değerleri göstermiş ve 8 mm'lik zonla *E. coli*' de düşük antimikrobiyal aktivite görülmüştür. Diğer mikroorganizmalara karşı herhangi bir etki saptanmamıştır. *Cerrena unicolor*' da *E. faecium*' a karşı 13 mm'lik zon oluşumu, *E. coli*' de ise 8 mm'lik zonla düşük antimikrobiyal aktivite gözlenmiştir. Diğer mikroorganizmalara karşı ise herhangi bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir (Tablo 4.3).

Clavariadelphus truncatus, *Laetiporus sulphureus* ve *Lentinus strigosus*' dan elde edilen eksopolisakkaritlerin deney mikroorganizmalarına karşı herhangi bir aktivite göstermedikleri tespit edilmiştir (Tablo 4.3).

Deneyde kullanılan test mikroorganizmalarından *Bacillus subtilis*' e karşı en fazla etki gösteren eksopolisakkarit *Lenzites betulina*' dan elde edilmiş ayrıca *Ganoderma carnosum*' dan elde edilen Eksopolisakkarit de *Lenzites betulina*' ya oranla daha az aktivite göstermiştir. Ancak iki deney sonucunda pozitif kontrolde kullanılan

antibiyotiklere göre daha az etki gösterdikleri saptanmıştır. Pozitif kontrole göre daha az aktivite gösteren ve *Staphylococcus aureus*' a karşı etkili olabilen EPS ise sadece *Polyporus arcularius*' den elde edilen ekstraktır. *Micrococcus luteus*' a karşı *Polyporus arcularius*, *Ganoderma carnosum* (D-21) ve *Lenzites betulina*' dan elde edilen EPS ekstraktları etki göstermiştir. *Micrococcus luteus*' a karşı en fazla antimikrobiyal etki gösteren eksopolisakkarit *Ganoderma carnosum*' dan elde edilmiş, aynı zamanda kullanılan test antibiyotiği ile de aynı değeri göstermektedir. *Enterococcus faecium*' a karşı ise *Ganoderma carnosum* (D-21) en yüksek aktiviteyi gösteren eksopolisakkaritin elde edildiği mantar olduğu bulunmuştur. Pozitif kontrole aynı etkide olduğu bulunmuştur. *Escherichia coli*' ye karşı *Lenzites betulina*, *Cerrena unicolor*, *Ganoderma carnosum*' dan elde edilen EPS' de çok az antimikrobiyal aktivite gözlenmiştir. *Proteus vulgaris*' e karşı elde edilen eksopolisakkaritlerden ve pozitif kontrolde kullanılan vankomisine karşı dirençli olduğu bulunmuştur. *Candida albicans*' a karşı *Ganoderma carnosum* (D-21)' dan elde edilen eksopolisakkaritte yüksek antimikrobiyal aktivite gözlenmiştir. Bu aynı zamanda flukonazolden de etkili olduğunu göstermektedir. *Candida glabrata*' ya karşı elde edilen eksopolisakkaritlerden herhangi bir aktiviteye rastlanmamıştır (Tablo 4.3).

Genel itibari ile EPS ekstraksiyon denemelerinde aktif tür olarak *G. Carnosum* (M-88 ve D-26), *Polyporus arcularius*, *Lenzites betulina*, *Cerrena unicolor*’ da test mikroorganizmalarına karşı etki gösterdikleri aynı zamanda deneyde kullanılan antibiyotiklere göre iyi sonuçlar verdikleri bulunmuştur (Tablo 4.3). *G. carnosum* ile yapılan deneylerin sonucunda deneyde kullanılan fungusun değişik formlarının aynı mikroorganizmalara karşı değişik sonuçlar gösterdikleri bulunmuştur. Misel formdan elde edilen ekstraktlar sadece *C. glabrata*’ ya etki ederken EPS ve fruktifikasyon ekstraktları diğer mikroorganizmalara da etkili olmuştur. En etkili sonuç *Enterococcus faecium*’ a karşı EPS deneyinde elde edilmiş ve sonuç vankomisine yakın bir değerdedir (Tablo 5.1).

Tablo 5.1. *Ganoderma carnosum*’ un Fungal Eps, Misel ve Fruktifikasyonların Sonuçlarının karşılaştırılması

M-88/Misel	A	B	C	D	E	F	G	H
HEPTAN	-	-	-	-	-	-	-	10
DIETİLETER	-	-	-	-	-	-	-	8
KLOROFORM	-	-	-	-	-	-	-	8
DİKLOROMETAN	-	-	-	-	-	-	-	7
ETİLASETAT	-	-	-	-	-	-	-	8
M-88/Fruktifikasyon								
HEPTAN	-	7	-	-	-	-	7	7
DIETİLETER	7	10	-	-	-	-	7	8
KLOROFORM	-	9	-	-	-	-	8	7
DİKLOROMETAN	-	8	-	-	-	-	7	7
ETİLASETAT	-	7	-	8	-	-	7	7
M-88/EPS	9	-	-	13	7	-	-	-
Vankomisin	20	14	12	14	11	-	DM	DM
Flukonazol	DM	DM	DM	DM	DM	DM	13	11

A: *Bacillus subtilis* **B:** *Staphylococcus aureus* **C:** *Micrococcus luteus* **D:** *Enterococcus faecium* **E:** *Escherichia coli* **F:** *Proteus vulgaris* **G:** *Candida albicans* **H:** *Candida glabrata*, **M-88:** *Ganoderma carnosum*, **DM:** Denenmedi

Yapılan denemelerde *Laetiporus sulphureus*' un misel ekstraksiyonlarında *Candida albicans*' a karşı sadece heptanda ve tüm çözücülerde *C. glabrata*' ya karşı aktivite görülmüş olmasına rağmen fruktifikasyondan elde edilen ekstraktlardan *B. subtilis* haricindeki tüm test mikroorganizmalarında aktivite belirlenmiştir. Ancak EPS denemelerinde hiçbir sonuca ulaşılamamıştır (Tablo 5.2)

Tablo 5.2. *Laetiporus sulphureus*' un Fungal Eps, Misel ve Fruktifikasyonların Sonuçlarının karşılaştırılması

M-107/Misel	A	B	C	D	E	F	G	H
HEPTAN	-	-	-	-	-	-	9	9
DİETİLETER	-	-	-	-	-	-	-	9
KLOROFORM	-	-	-	-	-	-	-	8
DİKLOROMETAN	-	-	-	-	-	-	-	7
ETİLASETAT	-	-	-	-	-	-	-	9
M-107/Fruktifikasyon								
HEPTAN	-	8	-	7	7	-	-	7
DİETİLETER	-	7	-	8	7	7	9	7
KLOROFORM	-	7	9	-	7	7	9	8
DİKLOROMETAN	-	7	-	-	7	7	7	8
ETİLASETAT	-	8	-	-	7	-	-	9
M-107/EPS	-	-	-	-	-	-	-	-
Vankomisin	20	14	12	14	11	-	DM	DM
Flukonazol	DM	DM	DM	DM	DM	DM	13	11

A: *Bacillus subtilis* **B:** *Staphylococcus aureus* **C:** *Micrococcus luteus* **D:** *Enterococcus faecium* **E:** *Escherichia coli* **F:** *Proteus vulgaris* **G:** *Candida albicans* **H:** *Candida glabrata*, **M-107:** *Laetiporus sulphureus*, **DM:** Denenmedi

Coprinus comatus' da misel ekstraksiyonlarında sadece *Candida glabrata*' ya karşı aktivite göstermiştir. Fungal fruktifikasyonda ise daha geniş bir aktivite görülmüştür. Dietileter ekstraksiyonunda elde edilen sonuçlar en yüksek değerler olmuş ve pozitif kontrolden daha yüksek değerler elde edilmiştir. *Proteus vulgaris*' e misel ve EPS de aktivite görülmezken fruktifikasyonun heptan ekstraktında çok etkili sonuca ulaşılmıştır (Tablo 5.3).

Tablo 5.3. *Coprinus comatus*' un Fungal Eps, Misel ve Fruktifikasyonların Sonuçlarının karşılaştırılması

M-118/Misel	A	B	C	D	E	F	G	H
HEPTAN	-	-	-	-	-	-	-	8
DİETİLETER	-	-	-	-	-	-	-	10
KLOROFORM	-	-	-	-	-	-	-	7
DİKLOROMETAN	-	-	-	-	-	-	-	7
ETİLASETAT	-	-	-	-	-	-	-	9
M-118/Fruktifikasyon								
HEPTAN	-	-	-	-	-	15	-	-
DİETİLETER	-	7	-	14	7	-	-	13
KLOROFORM	-	-	-	11	-	8	-	12
DİKLOROMETAN	-	-	-	-	-	-	-	11
ETİLASETAT	-	-	-	-	7	-	-	-
M-118/EPS	-	-	-	-	-	-	-	-
Vankomisin	20	14	12	14	11	-	DM	DM
Flukonazol	DM	DM	DM	DM	DM	DM	13	11

A: *Bacillus subtilis* **B:** *Staphylococcus aureus* **C:** *Micrococcus luteus* **D:** *Enterococcus faecium* **E:** *Escherichia coli* **F:** *Proteus vulgaris* **G:** *Candida albicans* **H:** *Candida glabrata*, **M-118:** *Coprinus comatus*, **DM:** Denenmedi

Lentinus strigosus' un misel formunun ekstraksiyonlarında *Enterococcus faecium*' da etkili olmuş ancak fruktifikasyon ekstraktlarında özellikle sadece heptan ekstraksiyonunda etkinin daha fazla olduğu bulunmuştur. *Proteus vulgaris* ve *Enterococcus faecium*' a karşı en başarılı sonuçlar fruktifikasyon ekstraksiyonlarında görülmüştür. (Tablo 5.4).

Tablo 5.4. *Lentinus strigosus*' un Fungal Eps, Misel ve Fruktifikasyonların Sonuçlarının karşılaştırılması

D-26/Misel	A	B	C	D	E	F	G	H
HEPTAN	-	-	-	-	-	-	-	10
DİETİLETER	-	-	-	8	-	-	-	9
KLOROFORM	-	-	-	8	-	-	-	9
DİKLOROMETAN	-	-	-	8	-	-	-	8
ETİLASETAT	-	-	-	7	-	-	-	7
D-26/Fruktifikasyon								
HEPTAN	-	-	-	14	7	9	-	-
DİETİLETER	-	-	-	11	-	-	-	7
KLOROFORM	-	-	-	-	-	8	-	12
DİKLOROMETAN	-	-	-	-	-	-	-	11
ETİLASETAT	-	-	-	-	7	-	-	-
D-26/EPS	-	-	-	-	-	-	-	-
Vankomisin	20	14	12	14	11	-	DM	DM
Flukonazol	DM	DM	DM	DM	DM	DM	13	11

A: *Bacillus subtilis* **B:** *Staphylococcus aureus* **C:** *Micrococcus luteus* **D:** *Enterococcus faecium* **E:** *Escherichia coli* **F:** *Proteus vulgaris* **G:** *Candida albicans* **H:** *Candida glabrata*, **D-26:** *Lentinus strigosus*, **DM:** Denenmedi

Cerrena unicolor' un batık kültürde üretilen misellerinden elde edilen ekstraktların fruktifikasyonlardan elde edilenlere göre daha aktif sonuçlar vermiştir. Eps ile de aktivite gösterebilirken *Micrococcus luteus*, *Enterococcus faecium*, *Candida glabrata*' ya karşı aktif bir tür olduğu anlaşılmıştır. Yapılan deneylerde kullanılan makrofungusların içinde en aktif türlerden biridir (Tablo 5.5).

Tablo 5.5 *Cerrena unicolor*' un Fungal Eps, Misel ve Fruktifikasyonların Sonuçlarının karşılaştırılması

D-30/Misel	A	B	C	D	E	F	G	H
HEPTAN	-	9	8	16	7	-	-	9
DİETİLETER	-	9	9	9	9	-	-	9
KLOROFORM	-	10	11	16	9	-	-	9
DİKLOROMETAN	-	10	11	16	9	-	-	11
ETİLASETAT	-	7	8	16	7	-	-	9
D-30/Fruktifikasyon								
HEPTAN	-	7	-	-	-	-	-	8
DİETİLETER	-	8	-	8	9	-	8	7
KLOROFORM	-	-	-	-	-	-	8	7
DİKLOROMETAN	-	8	-	-	-	-	-	8
ETİLASETAT	-	-	-	-	-	-	10	9
D-30/EPS	-	-	-	13	7	-	-	-
Vankomisin	20	14	12	14	11	-	DM	DM
Flukonazol	DM	DM	DM	DM	DM	DM	13	11

A: *Bacillus subtilis* **B:** *Staphylococcus aureus* **C:** *Micrococcus luteus* **D:** *Enterococcus faecium* **E:** *Escherichia coli* **F:** *Proteus vulgaris* **G:** *Candida albicans* **H:** *Candida glabrata*, **D-30:** *Cerrena unicolor*, **DM:** Denenmedi

Lenzites betulina'nın misel aktivitesinde pek etkili sonuçlar çıkmazken sadece kloroform ekstraksiyonunda *Candida glabrata*'ya karşı etki göstermiştir. Fruktifikasyondan elde edilen ekstraksiyonlarda daha geniş bir spektrumda etki göstermiştir. *Proteus vulgaris*'e karşı ise sadece fruktifikasyon ekstraksiyonlarında aktivite görülmüştür. Vankomisin'in *Proteus vulgaris*'e etki etmediği de deneyler sonucunda görülmüştür. EPS deneylerinde ise farklı sonuçların çıkması kültürün farklı formlarda farklı maddeler ürettiğinin ve bu üretilen maddelerin antimikrobiyal maddeler olduğu sanılmaktadır (Tablo 5.6).

Tablo 5.6 *Lenzites betulina*'nın Fungal Eps, Misel ve Fruktifikasyonların Sonuçlarının karşılaştırılması

S-2/Misel	A	B	C	D	E	F	G	H
HEPTAN	-	-	-	9	-	-	-	-
DİETİLETER	-	-	-	7	-	-	-	-
KLOROFORM	-	-	-	-	-	-	9	10
DİKLOROMETAN	-	-	-	-	-	-	9	9
ETİLASETAT	-	-	-	-	-	-	8	-
S-2/Fruktifikasyon								
HEPTAN	-	8	-	7	-	-	-	7
DİETİLETER	-	9	-	8	-	8	8	7
KLOROFORM	-	-	9	8	-	9	9	7
DİKLOROMETAN	-	7	8	7	-	8	9	7
ETİLASETAT	-	-	-	-	-	-	-	7
S-2/EPS								
Vankomisin	20	14	12	14	11	-	DM	DM
Flukonazol	DM	DM	DM	DM	DM	DM	13	11

A: *Bacillus subtilis* **B:** *Staphylococcus aureus* **C:** *Micrococcus luteus* **D:** *Enterococcus faecium* **E:** *Escherichia coli* **F:** *Proteus vulgaris* **G:** *Candida albicans* **H:** *Candida glabrata*, **S-2:** *Lenzites betulina*, **DM:** Denenmedi

Clavariadelphus truncatus ile yapılan deneylerin sonucunda eksopolisakkarit ekstraksiyonlarında sonuca rastlanmazken misel ve fruktifikasyon ekstraksiyonlarında antimikrobiyal aktivite tespit edilmiştir. Fungal fruktifikasyonların misellere göre daha geniş bir etki alanına sahip olduğu gözlenmiştir. Ancak elde edilen bulgular ışığında *Clavariadelphus truncatus*'un kullanılan test mikroorganizmalarına karşı aktif bir tür olmadığı bulunmuştur (Tablo 5.7).

Tablo 5.7. *Clavariadelphus truncatus*'un Fungal Eps, Misel ve Fruktifikasyonların Sonuçlarının karşılaştırılması

T-192/misel	A	B	C	D	E	F	G	H
HEPTAN	-	-	-	-	-	-	-	-
DİETİLETER	-	7	7	8	7	-	8	-
KLOROFORM	-	-	-	-	-	-	-	-
DİKLOROMETAN	-	-	-	-	-	-	7	-
ETİLASETAT	-	7	-	-	-	-	8	-
T-192/Fruktifikasyon								
HEPTAN	-	8	-	-	-	-	8	8
DİETİLETER	-	8	-	8	-	-	8	9
KLOROFORM	9	7	10	10	-	-	10	8
DİKLOROMETAN	-	8	-	9	-	-	10	7
ETİLASETAT	-	-	-	-	-	-	-	-
T-192/EPS								
Vankomisin	20	14	12	14	11	-	DM	DM
Flukonazol	DM	DM	DM	DM	DM	DM	13	11

A: *Bacillus subtilis* **B:** *Staphylococcus aureus* **C:** *Micrococcus luteus* **D:** *Enterococcus faecium* **E:** *Escherichia coli* **F:** *Proteus vulgaris* **G:** *Candida albicans* **H:** *Candida glabrata*, **T-192:** *Clavariadelphus truncatus*, DM: Denenmedi

Polyporus arcularius'un misel ekstraksiyonlarından elde edilen sonuçlarda antifungal etki görülmüş ancak pozitif kontrole göre daha zayıf olduğu belirlenmiştir. Fruktifikasyon ekstraksiyonu sonuçlarında ise sadece *S. aureus* da etkili olmuştur. Fruktifikasyon ve misellerde eşde edilen sonuçlar pozitif kontrole göre düşük kamıştır. Fruktifikasyon ekstraktlarından elde edilen sonuçlar diğerlerine göre farklılık göstermektedir. EPS ekstraktlarında ise *M. luteus* da pozitif kontrole yakın değerlere ulaşılmıştır (Tablo 5.8).

Tablo 5.8. *Polyporus arcularius*' un Fungal Eps, Misel ve Fruktifikasyonların Sonuçlarının karşılaştırılması

T – 438/misel	A	B	C	D	E	F	G	H
HEPTAN	-	-	-	-	-	-	-	-
DİETİLETER	-	-	-	-	-	-	-	7
KLOROFORM	-	-	-	-	-	-	-	8
DİKLOROMETAN	-	-	-	-	-	-	-	7
ETİLASETAT	-	-	-	-	-	-	8	8
T – 438/Fruktifikasyon								
HEPTAN	-	8	-	-	-	-	-	-
DİETİLETER	-	7	-	-	-	-	-	-
KLOROFORM	-	9	-	-	-	-	-	-
DİKLOROMETAN	-	8	-	-	-	-	-	-
ETİLASETAT	-	8	-	-	-	-	-	-
T – 438/EPS	-	11	12	-	-	-	-	-
Vankomisin	20	14	12	14	11	-	DM	DM
Flukonazol	DM	DM	DM	DM	DM	DM	13	11

A: *Bacillus subtilis* **B:** *Staphylococcus aureus* **C:** *Micrococcus luteus* **D:** *Enterococcus faecium* **E:** *Escherichia coli* **F:** *Proteus vulgaris* **G:** *Candida albicans* **H:** *Candida glabrata*, **T-438:** *Polyporus arcularius*, **DM:** Denenmedi

Yapılan deneylerde *Ganoderma carnosum* (D-21) fruktifikasyonu elimizde olmamasından dolayı denenememiştir. Ancak elde edilen EPS sonuçları deneyler sonucunda alınan en yüksek değerlerdir. Bakteri ve mayalara etki gösterimiş etkili bir tür olduğu sonucuna varılmıştır.

Tablo 5.9. *Ganoderma carnosum*’ un Fungal Eps, Misel ve Fruktifikasyonların Sonuçlarının karşılaştırılması

D-21/Misel	A	B	C	D	E	F	G	H
HEPTAN	7	-	-	-	-	8	9	8
DİETİLETER	-	-	-	-	-	-	-	9
KLOROFORM	8		-	-	-	-	-	8
DİKLOROMETAN	-	-	9	-	-	-	-	8
ETİLASETAT	-	-	-		8	-	-	9
D-21/Fruktifikasyon	DM	DM	DM	DM	DM	DM	DM	DM
HEPTAN	DM	DM	DM	DM	DM	DM	DM	DM
DİETİLETER	DM	DM	DM	DM	DM	DM	DM	DM
KLOROFORM	DM	DM	DM	DM	DM	DM	DM	DM
DİKLOROMETAN	DM	DM	DM	DM	DM	DM	DM	DM
ETİLASETAT	DM	DM	DM	DM	DM	DM	DM	DM
D-21/EPS	-	-	15	14	-	-	16	-
Vankomisin	20	14	12	14	11	-	DM	DM
Flukonazol	DM	DM	DM	DM	DM	DM	13	11

A: *Bacillus subtilis* **B:** *Staphylococcus aureus* **C:** *Micrococcus luteus* **D:** *Enterococcus faecium* **E:** *Escherichia coli* **F:** *Proteus vulgaris* **G:** *Candida albicans* **H:** *Candida glabrata*, **D-21:** *Ganoderma carnosum*, **DM:** Denenmedi

Yapılan deneylerin sonucunda elde edilen verilere göre aynı mantara ait Eksopolisakkaritin aynı mantara ait misel ve fruktifikasyonunun farklı etkiler gösterdikleri bulunmuştur. Bunun nedeninin mantarın farklı koşullarda farklı metabolitler üretmelerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Çalışmalarda aynı türe ait farklı lokasyonlardan alınan makrofungusların farklı etkiler gösterdikleri de deneyler sonucunda anlaşılmıştır. Deneyde alınan sonuçların bu landa yapılan çalışmalara bir

basamak ve kaynak olması amaçlanmıştır. Yapılacak deneylere MIC (Minimum Inhibition Consantration) çalışmalarının katılması ,etken maddelerin saflaştırılması ve kromotografik yöntemlerle elde edilmesi de yapılabilecek çalışmalara zenginlik katacağı düşünülmektedir. Ayrıca duplikat makrofungus sayısının arttırılması ve deneyde kullanılan mikroorganizmaların çeşitliliğinin arttırılması da deneye daha zengin sonuçlar katacağı düşünülmektedir. Alınan değerlere göre aktivite gösteren türlere ait çalışmaların genişletilerek etken antimikrobiyal maddelerin izole edilmesi için daha ayrıntılı bir araştırma yapılmalıdır.

Yurt içinde ve yurtdışında yapılan çalışmalarda makrofungusların ekstraksiyonu kullanılmış (Hirasawa et al., 1998 ; Daba et al.,2005; GÜCİN ve ark.,1997; Mau et al., 2002) veya katı/sıvı besiyerinde üretilen miseller kullanılmış (Hatvani et al., 2000) yada fungal eksopolisakkaritler kullanılarak (Wasser et al., 2002; Gao et al.,2005) antimikrobiyal aktiviteleri denenmektedir. Daha önce bu alanda yapılan çalışmaların hiçbirinde makrofungus ekstraksiyonu, misel ekstraksiyonu ve fungal EPS'ler antimikrobiyal aktivite testlerinde aynı anda denenmiştir. Yapılan çalışma alanında bir ilk olması sebebi ile diğer çalışmalara karşılaştırma olanağı nedeni ile ilerleyen yıllarda yapılacak çalışmalarda kaynak olması açısından önemli bir çalışma olduğu düşünülmektedir.

Makrofungusların uzun yıllardır insanlar tarafından besin olarak kullanılması ve doğu ülkelerinde alternatif tıpta kullanıldıkları için öneme sahiptirler (Smith, Rowan and Sullivan, 2002). Mantarlar üzerinde yapılan çalışmalara önem verilmesini ve ülkemize ait mantar türlerinin öncelikle çalışılması gerektiğinin önemini vurgulayarak yapılan çalışmanın sonuçlarının Makrofunguslar ile yapılan bu tip antimikrobiyal aktivite çalışmaları ile içerdikleri aktif maddenin yapısının aydınlatılması, mutajenik, karsinojenik ve sitotoksik aktivitesinin belirlenmesi gibi geniş amaçlı çalışmalara konu olmasını umuyoruz.

6.KAYNAKLAR

- Ariga, H., Urashima, T., Michichata, E., Ito, M., Morizono, N., Kimura, T. And Takahashi, S. , 1992 Extracellular polysaccharide from encapsulated *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* OR901 isolated from commercial yoghurt. *Journal of Food Science* 57, 625–628
- Bauer AW, Kirby WMM, 1968, Sheriss JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol* 1966; 45 : 493–6
- Benedict, R.G., Brady, L.R., 1972, Antimicrobial Activity of Mushroom Metabolites. *Jour. of Pharmaceutical Sciences* 61(11), 1820-1821
- Bubb, W.A., Urashima, T., Fujiwara, R., Shinnai, T. and Ariga, H., 1997, Structural characterization of the exocellular polysaccharide produced by *Streptococcus thermophilus* OR 901. *Carbohydrate Research* 301, 41–50
- Byung-Keun Yang, Ji-Young Ha, Sang-Chul Jeong, Young-Jae Jeon, Kyung-Soo Ra, Surajit Das, Jong-Won Yun & Chi-Hyun Song, , 2002, Hypolipidemic effect of an exo-biopolymer produced from submerged mycelial culture of *Auricularia polytricha* in rats
- Cerning, J., 1995, Production of expolysaccharides by lactic acid bacteria and dairy propionibacteria. *Lait* 75, 463–472
- Cerning, J., Bouillanne, C., Desmazeaud, M.J. and Landon, 1988, M., Exocellular polysaccharide production by *S. thermophilus*. *Biotechnology* 10, 255–260
- Conchran, K.W., 1978, Medicinal Effects, in: *The Biology and Cultivation of Edible Musrooms* (Ed. Chung, S.T. and Hayes, W.A.), Academic Press, New York

KAYNAKLAR (Devam)

- Chung KS, Kim SS, Kim HS, Kim KY, Han MW, Kim KH, 1993, Effect of Kp, an antitumor protein polysaccharide from mycelial culture of *Phellinus linteus* on the humoral immune response of tumor bearing ICR mice to sheep red blood cells. *Arch. Pharm. Res.* 16: 336–338.
- Daba , A.S. and Ezereonye, O.U., 2003, Anti-cancer effect of polysaccharides isolated from higher basidiomycetes mushrooms, *African Journal of Biotechnology*, 2, 672-678
- Daba , A.S. and Ezereonye, O.U., 2005, I.C., Antibacterial Effect of Crude Polysaccharide Extracts from Sclerotium and Fruitbody of *Pleurotus tuber-regium* Singer on Some Clinical Isolates, *International Journal of Molecular Medicine and Advance Sciences* 1 (3): 202-205
- De Vuyst, L., Vanderveken, F., Van de Ven, S. and Degeest, B., 1998, Production by and isolation of exopolysaccharides from *Streptococcus thermophilus* grown in a milk medium and evidence for their growth associated biosynthesis. *Journal of Applied Microbiology* 84, 1059–1068.
- Ding, X., Zhang, J., Jiang, P., Xu, X. And Liu, Z., 2004, Structural features and hypoglycaemic activity of on exopolysaccharide produced by *Sorangium cellulosum*, *Letters in Applied Microbiology*, 38, 223-228.
- Doco, T., Wieruszeski, J.-M., Fournet, B., Carcano, D., Ramos, P. and Loones, A., 1990, Structure of an exocellular polysaccharide produced by *Streptococcus thermophilus*. *Carbohydrate Research* 198, 313–321.

KAYNAKLAR (Devam)

GÜCİN Fahrettin, DÜLGER Basaran, Fedai SEN, 1997, *Russula delica* Fr. Makrofungusunun Antimikrobiyal Aktivitesi, Tr. J. of Biology 23 (1999), 127-133 , TÜBİTAK

Hatvani Nora, 2000, Antibacterial effect of the culture fluid of *Lentinus edodes* mycelium grown in submerged liquid culture, International Journal of Antimicrobial Agents 17 (2001) 71–74

Hirasawa Masatomo, 1998, Three kinds of antibacterial substances from *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. (Shiitake, an edible mushroom), , Naoto Shouji, Tomotake Neta, Kazuo Fukushima, Kazuko Takada International Journal of Antimicrobial Agents 11 (1999) 151–157

Hwang, H.-J., Kim, S. W., Xu, C.P., Choi, J. W and Yun, J. W., 2003, Production and molecular characteristics of four groups of exopolysaccharides from submerged culture of *Phellinus gilvus*, Journal of Applied Microbiology, 94, 708-719.

Gao Yihuai, Wenbo Tang, He Gao, Elı Chan, Jin Lan, Xiaotian Li, And Shufeng Zhou, 2005, Antimicrobial Activity of the Medicinal Mushroom *Ganoderma*, *Food Reviews International*, 21:211–229, Taylor & Francis Inc. ISSN: 8755-9129 print / 1525-6103

Ikekawa T , 2001, Beneficial effects of edible and medicinal mushrooms in health care. Int J Med Mushrooms 3:291–298

Ikekawa T., Enokitake, 1995, *Flammulina velutipes*-host-mediated antitumor polysaccharides. Food Rev Int 11:202–206

KAYNAKLAR (Devam)

- Ikekawa T, Ikeda Y, Yoshioka Y, Nakanishi K, Yokoyama E, Yamazaki E, 1982, Antitumor polysaccharides of *Flammulina velutipes* 2. The structure of EA-3 and further purification of EA-5. J Pharmacobiol Dyn 5:576–581
- Ikekawa T, Nakanishi M, Uehara N, Chihara G, Fukuoka, 1968, Antitumor action of some basidiomycetes, especially *Phellinus linteus*. Gann 59: 155–157
- Ikekawa T, Saitoh H, Feng W, Zhang H, Li L, Matsuzawa T, 1992, Antitumor activity of extracts and polysaccharides. Chem Pharm Bull (Tokyo) 40:1954–1957
- Ikekawa T, Uehara N, Maeda Y, Nakanishi M, Fukuoka F, 1969, Antitumor activity of aqueous extracts of edible mushrooms. Cancer Res 29:734–735
- Johnson, I. T., 1991, The biological effects of dietary fiber in small intestine. In Dietary Fiber: Chemical and Biological Aspects, Southgate, A. T., Waldron, K., Johnson, I. T., and Fenwick, G. R., ed. the Royal Society of Chemistry, London, pp. 151-163
- Kim, H.O., Lim, J. H., Joo, Kim, S. W., Hwang, H. J., Choi, J. W. And Yun, J. W., 2005, Optimization of submerged culture condition for the production of mycelial biomass and exopolysaccharides by *Agrocybe cylindracea*, Bioresource Teechnology, 96, 1175-1182.
- Kim, H.O. and Yun J.W., 2005, A comparative study on the production of exopolysaccharides between two entomopathogenic fungi *Cordyceps militaris* and *Cordyceps sinensis* in submerged mycelial cultures, Journal of Applied Microbiology, 99, 728–738.

KAYNAKLAR (Devam)

- Kim, S.-W., Hwang, H.-J., Xu, C.-P., Sung, J.-M., Choi, J.-W. And Yun, J.-W., 2003, Optimization of submerged culture process for the production of mycelial biomass and Exo-polysaccharides by *Cordyceps militaris* C738, Journal of Applied Microbiology, 94, 120-126
- Kim, S.-W., Hwang, H.-J., Park, J. P., Cho, Y. J., Song, C. H. And Yun, J. W., 2002, Mycelial growth and exo-biopolymer production by submerged culture of various edible mushrooms under different media, Letters in Applied Microbiology, 34, 56-61.
- Lee, B. C., Bae, J. T., Pyo, H. B., Choe, T. B., Kim, S. W., Hwang, H. J. And Yun, J. W., 2003, Biological activities of the polysaccharides produced from submerged culture of the edible Basidiomycete *Grifola frondosa*, Enzyme and Microbial Technology, 6274, 1-8
- Lemoine, J., Chirat, F., Wieruszeski, J.-M., Strecker, G., Favre, N. and Neeser, J.R. , 1997, Structural characterization of the exocellular polysaccharides produced by *Streptococcus thermophilus* SFi39 and Sfi12. Applied and Environmental Microbiology 63, 3512–3518.
- Mau Jeng-Leun, Hsiu-Ching Lin, Chin-Chu Chen, 2002, Non-volatile components of several medicinal mushrooms, Food Research International 34 (2001) 521–526
- Maziero, R., Cavazzoni, V. ve Bononi, V., 1999, Screening of Basidiomycetes for the Production of exopolysaccharide and biomass in submerged culture, Revista de Microbiologia, 30, 77-84.

KAYNAKLAR (Devam)

- Meltem,Kızılcıklı, 2004, Bazı Makrofungus İzolatlarının Farklı Besi Ortamlarında Eksopolisakkarit Üretim Potansiyeli Üzerine Çalışmalar, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.
- Michihiro Fukushima, Tetsu Ohashi, Yukiko Fujiwara, Kei Sonoyama,Masuo Nakano, 2001, Cholesterol-Lowering Effects of Maitake (*G. frondosa*) Fiber, Shiitake (*L. edodes*) Fiber, and Enokitake (*F. velutipes*) Fiber in Rats,
- Mozzi, F., Oliver, G., De Giori, G.S. and De Valdez, G.F. , 1995, Influence of temperature on the production of exopolysaccharides by thermophilic lactic acid bacteria. *Milchwissenschaft* 50, 80–82.
- Petit, C., Grill, J.P., Maazouzo, N. and Marczak, R., 1991, Regulation of polysaccharide formation by *Streptococcus thermophilus* in batch and in fed-batch cultures. *Applied Microbiology and Biotechnology* 36, 216–221.
- Rawson, H.L. and Marshall, V.M. ,1997, Effect of ‘ropy’ strains of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* on rheology of stirred yogurt. *International Journal of Food Science and Technology* 32, 213–220.
- Rau, U., 2004, Glukans secreted by fungi, *Turkish Electronic Journal of Biotechnology*, 2, 30-36.
- Ricciardi, A., Parente, E. and Clementi, F. ,1997, Produzione di esopolisaccaridi da *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* in coltura pura e in associazione, in un substrato a base di siero. *Annali di Microbiologia* 47, 213–222.

KAYNAKLAR (Devam)

- Smith, Rowan and Sullivan, 2002, Medicinal Mushrooms, Their therapeutic properties and current medical usage with special emphasis on cancer treatments. University of Strathclyde, UK.
- Song CH, Jeon YJ, Yang BK, Ra KS, Kim HI, 1998, Anticomplementary activity of endo-polymers produced from submerged mycelial culture of higher fungi with particular reference to *Lentinus edodes*. *Biotechnol. Lett.* 20: 741–744.
- Sutherland, 1994, I.W., Structure-function relationships in microbial polysaccharides, *Biotech. Adv.*, 12, 393-448
- Wasser S.P., 2002, Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides, *Appl Microbiol Biotechnol* 60:
- Van den Berg, D.J.C., Robijn, G.W., Janssen, A.C., Giuseppin, M.L.F., Ledeboer, A.M. and Verrips, C.T. (1995) Production of a novel extracellular polysaccharide by *Lactobacillus sake* 0–1. *Applied and Environmental Microbiology* 61, 2840–2844.
- Yang, B. K., Kim, D. H., and Song, C. H., 2002, Production of *Lentinus edodes* mycelia in submerged culture and its hypoglycemic effect in diabetic rats. *Kor. J. Mycology*, 30, 131-135
- Yang, B. K., Lee, H. J., Jeong, S. C., Lim, W. J., and Song, C. H., 2005, Hypoglycemic effect of *Collybia confluens* exobiopolymer produced by submerged mycelial culture on diabetic rats. *J. Microbiol. Biotechnol.*, 15, 136-140.
- Ying, I., Xiaolan, M., Yichen, Z., Huaan, W., 1987, *Icones of Medicinal Fungi from China*, Koeltz Scientific Books, Koenigstein, Western Germany.