

Kastamonu Yöresinden Toplanan Bazı Makrofungusların Antimikrobiyal Aktivitesi

Hatice BEKÇİ¹, Berrak ALTINSOY¹, Sema SARIKAYA², *Dilşad ONBAŞILI¹,
Gökçen YUVALI ÇELİK¹

¹Erciyes Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Biyoteknoloji ABD, Kayseri

²Kastamonu Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kastamonu

*Sorumlu yazar: odilsad@gmail.com

Geliş Tarihi:24.08.2011

Özet

Bu çalışmada *Morchella elata*, *Morchella conica*, *Terfezia claveryi* mantarlarının aseton özütlerinin antimikrobiyal etkilerinin gözlenmesi amaçlanmıştır. Özütler, antimikrobiyal etkileri için, bazı gram pozitif (*Bacillus cereus* ATCC 11778, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213), gram negatif bakteriler (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella enteritidis* ATCC 13076) ve maya kültürleri (*Candida glabrata* RSKK 04019, *Candida albicans* ATCC 90028) üzerine disk difüzyon metodu kullanılarak denetlenmiştir. Disk difüzyon metodu ile elde edilen sonuçlarda; en yüksek inhibisyon etkiye *E.coli* ATCC 25922 üzerine *M.conica* özütünün, en düşük inhibisyon etkiye ise *C. glabrata* RSKK 04019 üzerine *M. elata* özütünün sahip olduğu gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Morchella elata*, *Morchella conica*, *Terfezia claveryi*, antimikrobiyal aktivite, disk difüzyon metodu

Antimicrobial Activity of Some Macrofungi Collected from Kastamonu Province

Abstract

This study aims to observe the antimicrobial activity of acetone extracts of *Morchella elata*, *Morchella conica* and *Terfezia claveryi*. The extracts were examined on some gram-positive (*Bacillus cereus* ATCC 11778, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213), gram-negative bacteria (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella enteritidis* ATCC 13076) and yeast cultures (*Candida glabrata* RSKK 04019, *Candida albicans* ATCC 90028) for their antimicrobial activities by using the disc diffusion method. As a result of the study we found that *M.conica* extracts revealed highest antimicrobial activity against *E. coli* ATCC 25922 while *M. elata* extracts had minimum inhibition activity on *C. glabrata* RSKK 04019.

Keywords : *Morchella elata*, *Morchella conica*, *Terfezia claveryi*, antimicrobial activity, disc diffusion method

Giriş

Hızla artan dünya nüfusu için makrofunguslar önemli bir besin kaynağı olmuştur. Nitekim Avrupa, Amerika ve Uzak Doğu ülkelerinde kültür mantarcılığı bir endüstri dalı haline almıştır (Dülger ve ark., 1999). Besleyici değerlerine ek olarak pek çok yenilebilir mantar türünün uzun zamandan beri dünyanın birçok ülkesinde tıbbi amaçlarla da kullanıldığı belirtilmektedir (Demirhan ve ark., 2007). Hatta mantar zehirlenmesi gibi olayların neden olduğu korku, yine de onların besin hatta afrodisyak, keyif verici ve kan dindirici ilaçlar olarak kullanılmalarını önleyememiş

(Dülger ve ark., 1999) ve kültür koşullarında mantar üretme olanaklarının gelişmesi ile birlikte mantarların çeşitli hastalıklara karşı kullanımının da yaygınlaştığı gözlenmiştir (Demirhan ve ark., 2007). Yapılan birçok çalışma mantarların immünolojik ve anti kanser özelliklerinin yanı sıra içerdikleri bazı metabolitlerin hatta toksik maddelerin bile antagonistik, stimulant, antioksidan, antihipertensif, kolesterol düşürücü, karaciğer koruyucu, antifibrotik, antiinflamasyon, antidiyabetik, antiviral ve antimikrobiyal etkilerinin olduğunu göstermektedir (Dülger ve ark., 1999; Demirhan ve ark., 2007).

Günümüzde bilinen yaklaşık 10000 makrofungus türü içinde tıbbi etkileri olabilecek türlerin oranı sadece % 5'tir. Kullanılan antibiyotiklerin pek çoğu mikrofunguslardan ve aktinomisetlerden izole edilerek hazırlanmaktadır (Kalyoncu ve ark., 2010). Makrofungusların antimikrobiyal etkileri; fungal yapıda sentezlenen ve çoğunlukla organizmaya özgü bazı fenolik bileşikler, pürinler, primidinler, kinonlar, terpenoidler ve fenil propanoid türevi gibi antagonistik maddelerden kaynaklanmaktadır (Benedict ve Brady, 1972; Alsheik ve Trappe, 1983).

Ülkemizde makrofungusların tespitine yönelik çalışmaların yanısıra onların farmakolojik, endüstriyel ve tıbbi özelliklerinin de ortaya çıkarılması gerekmektedir. Ayrıca yaygın olarak kullanılan antibiyotiklere, bakteri ve mantarların sürekli olarak direnç kazandığı göz önüne alınırsa, yeni antibiyotik maddelerin araştırılması ve keşfinin önemi de açıkça ortaya çıkmaktadır (Erdogru, 2002). Bu çalışmada; Kastamonu yöresinden toplanan *M. conica*, *M. elata* ve *T. claveryi*'nin ekstraktlarının bazı patojen test bakterilerine karşı antimikrobiyal aktivitelerinin ortaya çıkarılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Çalışmamızda kullanılan *M. conica*, *M. elata*, *T. claveryi*, Kastamonu yöresinden toplanmıştır ve teşhisi Muğla Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Hakan ALLI tarafından yapılmıştır.

Test Mikroorganizmaları

Çalışmada kullanılan mikroorganizma kültürleri Erciyes Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Biyoteknoloji Anabilim Dalı kültür koleksiyonundan temin edilmiştir.

Araştırmada, *B. cereus* ATCC 11778, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. enteritidis* ATCC 13076, *E. coli* ATCC 35218, *S.aereus* ATCC 29213 bakteri, *C. glabrata* RSKK 04019 ve *C. albicans* ATCC 90028 maya kültürleri kullanılmıştır.

Ekstraksiyon

Kastamonu yöresinden *M. elata*, *M. conica*, *Terfizia claveryi* oda sıcaklığında kurutulduktan sonra, aseptik şartlarda havanda dövülüp toz haline getirilmiştir. Toz haline getirilen örnekler 1g tartılarak üzerlerine 10 ml çözücü (aseton) ilave edilmiştir. 30 dakikada bir vortekslenerek homojenize olması sağlanan örnekler 2 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir (Basil ve ark., 1998a). Bekletilen örnekler 4000 rpm de 5 dakika santrifüj edilerek süpernatant kısımları alınmıştır. Alınan süpernatantlar 45 °C'de bekletilerek çözücü uçurulmuştur (Basil ve ark., 1998b).

Çözücü uçtuktan sonra geriye kalan tortuya dimetilsülfoksit (DMSO) eklenmiştir. DMSO / tortu oranı her 1 g tortu için 10 ml DMSO şeklinde ayarlanmıştır. Hazırlanan özütlerin sterilizasyonu 0,45µm'lik tek kullanımlık mikrofiltre ile gerçekleştirilmiştir.

Özüt içeren Disklerin ve Mikroorganizma Kültürlerinin Hazırlanması

Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesinde Disk Difüzyon yöntemi uygulanmıştır. Hazırlanan özütler mikropipet ile 6 mm çapındaki steril disklerle 20 µl hacimlerde emdirilmiştir. Bakteriler için Mueller Hinton Agar (MERCK), mayalar için Malt Extract Agar (DIFCO) besi ortamları kullanılmıştır.

Denemede kullanılacak olan bakteri kültürlerini tazelemek için Nutrient Broth (MERCK), maya kültürleri için Malt Extract Broth (DIFCO) kullanılmıştır. Stok kültürlerden alınan bakteri suşları ayrı ayrı 4-5 ml buyyonda süspanse edilerek, 2-5 saat, 37°C' lik etüvde inkübasyona tabi tutulmuşlardır. Bu süre sonunda bakteri süspanسیونu MacFarland 0.5 yoğunluğuna steril serum fizyolojik ile hazırlandıktan sonra ekim yapılmıştır. Bakteri süspanسیونuna steril eküvyon daldırılarak karıştırılmıştır. Bu eküvyonla plağa yaygın inokulasyon yapılmıştır. Mueller Hinton Agar ve Malt Extract Agara bakteri ve maya suşlarından 24 saatlik buyyondaki kültürü %1 oranında aşılana iyice çalkalandıktan sonra steril petri kutularına steril pipetlerle 15'er ml dağıtılmış ve besiyerinin homojen

şekilde petri kutusu içinde dağılması sağlanmıştır. Tüm petri plakları bundan sonra 5-15 dakika süre ile oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Süre sonunda petrielerin içlerine aseptik koşullarda farklı özütler emdirilmiş diskler yerleştirilmiştir. Bakterilerin inokule edildiği plaklar 37°C'de 48 saat, mayaların inokule edildiği plaklar ise 30°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmışlardır. Süre sonunda disklerin çevresinde oluşan inhibisyon zonlarının çapları ölçülmüştür (Collins ve Lyne, 1987; Dülger ve ark., 1999).

Tüm test mikroorganizmalarına karşı yapılan antimikrobiyal aktivite deneyleri iki paralel çalışılmıştır.

Bulgular

Bu çalışmada *M. conica*, *M. elata* ve *T. claveryi*'nin antimikrobiyal aktivitelerini belirlemek amacıyla yaptığımız çalışmanın bulguları Tablo 1'de verilmiştir. Bulgularımıza göre; türlerin antimikrobiyal aktivitesinin, bitki türlerine ve çalışılan test mikroorganizmalarına göre değişiklik gösterdiği ve *M. conica*, *M. elata* ve *T. claveryi*'den hazırlanan ekstraların genellikle çalışmada kullanılan gram negatif bakteriler üzerine yüksek inhibisyon etki gösterdiği, fakat mayalar üzerine daha düşük inhibisyon etki gösterdiği bulunmuştur.

M. conica mantarı en yüksek inhibisyon etkiyi *E. coli* ATCC 25922 (20 mm) üzerinde gösterirken, en düşük inhibisyon etkiyi *S. enteritidis* (10 mm) ve *S. aureus* (10 mm) üzerinde göstermiştir. *B. cereus*, *C. glabrata* ve *C. albicans* test mikroorganizmalarında inhibisyon etki gözlenmemiştir.

M. elata mantarı *C. glabrata* (8 mm) üzerinde en düşük inhibisyon etkiyi, *E. coli* ATCC 25922 (15 mm) üzerinde ise en yüksek inhibisyon etkiyi gösterirken, *B. cereus*, *P. aeruginosa*, *S. enteritidis*, *E. coli* ATCC 35218, *S. aureus*, *C. albicans* test mikroorganizmaları üzerinde ise orta düzeyde inhibitör etki göstermiştir.

T. claveryi mantar özütünün tüm test bakterileri üzerinde 14-9 mm zon çapları arasında antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir.

Tablo 1. Mantarların test bakterilerine karşı inhibisyon zon çapları (mm)

EKSTRAKTLAR			
SUŞLAR	<i>M. elata</i>	<i>M. conica</i>	<i>T. claveryi</i>
<i>B. cereus</i> ATCC 11778	12±1	-	11±1
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	10±0	10±0.5	10±1
<i>E. coli</i> ATCC 25922	15±5	20±6	12±0.5
<i>E. coli</i> ATCC 35218	12±0	11±2	14±0
<i>S. enteritidis</i> ATCC 13076	10±1	10±0.5	11±1
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	10±0.5	11±1.5	9±0
<i>C. glabrata</i> RSKK 04019	8±0.5	-	10±0.5
<i>C. albicans</i> ATCC 90028	9±0.5	-	10±0.5

-: İnhibisyon gözlenmedi.

Tartışma ve Sonuç

Makrofungusların antimikrobiyal aktivitelerini saptamak amacıyla yapılan çalışmalarda değişik çözümlerde hazırlanan ekstraların değişik test mikroorganizmalarına karşı farklı tipte antagonistik etki oluşturdukları bildirilmektedir (Gunde-Cimerman, 1999; Ooi ve Liu, 2000). Antimikrobiyal aktivite çalışmalarında çok çeşitli test yöntemlerinin ve test mikroorganizmalarının kullanılmakta olduğu, bu yöntemler arasında ise en uygun ve güvenilir olanının Disk Difüzyon Metodu olduğu bildirilmektedir (Benedict ve Brady, 1972; Alsheik ve Trappe, 1983). Çalışmada *M. conica*, *M. elata* ve *T. claveryi*'nin aseton ekstralarının çeşitli test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal etkileri disk difüzyon test yöntemine göre araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre; *M. conica* mantarının aseton ekstresi en yüksek inhibisyon etkiyi *E. coli* (20 mm) üzerinde gösterirken, en düşük inhibisyon etkiyi *M. elata* mantarının aseton ekstresi *C. glabrata* (8 mm) üzerinde

göstermiştir. *M. conica*'nın aseton ekstresi, *B. cereus*, *C. glabrata* ve *C. albicans* test mikroorganizmaları üzerinde herhangi bir inhibitör etkisi göstermemiştir. *M. elata* ve *T. claveryi*'nin aseton ekstraktlarının ise tüm test bakterileri ve mayaları üzerinde inhibisyon etkisi gösterdiği saptanmıştır.

Türkoğlu ve ark. (2006)'larının yapmış oldukları çalışmada *M. conica*'nın *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* suşlarında antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu ancak *C. albicans* üzerinde antifungal aktivite göstermediği bildirilmiştir.

Bir başka çalışmada *Terfezia*'nın metanolik ekstraktının *S. aureus* üzerinde 19 mm'lik zon çapı ile inhibitör etkisi gösterdiği rapor edilmiştir (Saleh, 2006).

Çalışma sonuçları daha önce farklı çözücüler kullanılarak elde edilen zon çapları ile mantar özütlerinin benzer mikroorganizmalara karşı etkili olduklarını bildiren bulgularla uyum içindedir.

Yapılan bu çalışma ile besin ve ekonomik açıdan bir değere sahip bu makrofungusların antimikrobiyal özellikleri bakımından taranması ve tanımlanması sayesinde, tıp, eczacılık ve diğer endüstrilerde kullanım alanlarının araştırılarak onlardan gerektiği kadar yararlanmamızı mümkün kılacaktır.

Kaynaklar

Alsheik AM., Trappe JM. 1983. Desert Truffles: The Genus *Tirmania*. Transactions of the British Mycological Society, 81: 83-90.

Basil A., Giordano S., Sorbo S., Vuotto ML., Ielpo MTL., Cobianchi RC. 1998a. Antibiotic Effects Of *Lunularia Cruciata* (Bryophyta) Extract, Pharmaceutical Biology, 36 (1): 25-28.

Basil A., Giordano S., Vuotto ML, Ielpo MTL., Moscatiello V., Ricciardi L., Giordano,S., Cobianchi Castaldo R. 1998b. Antibacterial Activity İn *Rhynchostegium Riparioides* (Hedw.) Card Extract (Bryophyta). Phytotherapy Research, 12: 146-148.

Benedict RG., Brady LR. 1972. Antimicrobial Activity of Mushroom Metabolites, Journal of Pharmaceutical Sciences, 61 (11): 1820- 1821.

Collins, CM., Lyne, PM. 1987. Microbiological Methods. Butterworth & Co. (Publishers) Ltd., London.

Demirhan A., Yeşil ÖF., Yıldız A., Gül K. 2007. Bazı Makrofungus Türlerinin Antimikrobiyal Aktiviteleri Üzerine Bir

Araştırma. Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi 19(4): 425-433.

Dülger B., Şen F., Gücin F. 1999. *Russula delica* Fr. Makrofungusunun Antimikrobiyal Aktivitesi. Turkish Journal Of Biology 23: 127-133.

Erdogru ÖT. 2002. Antibacterial Activities of Some Plant Extracts Used in Folk Medicine. Pharmaceutical Biology, 40:4, 269-273.

Gunde-Cimerman N. 1999. Medicinal Value of the Genus *Pleurotus* (Fr.) P. Karst. (Agicales S.I., Basidiomycetes). International Journal of Medicinal Mushroom, 1: 69-80.

Kalyoncu F., Oskay M., Kalmış E. 2010. Bazı Yabani Makrofungus Misellerinin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi. The Journal of Fungus, 1(1): 1-8.

Ooi VEC., Liu F. 2000. Immunomodulation and Anticancer Activity of Polysaccharide-Protein Complexes. Current Medicinal Chemistry, 7: 715-728.

Saleh AA. 2006. Antimicrobial and Antioxidant Activity of Two Desert Truffles, *Tirmania* and *Terfezia*, Department of Food Science and Agricultural Chemistry Macdonald Campus Of McGill Universty, Montreal, Quebec, 20-25, Canada.

Türkoğlu A., Kıvrak I., Mercan N., Duru M., Gezer K., Türkoğlu H. 2006. Antioxidant and Antimicrobial activities of *Morchella conica* Pers. African Journal of Biotechnology, 5 (11): 1146-1150.