DOI: https://doi.org/10.30546/19023.978-9952-8589-3-8.2025.0016.
ISBN: 978-9952-8589-3-8

DNA BARKODLAMA YÖNTEMİYLE TANIMLANAN *MEOTTOMYCES DISSIMULANS* (BERK. & BROOME) VİZZİNİ VE *PARASOLA CONOPILEA* (FR.) ÖRSTADİUS & E. LARSS. MAKROMANTARLARINDAN ELDE EDİLEN METANOLİK EKSTRAKLARIN ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİKLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Aybüke BERK[1*], Arş. Gör. Dr. Mithat GÜLLÜ[1], Prof. Dr. Mehmet Gökhan HALICI[1]

[1]Erciyes Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kayseri, TÜRKİYE
ORCID Kodu:
0009-0004-2895-6052 (Aybüke BERK)
0000-0001-7100-9609 (Mithat GÜLLÜ)
0000-0001-2345-6789 (Mehmet Gökhan HALICI)

Özet

Bu çalışma, Orta Anadolu'da yer alan Koramaz Vadisi'ne özgü mikroklimalardan toplanan iki makromantar türünün (*Meottomyces dissimulans* (Berk.) Vizzini ve *Parasola conopilea* (Fr.) Orstadius & E. Larss.) metanolik ekstrelerinin antibakteriyel özelliklerini araştırmayı amaçlamıştır. Bölgenin kendine has ekolojik yapısı, zengin makromantar çeşitliliğine olanak sağlamakta ve yeni biyoaktif bileşiklerin keşfi açısından potansiyel sunmaktadır. Çalışmada, mantar örneklerinin doğru şekilde tanımlanması için DNA barkodlama yöntemleri kullanılmıştır. Metanolik mantar ekstrelerinin antibakteriyel etkileri, klinik öneme sahip üç bakteri türü üzerinde sistematik olarak test edilmiştir: *Escherichia coli* (Gram-negatif), *Micrococcus luteus* (Gram-pozitif) ve *Proteus vulgaris* (Gram-negatif). Antibakteriyel aktivite, agarda oluşan inhibisyon zonlarının çapının ölçülmesi ve her bir bakteri türü için minimum inhibitör konsantrasyonun (MİK) belirlenmesiyle değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar, her iki mantar ekstraktının da dikkate değer antibakteriyel etkilere sahip olduğunu ortaya koymuştur; ancak bu etkinlik, test edilen bakteri türlerine göre değişiklik göstermiştir. *E. coli* üzerinde, *Parasola conopilea* ekstresi 17 mm'lik bir inhibisyon zonu oluştururken, *Meottomyces dissimulans* ekstresi 9 mm'lik bir zon meydana getirmiştir. *P. vulgaris*'te ise *M. dissimulans* ekstresi daha yüksek bir etki göstermiş (17 mm), *P. conopilea* ise 13 mm'lik bir zon oluşturmuştur. *M. luteus*'a karşı her iki ekstre de benzer düzeyde antibakteriyel aktivite göstermiştir (14 mm ve 15 mm). MİK analizleri de bu bulguları desteklemiş; *M. dissimulans* tüm bakterilere karşı 12,5 ppm'de etkili olurken, *P. conopilea* genellikle 25 ppm'de etkili olmuş, ancak *E. coli* için 12,5 ppm yeterli olmuştur. Sonuç olarak, söz konusu makromantarların metanolik ekstreleri güçlü antibakteriyel aktivite göstermiş ve yeni antimikrobiyal ajan kaynakları olma potansiyellerini ortaya koymuştur. Bu bulgular,

DOI: https://doi.org/10.30546/19023.978-9952-8589-3-8.2025.0016.
ISBN: 978-9952-8589-3-8

Koramaz Vadisi'nin mantar biyolojik çeşitliliği hakkında yeni bilgiler sunmakta ve bölgenin gelecekte farmasötik ve biyoteknolojik uygulamalar için değerli bir kaynak olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Koramaz Vadisi, makromantarlar, DNA barkodlama, antimikrobiyal aktivite, genotoksisite, pBR322 plazmid DNA.

EVALUATION OF THE ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF METHANOLIC EXTRACTS OBTAINED FROM THE MACROFUNGI *MEOTTOMYCES DISSIMULANS* (BERK. & BROOME) VIZZINI AND *PARASOLA CONOPILEA* (FR.) ORSTADIUS & E. LARSS. IDENTIFIED BY DNA BARCODING METHOD

Abstract

This study explores the antibacterial properties of methanolic extracts derived from two macrofungal species, *Meottomyces dissimulans* (Berk.) Vizzini and *Parasola conopilea* (Fr.) Orstadius & E. Larss., both collected from microclimates endemic to the Koramaz Valley in Central Anatolia. The region's unique ecological features have fostered a diverse macrofungal flora, making it a promising area for bioprospecting novel bioactive compounds. In this research, the fungal specimens were accurately identified using DNA barcoding methods to ensure reliable species-level identification. The methanolic extracts were systematically evaluated for antibacterial activity against three clinically relevant bacterial strains: *Escherichia coli* (Gram-negative), *Micrococcus luteus* (Gram-positive), and *Proteus vulgaris* (Gram-negative). The assessment included measuring the diameter of inhibition zones on agar plates and determining the minimum inhibitory concentrations (MIC) for each extract against the tested bacteria. The results demonstrated that both fungal extracts exhibited noteworthy antibacterial effects, although their efficacy varied depending on the bacterial strain. For *E. coli*, the extract of *Parasola conopilea* produced a 17 mm inhibition zone, while *Meottomyces dissimulans* resulted in a 9 mm zone. In the case of *P. vulgaris*, *M. dissimulans* was more potent, yielding a 17 mm inhibition zone compared to 13 mm for *P. conopilea*. Against *M. luteus*, both extracts showed similar levels of activity, with inhibition zones of 14 mm for *M. dissimulans* and 15 mm for *P. conopilea*. MIC analyses supported these findings, indicating that *M. dissimulans* was effective at a lower concentration (12.5 ppm) across all strains, whereas *P. conopilea* generally required 25 ppm, except for *E. coli*, which was inhibited at 12.5 ppm. In conclusion, the methanolic extracts from these two macrofungi demonstrated significant antibacterial activity, underscoring their potential as sources of novel antimicrobial agents. These findings contribute valuable insights to the understanding of Koramaz Valley's fungal biodiversity and highlight the region as a promising resource for future pharmaceutical and biotechnological applications.

Keywords: Koramaz Valley, macrofungi, DNA barcoding, antimicrobial activity, genotoxicity, pBR322 plasmid DNA.

GİRİŞ

DOI: https://doi.org/10.30546/19023.978-9952-8589-3-8.2025.0016.
ISBN: 978-9952-8589-3-8

Mantarlar, doğada çürükçül (saprotrof), simbiyotik ve parazitik yaşam biçimleri sergileyen ökaryotik mikroorganizmalardır. Bugüne kadar yaklaşık 150.000 mantar türü tanımlanmış olmasına rağmen, toplam tür sayısının 2,2 ila 3,8 milyon arasında olduğu tahmin edilmektedir (Hawksworth & Lücking, 2017). Bu organizmalar, özellikle makroskobik yapıya sahip olan ve spor taşıyan yapıları çıplak gözle gözlemlenebilen makromantarlar olarak sınıflandırıldıklarında, yalnızca ekosistem döngülerinde değil, aynı zamanda tıbbi ve endüstriyel alanlarda da önemli potansiyel sunmaktadır (Lindequist vd., 2005).

Makromantarlar; içeriklerinde bulunan fenolik bileşikler, terpenoidler, polisakkaritler, alkaloidler ve steroller gibi ikincil metabolitler sayesinde geniş bir biyolojik etki yelpazesi gösterirler. Bu bileşiklerin özellikle antimikrobiyal, antioksidan, antikanser ve immünmodülatör etkiler taşıdığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (Ríos & Recio, 2005; Wasser, 2010). Antibiyotiklere karşı gelişen direnç mekanizmalarının küresel düzeyde artması, yeni antimikrobiyal kaynakların keşfini zorunlu kılmakta ve bu bağlamda doğal ürünlerin önemi giderek artmaktadır (Newman & Cragg, 2020). Mantarlar bu alanda sürdürülebilir ve biyolojik olarak aktif bileşiklerin üretiminde önemli kaynaklardandır.

Bu çalışmada incelenen *Meottomyces dissimulans* ve *Parasola conopilea* türleri, Türkiye'nin Kayseri ilinde yer alan Koramaz Vadisi'nden toplanmıştır. Biyolojik çeşitliliği ile dikkat çeken bu vadi, nemli mikrohabitatları, çürümüş yaprak örtüsü, ölü odun ve humusça zengin toprak yapısıyla makromantar çeşitliliğini destekleyen önemli bir ekolojik alan oluşturmaktadır.

Meottomyces dissimulans, saprotrofik yaşam tarzına sahip, ölü yaprak döküntüsü ve çürüyen odunsu materyaller üzerinde gelişen küçük şapkalı bir agarik mantardır. Önceleri *Lyophyllum* cinsi ile ilişkilendirilmiş, ancak moleküler filogenetik analizler sonucunda Vizzini (2014) tarafından *Meottomyces* adıyla yeni bir cins altında tanımlanmıştır. Şapkası ince, hijrofan ve kahverengimsi tonlarda olup, beyaz lameller ve düzgün cidarlı eliptik sporlarla karakterizedir. Avrupa'da nemli ormanlık alanlarda daha yaygın olup, Türkiye'de nadir kaydedilen türlerdendir.

Parasola conopilea ise, Coprinaceae ailesine ait olup halk arasında "mürekkep mantarları" olarak bilinen gruba dâhildir. Önceden *Coprinus* cinsinde yer alırken, mikroskobik ve moleküler karakteristikler dikkate alınarak *Parasola* cinsine aktarılmıştır. Konik ve koyu renkli şapkası, olgunlukla birlikte yarı saydamlaşır; lamelleri siyaha döner ancak mürekkep benzeri otoliz göstermez. Sapı beyaz ve içi boştur. Genellikle açık çayırlık alanlarda, yol kenarlarında ve humusça zengin topraklarda görülür (Larsson & Örstadius, 2008). Türkiye'de kayıtları az olmakla birlikte, Avrupa ve Asya'da yaygın dağılım göstermektedir.

Ancak mantarların tür düzeyinde teşhisi, morfolojik benzerlikler ve çevresel faktörlerin etkisi nedeniyle yalnızca klasik yöntemlerle sınırlı kalabilmektedir. Bu nedenle, doğru ve güvenilir tür tayini için DNA barkodlama yöntemi yaygın şekilde tercih edilmektedir. Mantarlar için ITS (internal transcribed spacer) bölgesi, evrensel barkod dizisi olarak kabul edilmekte ve tür ayrımında yüksek doğruluk sağlamaktadır (Schoch vd., 2012).

DOI: https://doi.org/10.30546/19023.978-9952-8589-3-8.2025.0016.
ISBN: 978-9952-8589-3-8

Bu çalışmada, DNA barkodlama yöntemiyle teşhis edilen *Meottomyces dissimulans* (Berk. & Broome) Vizzini ve *Parasola conopilea* (Fr.) Örstadius & E. Larss. türlerine ait metanolik ekstraktların antimikrobiyal etkileri değerlendirilmiştir. Bu iki tür, literatürde sınırlı farmakolojik veri bulunan ve biyoaktif potansiyeli henüz yeterince araştırılmamış makromantarlar arasında yer almaktadır. Ekstraktların, seçilen Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere ile maya suşlarına karşı gösterdiği antimikrobiyal aktiviteler, agar difüzyon yöntemi kullanılarak test edilmiştir. Araştırmanın amacı, bu türlerin mikrobiyal büyümeyi baskılayıcı potansiyelini ortaya koymak ve doğal antimikrobiyal ajanlara yönelik literatüre katkı sunmaktır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Makromantar örneğini toplanması

Bu çalışmada kullanılan makromantarlar *Meottomyces dissimulans* (Berk. & Broome) Vizzini ve *Parasola conopilea* (Fr.) Örstadius & E. Larss. türleri 2024 yılı Ekim ayından Koramaz Vadisi'nden toplanmıştır. Toplanan makromantar örnekleri Erciyes Üniversitesi Liken Herbaryumu'nda kurutulmuştur. Kurutulan makromantar örnekleri daha sonra antimikrobiyal analizler için çeşitli yöntemler kullanılarak mantar özütü elde edilmiştir.

Kullanılan Mikroorganizma Örnekleri

Çalışmada iki farklı makromantar türlerinden elde edilen özütlerin antimikrobiyal aktivitelerini belirlemek amacıyla 3 bakteri (2 G- ve 1G+) kültürü kullanılmıştır. Kullanılan mikroorganizmaların isimleri ve kültür koleksiyon kodları Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Çalışmada kullanılan mikroorganizma örnekleri

Mikroorganizma	**Organizma Kodu**
Escherichia coli	ATCC 25922
Micrococcus luteus	ATCC 10240
Proteus vulgaris	ATCC 13315

Escherichia coli: *Escherichia coli*, ortalama 2-6 µm boyunda, 1-1,5 µm eninde Gram negatif bir basil peritriş kirpikleri sayesinde hareketlidir. Hareketsiz suşları da vardır. Bazı suşlarda kapsül veya mikrokapsül bulunmaktadır. Spor oluşturmazlar ve fakültatif anaerobturlar (Ocak, 2014).

Micrococcus luteus: Gram pozitif, hareketsiz, saprofitik bir bakteridir. Üreaz ve katalaz pozitiftir. Kum, toprak, su, hava ve memeli derisinin normal florasında yer alır. Ayrıca insan ağız, mukoza, orofarinks ve üst solunum yollarında da doğal olarak bulunur (Wikipedia, 2025).

DOI: https://doi.org/10.30546/19023.978-9952-8589-3-8.2025.0016.
ISBN: 978-9952-8589-3-8

Proteus vulgaris, Gram-negatif, çubuk şeklinde (basillus) bir bakteridir ve genellikle 1–3 µm uzunluğunda, 0.5–1 µm genişliğindedir. Peritriş flagellaları sayesinde oldukça hareketlidir ve karakteristik sürücü (swarming) hareketiyle tanınır. P. vulgaris, fakültatif anaerob bir organizmadır ve laktozu fermente etmez. Bu bakteri genellikle idrar yolu enfeksiyonları ve nozokomiyal (hastane kökenli) enfeksiyonlarla ilişkilidir (Wikipedia, 2025).

Makromantar örneğinden mantar özütünün hazırlanması ve Antimikrobiyal Aktivite Çalışmaları

1.00 g kurutulmuş makromantar numunesi alındı ve özüt, metanol kullanılarak toplandı. Whatman No 1 filtre kağıdı kullanılarak mantar özütü süzüldü. Süzülme işlemi bittikten sonra özüt cam petri kabı içerisine döküldü ve daha sonra 70 ^{o}C de 1 gün etüvde bekletilerek metanol uzaklaştırıldı. Metanol uzaklaştıktan sonra kalan mantar özütü DMF içerisinde çözdürüldü ve antimikrobiyal aktivite denemeleri agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile 4 tane mikroorganizma üzerinde analiz edildi (Kuşçulu ve Aslan, 2019).

Stok kültürlerden, bakteriler nutrient sıvı besiyerinde 35 ^{o}C' de 24 saat, maya suşları Saboruod Dekstroz sıvı besiyerinde 30 ^{o}C' de 48 saat inkübasyona bırakılarak yetiştirilmiştir.

Sıvı ortamlarda geliştirlen her mikroorganizma kültüründen tekrar sıvı ortamları içeren tüplere %1 oranında aşılanarak 18 saat ekponansiyel faza gelene kadar yetiştirilmiş ve kültürlerin yoğunlukları Mc Farland 0,5'e göre ayarlanmıştır.

Yoğunlukları ayarlanan mikroorganizmalardan 100 µl alınarak Muller hinton agar besi ortamına yayma ekim ile ekilmiş ve sonrasında 6 mm çapında kuyucuklar açılmıştır. Açılan kuyucuklar içerisine mantar özütünden 50 µl ilave edilip inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra inhibisyon zonlarının çapı ölçülerek etkileri belirlenmiştir. Denemeler üç tekrarlı olarak yapılmıştır.

Agar kuyucuk yönteminde mikroorganizmalara karşı etkili olduğu tespit edilen bakterilere karşı en düşük inhibe edici konsantrasyonları (MİK) 96 kuyucuklu mikrotitrasyon petrileri kullanılarak mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir. Mikrotitrasyon petrilerinin ilk kuyucuklarına 90 µl sıvı besiyeri ve 100 µl stok mantar özütü pipetlenip karıştırıldıktan sonra 100 µl alınarak bir sonraki kuyucuğa pipetlenip bu seyreltmelere son kuyucuğa kadar devam edilerek her kuyucuktaki konsantrasyon bir öncekinin yarısı olacak şekilde ayarlanmıştır (100, 50, 25, 12,5, 6.25, 3.12, 1.56, 0.78, 0.39, 0.19, 0.09, 0.045 ppm) ve son olarak da her kuyucuğa 100 µl organizma ilave edilerek bakteriler için 35ºC'de 24 saat, mayalar için 30 ºC'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda test bileşiklerinin MIK değerleri petrilerdeki kuyucuklara 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) eklenmiştir. 37ºC' de 1 saatlik inkübasyonu sonucu meydana gelen renklenmeye bakılarak tespit edilmiştir. Üremenin gözlemlendiği en küçük numaralı kuyucuğun temsil ettiği konsantrasyon MİK olarak saptanmıştır. Deneyler üç paralel olarak tekrarlanmıştır.

DOI: https://doi.org/10.30546/19023.978-9952-8589-3-8.2025.0016.
ISBN: 978-9952-8589-3-8

Makromantar örneğinin izolasyonu

DNA izolasyonu için, Aras ve Cansaran (2006) tarafından belirlenmiş mini prep yöntemi gerçekleştirilmiştir. Bu yöntemin safhaları şöyledir;

1. Örnekten alınan yaklaşık 0.5 g örnek sıvı azot içerisinde ezilir. 1,5 ml' lik ependorf tüplerine konulur.

2. Örneklere 1 ml DNA ekstraksiyon tamponu {50mM Tris (pH 8.0), 50mM EDTA (pH 8), 10ml LiCl (4M), 1g CTAB, % 2 PVPP)}ve 10 µl merkaptoetanol eklenir.

3. 65°C olan su banyosunda arada karışması sağlanarak 15 dk. bekletilir. Sonra da oda sıcaklığına alınarak soğuması beklenir.

4. 0.5ml Kloroform/ iso-amilalkol (24:1v/v) eklenir ve çok iyi karıştırılır.

5. Örnekler 14000rpm' de 2dk santrifüj işlemi yapılır.

6. Süpernatan (yaklaşık 0.8ml) yeni bir ependorfa alınır. Üzerine bir hacim isopropanol eklenerek yavaşça karıştırılır.

7. Örnekler buz üzerinde 15 dk bekletilir.

8. 14000rpm'de 2 dk santrifüj işlemi uygulanır.

9. Süpernatan atılarak ependorfta kalan DNA % 70' lik etanolle yıkanır. Etanolun tamamen uzaklaşması beklenir.

10. Pellet halindeki DNA 30-60µl TE (10mM Tris-HCl pH 8.0, 1mM EDTA pH 8.0) içerisinde çözülür.

PZR Analizleri

Mantar DNA'sına ait ITS F1 (5' CTT GGT CAT TTA GAG GAA GTA A 3') ve evrensel ITS 4 (5' TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC 3') primerleri kullanılarak 50 µl toplam hacim içerisinde, Thermocycler cihazında aşağıdaki bileşen ve koşullarda PZR reaksiyonu gerçekleştirilmiştir.

Tablo 2. ITS için PZR karışımı

Bileşenler	Miktar (µl)
Master mix	25
ITS 1F	1
ITS4	1
DNA	4
ddH_2O (Steril)	19
Toplam	50

DOI: https://doi.org/10.30546/19023.978-9952-8589-3-8.2025.0016.
ISBN: 978-9952-8589-3-8

Tablo 3. ITS için PZR döngü şartları

Sıcaklık (°C)	Zaman	Döngü sayısı
95 (DNA'nın ön denatürasyonu)	5 dakika	1
95 (DNA'nın denatürasyonu)	30 saniye	30
55 (Bağlanma sıcaklığı)	30 saniye	
72 (Uzama safhası)	1 dakika	
72 (Final uzama)	8 dakika	1
4 (Bekleme sıcaklığı)	∞	-

Agaroz Jel Elektroforezi

Amplifikasyon ürünlerinin elektroforetik ayırımı %1.2' lik agaroz jelinde yapılmış, jel 0.5µl /ml etidyum bromür ile boyanmıştır. 100 bç DNA ladder moleküler ağırlık belirteci ile beraber 1X TAE (Tris, Asetik Asit, EDTA) tamponu kullanılarak 90 voltta 1 saat elektroforez gerçekleştirilmiştir.

Filogenetik analiz

DNA dizi analizi Nucleogene firması tarafından hizmet alımı şeklinde gerçekleştirilmiştir. ITS1F ve ITS4 primerleri ile küçük alt ünitenin sonu, ITS1, 5.8 geni, ITS2 ve büyük alt ünitenin ucunu içeren bölge çoğaltılıp dizi analizi gerçekleştirilmiştir. GenBankası'ndan alınan ilgili tür ile yakın ilişkili örnekler kullanılarak önce BioEdit programından Clustal W kullanılarak hizalanma gerçekleştirilmiştir. Daha sonra makromantar ve ilişkili türlerin filogenetik ağacı MEGA 7 software programı kullanılarak oluşturulmuştur.

SONUÇLAR

Meottomyces dissimulans (Berk. & Broome) Vizzini

Taksonomi ve Genel Bilgi:

Meottomyces dissimulans (Berk. & Broome) Vizzini, Psathyrellaceae familyasına ait, küçükten orta büyüklüğe kadar değişebilen, kahverengi tonlarda, saprotrofik yaşam tarzı gösteren bir makromantar türüdür. Tür ilk olarak *Agaricus dissimulans* olarak tanımlanmış, uzun yıllar *Psathyrella* cinsi içinde yer aldıktan sonra 2010 yılında Vizzini tarafından yapılan filogenetik analizler sonucu Meottomyces cinsine taşınmıştır (Vizzini, 2010). Bu yeni cins, morfolojik olarak Psathyrella'ya benzeyen fakat genetik olarak farklı olan türleri barındırır.

DOI: https://doi.org/10.30546/19023.978-9952-8589-3-8.2025.0016.
ISBN: 978-9952-8589-3-8

Deskripsiyon:

Şapka:

2–5 cm çapında, gençken konveks, olgunlaştıkça düzleşen ya da merkezde hafif çökük hâle gelen yapıdadır. Rengi nemliyken koyu kahverengi, kurudukça soluk kahverengiye döner. Yüzeyi nemli havalarda hafif yapışkan olabilir. Şapka kenarı yaşla birlikte hafifçe çatlayabilir ya da çizgilenme gösterebilir.

Lameller:

Sapla serbest veya hafif yapışık; sık ve orta genişliktedir. Gençken grimsi ya da soluk kahverengi, yaşlandıkça koyu kahverengiye döner. Sporlu evrede lamellerin kenarlarında beyaz spor üreten kenar hücreleri (cheilocystidia) görülebilir.

Sap:

4–8 cm uzunluğunda, 2–5 mm kalınlığında, silindirik, tabana doğru hafifçe kalınlaşabilir. Rengi beyazımsı veya soluk kahverengi; içi dolu veya yaşlı bireylerde boş olabilir. Sap yüzeyi genellikle ince fibrillerle kaplıdır, halka taşımaz.

Koku ve Tat:

Koku ve tat genellikle belirgin değildir. Yenilebilirliği kesinleşmediğinden tadına bakılması önerilmez.

Ekolojik Rol ve Habitat:

Meottomyces dissimulans, saprotrof yaşam tarzı gösterir ve genellikle humusça zengin topraklar, çürüyen yaprak örtüsü ya da odunsu artıklar üzerinde gelişir. Tekli veya küçük gruplar hâlinde büyür. Parklar, orman açıklıkları, bahçeler ve yol kenarları gibi habitatlarda yaygın olabilir. İlkbahardan sonbahar sonuna kadar meyve verir (Vizzini, 2010).

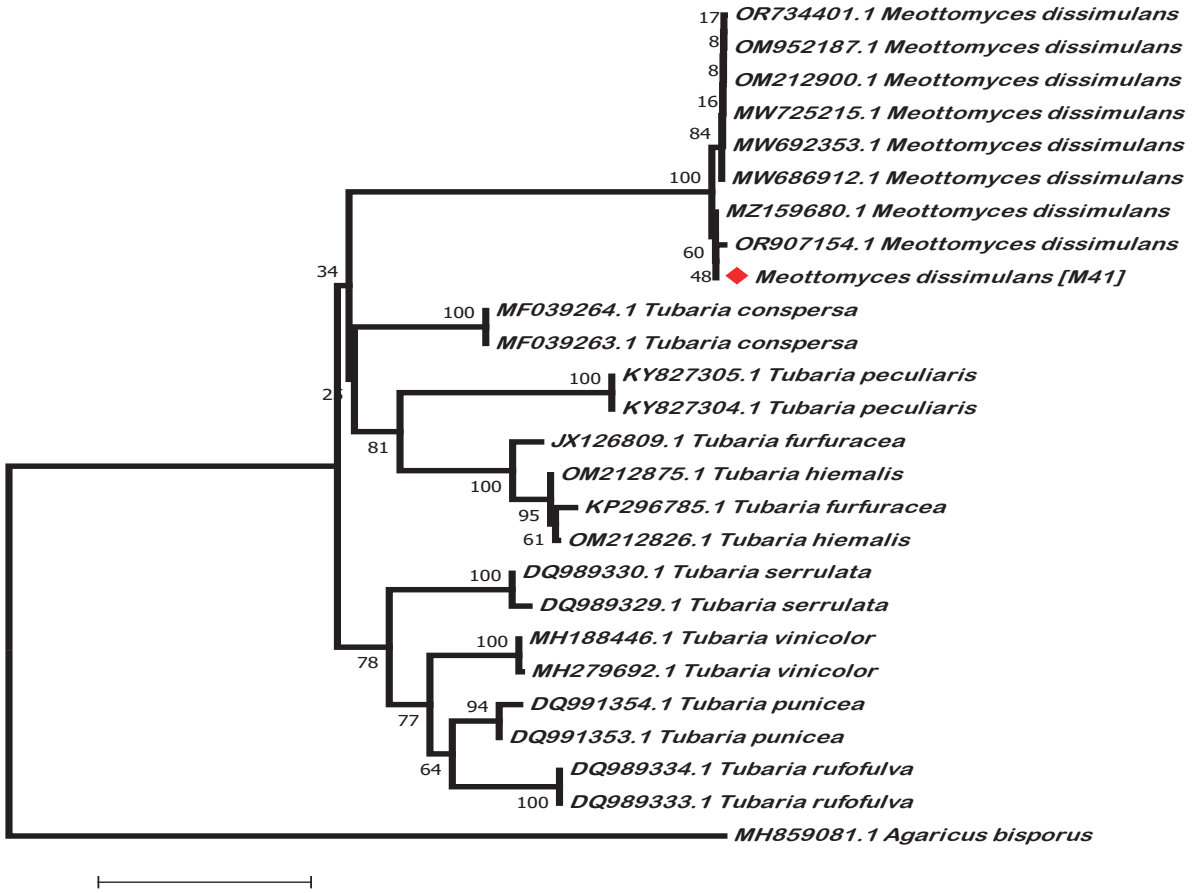
Toksisite ve Yenilebilirlik:

Bu türün yenilebilirliğine dair bilimsel veri yetersizdir. *Psathyrella* türleriyle morfolojik benzerliği nedeniyle ve bazı *Psathyrellaceae* üyelerinde düşük toksisite potansiyeli göz önünde bulundurularak tüketimi önerilmez (Benjamin, 1995).

DOI: https://doi.org/10.30546/19023.978-9952-8589-3-8.2025.0016.
ISBN: 978-9952-8589-3-8



Şekil 1. Koramaz Vadisi'nden *Meottomyces dissimulans* türünün genel görünümü.



DOI: https://doi.org/10.30546/19023.978-9952-8589-3-8.2025.0016.
ISBN: 978-9952-8589-3-8

Şekil 2. *Meottomyces dissimulans* ve ilişkili türlerin ITS gen bölgesi sekanslarından elde edilen Maksimum Olasılık Dendogramı. Dış grup*: Agaricus bisporus*. Çalışılan örnek M41 koduyla gösterilmiştir.

***Parasola conopilea* (Fr.) Örstadius & E. Larss.**

Taksonomi ve Genel Bilgi:

Parasola conopilea (Fr.) Örstadius & E. Larss., *Psathyrellaceae* familyasına ait, ince yapılı, kahverengimsi renkte, narin şapkasıyla tanınan bir saprotrofik makromantar türüdür. İlk olarak Fries tarafından *Agaricus conopileus* olarak tanımlanmış, daha sonra *Coprinus conopileus* adıyla sınıflandırılmıştır. 2008 yılında yapılan moleküler filogenetik çalışmalar sonucunda, deliquescent (lamel çözünmesi) göstermemesi nedeniyle *Parasola* cinsine alınmıştır (Örstadius & Larsson, 2008). "Conopilea" adı, mantarın koni biçimli şapka yapısını yansıtır.

Deskripsiyon:

Şapka:

2–4.5 cm çapında, gençken sivri konik, olgunlaştıkça biraz yayvanlaşsa da sivri tepesi korunur. Renk başlangıçta koyu kahverengi ila kızıl-kahverengi, yaşla birlikte ortası açılarak kenarlara doğru kontrast bir zon oluşturur. Şapka yüzeyi çizgili (radial striat) ve yüzeysel fibrillerle ince kaplıdır. Erime görülmez, bu *Parasola* cinsine özgüdür.

Lameller:

Serbest, sık ve dar. Başlangıçta beyazımsı, hızla gri ve sonra koyu kahverengiye döner. Lameller çözünmez, yaşlandığında kurumaya başlar.

Sap:

5–12 cm uzunluğunda, 1.5–3 mm kalınlığında, silindirik, içi boş, kırılgan, beyazımsı ve tabana doğru ince fibrilli. Halka bulunmaz.

Koku ve Tat:

Kokusu zayıf ya da hafif otsudur. Tat değerlendirilmemelidir, çünkü tüketilmesi önerilmez.

Ekolojik Rol ve Habitat:

Parasola conopilea, saprotrof olarak çayırlık alanlarda, çalılık kenarlarında, açık ormanlık bölgelerde ya da yol kenarlarında organik maddece zengin topraklar üzerinde tekli veya az sayıda birey hâlinde gelişir (Keirle et al., 2004). Genellikle ilkbahardan sonbahara kadar, özellikle yağışlı dönemlerde görülür. *Parasola* cinsindeki diğer türlerden farklı olarak odunsu materyaller üzerinde değil, toprak yüzeyinde bulunur.

Toksisite ve Yenilebilirlik:

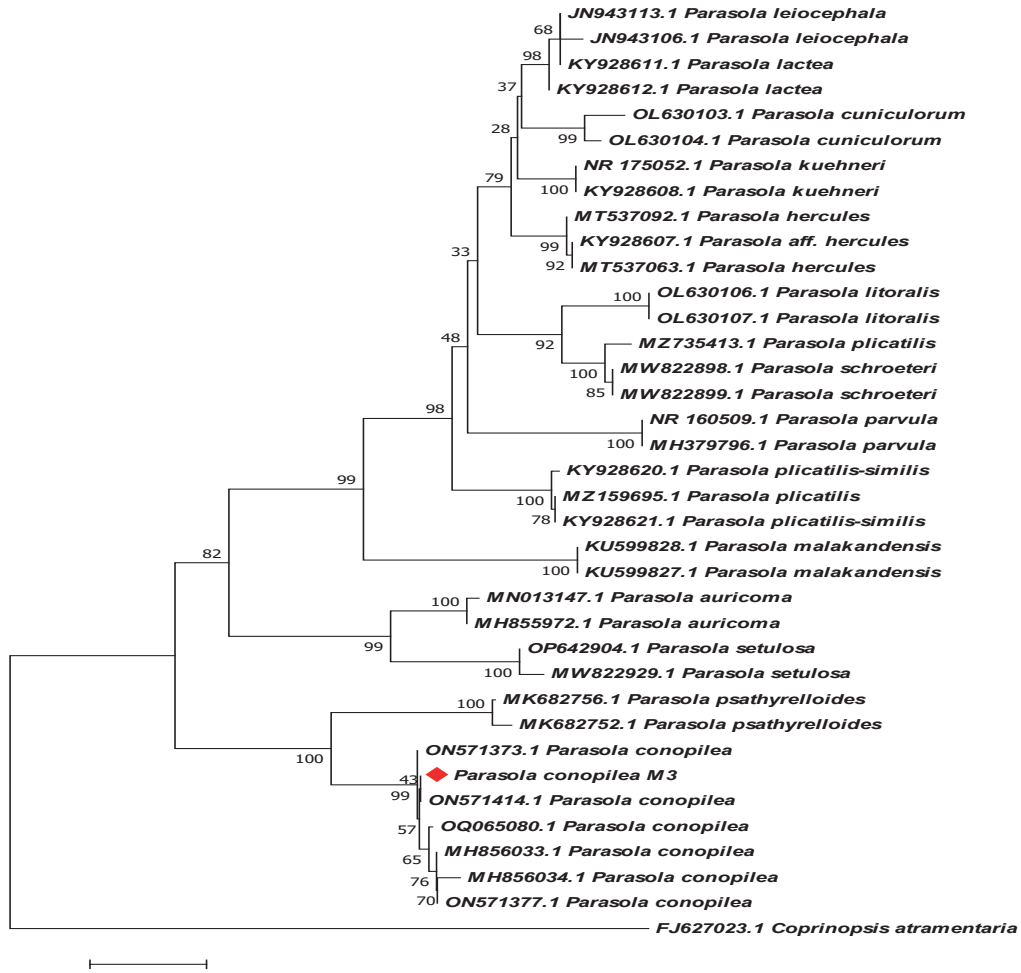
DOI: https://doi.org/10.30546/19023.978-9952-8589-3-8.2025.0016.
ISBN: 978-9952-8589-3-8

P. conopilea'nın yenilebilirliği hakkında net bir bilgi bulunmamaktadır. Lezzet açısından değersiz kabul edilir ve benzer görünümlü, küçük, narin türlerle karıştırılma riski olduğundan tüketimi önerilmez (Benjamin, 1995). Ayrıca, diğer *Coprinaceae* üyelerinde görülebilecek potansiyel toksinler göz önünde bulundurulmalıdır.



Şekil 3. Koramaz Vadisi'nden *Parasola conopilea* türünün genel görünümü.

DOI: https://doi.org/10.30546/19023.978-9952-8589-3-8.2025.0016.
ISBN: 978-9952-8589-3-8



Şekil 4. *Parasola conopilea* ve ilişkili türlerin ITS gen bölgesi sekanslarından elde edilen Maksimum Olasılık Dendogramı. Dış grup*: Coprinopsis atramentaria*. Çalışılan örnek M3 koduyla gösterilmiştir.

Antibakteriyal Aktivite Sonuçları

Agar Difüzyon Sonuçları

Makromantar özütlerinin antimikrobiyal aktiviteleri, 100 ppm konsantrasyonda agar kuyu difüzyon yöntemi kullanılarak üç bakteri suşuna karşı belirlenmiştir: Gram-pozitif ***M. luteus*** **ATCC 10240** ile Gram-negatif ***E. coli*** **ATCC 25922** ve ***P. vulgaris*** **ATCC 13315**. Elde edilen sonuçlar Tablo 4'te sunulmuştur.

DOI: https://doi.org/10.30546/19023.978-9952-8589-3-8.2025.0016.
ISBN: 978-9952-8589-3-8

Tablo 4. Makromantar özütlerinin kantitatif antimikrobiyal test sonuçları

Mikroorganizmalar	**İnhibisyon zonu (mm)**	
***E. coli* (G-)**	*Meottomyces dissimulans*	*Parasola conopilea*
	9	17
***P. vulgaris* (G-)**	17	13
***M. luteus* (G+)**	14	15

Tablo 4'te sunulan veriler, *Meottomyces dissimulans* ve *Parasola conopilea* türlerine ait makromantar özütlerinin hem Gram-negatif hem de Gram-pozitif bakterilere karşı belirgin antimikrobiyal aktivite gösterdiğini ortaya koymaktadır. Özellikle *Parasola conopilea*, E. coli'ye karşı 17 mm'lik inhibisyon zonu oluşturarak, *Meottomyces dissimulans*'ın oluşturduğu 9 mm'lik zondan anlamlı derecede daha yüksek bir etki sergilemiştir. Bu sonuç, *P. conopilea*'nın Gram-negatif bakteriler, özellikle *E. coli* üzerinde daha etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Buna karşılık, *Proteus vulgaris* için *Meottomyces dissimulans*, 17 mm'lik inhibisyon zonu ile *Parasola conopilea*'nın oluşturduğu 13 mm'lik zondan daha güçlü bir antimikrobiyal etki göstermiştir. Bu durum, *M. dissimulans*'ın *P. vulgaris* gibi bazı Gram-negatif bakterilere karşı daha etkili olabileceğini ortaya koymaktadır.

Gram-pozitif *Micrococcus luteus* bakterisine karşı ise her iki mantar özütü benzer düzeyde aktivite sergilemiştir. *Meottomyces dissimulans*, 14 mm, *Parasola conopilea* ise 15 mm'lik inhibisyon zonları oluşturarak orta düzeyde ve karşılaştırılabilir antimikrobiyal etkiler göstermiştir.

Bu bulgular, makromantar özütlerinin bakteri türüne bağlı olarak değişken düzeylerde antimikrobiyal etki gösterebildiğini ve dolayısıyla selektif (seçici) antimikrobiyal potansiyel taşıyabileceğini ortaya koymaktadır.

Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) Testi

MİK testi için, agar kuyucuk difüzyon yönteminde bakterilere karşı etkili olduğu tespit edilen maddelerin en düşük inhibe edici konsantrasyonları (MİK) 96 kuyucuklu plakalar kullanılarak mikrodilüsyon broth yöntemi ile belirlendi.

96 kuyucuklu plakaların yatay sıradaki 1'den 12'ye kadar olan kuyucukların 1.sine sadece 100 µL örnek maddeler konuldu. Kalan kuyucuklara 100 µL MHB konuldu Daha sonra 2.sıradaki kuyucuğa 100 µL örnek madde konup MHB ile pipetlenip karıştırılıp kuyucuktan 100 µL alınarak bir sonraki kuyucuğa pipetlenip son kuyucuğa kadar seyreltme yapıldı. En son pipette kalan 100 µL atıldı. Sonra 1-12'nin hepsine 100 µL bakteri konuldu.

DOI: https://doi.org/10.30546/19023.978-9952-8589-3-8.2025.0016.
ISBN: 978-9952-8589-3-8

Plakaların en alt yatay sırası negatif kontrol için kullanıldı. Negatif kontrolde, 1'den 12'ye kadar olan kuyucukların 1.sine sadece 100 µL örnek madde konuldu. 2. kuyucuğa 100 µL örnek madde konulup 11. kuyucuğa kadar seyreltildi. 11.kuyucuktan sonra pipette kalan 100 µL atıldı. 12. kuyucukta sadece 100µL MHB konuldu. Bu işlemlerden sonra etüvde 37 °C'de 1 gün inkübasyona bırakıldı. Bu işlem sonucunda elde edilen nihai ekstrakt konsantrasyonları şu şekildeydi: 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.12, 1.56, 0.78, 0.39, 0.19, 0.09 ve 0.045 ppm.

İnkübasyon sonunda örnek maddelerin MİK değerleri kuyucukların üzerlerine eklenen MTT [3- (4,5-dimetiltiyazol-2-il) -2,5- difeniltetrazolyum bromür] 37 °C'de 1 saatlik inkübasyonu sonrasında meydana gelen renklenmeye bakılarak tespit edilmiştir.

Üremenin olduğu kuyucuklarda mor bir renklenme gözlenirken üremenin olmadığı kuyucuklarda herhangi bir renk değişimi gözlenmemiştir. Üremenin gözlemlendiği en küçük numaralı kuyucuğun temsil ettiği konsantrasyon Minimal İnhibisyon Konsantrasyon yani MİK olarak belirlenmiştir.

Şekil 5'e bakılarak *Meottomyces dissimulans* makromantar özütüne ait MIC (Minimum İnhibitör Konsantrasyon) testi sonuçları şu şekilde yorumlanabilir:

MIC analizinde, MTT ilavesini takiben **5–12 numaralı kuyucuklarda mor renk oluşumu**, bu kuyularda mikroorganizmaların canlı kaldığını göstermektedir. Çünkü yalnızca canlı hücreler MTT'yi metabolize ederek mor renk oluşumuna neden olur. Buna karşın, 1–4 numaralı kuyucuklarda renk değişiminin gözlenmemesi, mantar ekstresinin bu konsantrasyonlarda etkili olduğunu, mikroorganizmaların ya öldürüldüğünü ya da üremelerinin durdurulduğunu göstermektedir.

Dolayısıyla, **5**–12 numaralı kuyularda gözlenen mor renk, bu konsantrasyonlarda ekstraktın mikroorganizmaların canlılığını engellemede yetersiz kaldığını ortaya koymaktadır. Bu bağlamda, 4 numaralı kuyucuk civarındaki konsantrasyon, mikroorganizma büyümesinin durdurulduğu noktayı temsil eder ve bu değer, ekstraktın MIC değeri olarak kabul edilmektedir.

Sonuç olarak, *Meottomyces dissimulans*'tan elde edilen makromantar özütü, ***Micrococcus luteus,*** ***Escherichia coli*** **ve** ***Proteus vulgaris*** türlerine karşı **12.5 ppm** düzeyinde MIC değeri göstererek etkili bulunmuştur. Bu bulgu, ilgili mantar türünün düşük konsantrasyonlarda dahi antimikrobiyal etki potansiyeline sahip olduğunu ve doğal antimikrobiyal ajan geliştirilmesinde değerlendirilebileceğini göstermektedir.

Şekil 5'e bakılarak *Parasola conopilea* makromantar ekstresinin MIC testi sonuçları şu şekilde yorumlanabilir:

MIC (Minimum İnhibitör Konsantrasyon) testinde, MTT ilavesinden sonra ***M. luteus*** ve ***P. vulgaris*** için 4–12 numaralı kuyucuklarda mor renk oluşumu, mikroorganizmaların bu kuyucuklarda canlı kaldığını göstermektedir; çünkü canlı hücreler MTT'yi metabolize ederek mor renk oluşumu sağlar.

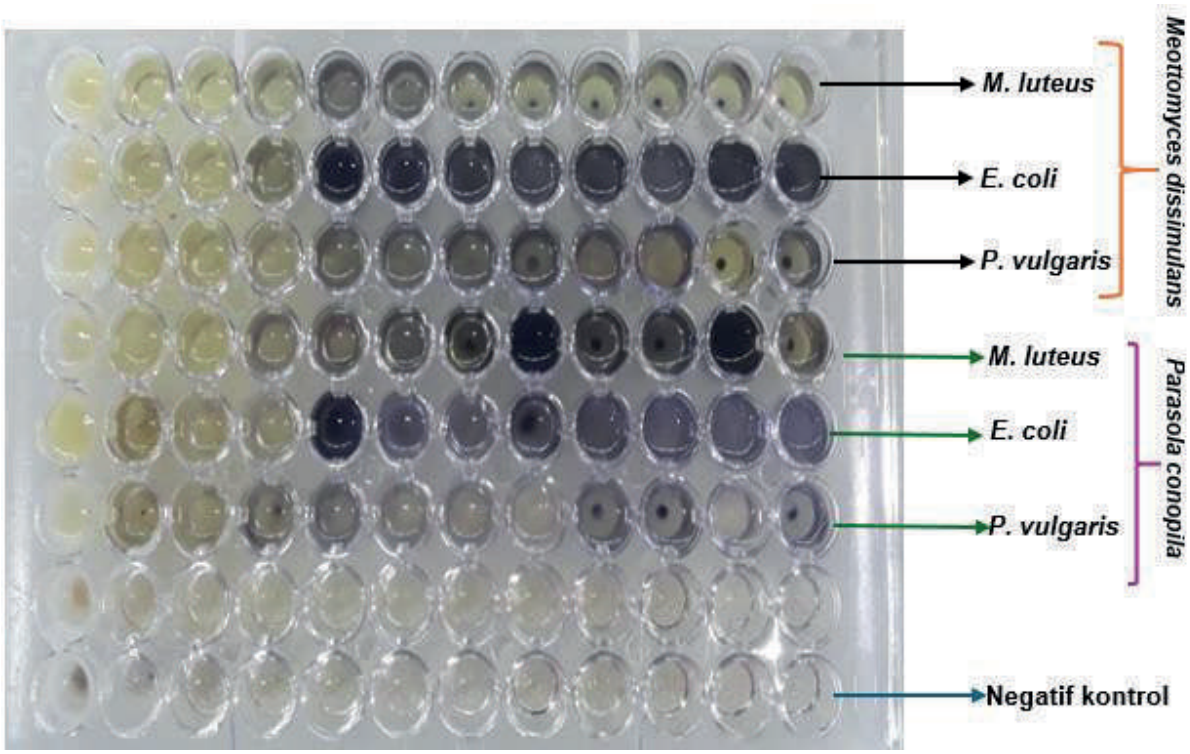
DOI: https://doi.org/10.30546/19023.978-9952-8589-3-8.2025.0016.
ISBN: 978-9952-8589-3-8

1–3 numaralı kuyucuklarda renk değişiminin olmaması, özütün bu konsantrasyonlarda etkili olduğunu, mikroorganizmaları ya öldürdüğünü ya da üremelerini engellediğini göstermektedir.

E. coli için, 1–4 numaralı kuyucuklarda renk değişiminin olmaması, özütün bu konsantrasyonlarda etkili olduğunu gösterirken; 5–12 numaralı kuyucuklarda mor renk oluşumu, mikroorganizmaların hâlâ canlı olduğunu ve özütün bu düşük konsantrasyonlarda etkisiz kaldığını göstermektedir. MTT yalnızca canlı hücrelerde mor renk oluşturur.

Buna göre, makromantar özütü:

- ***M. luteus*** ve ***P. vulgaris***'e karşı **25 ppm**,
- ***E. coli***'ye karşı ise **12.5 ppm** MIC değerinde etkili bulunmuştur.



Şekil 5. Makromantar özütlerinin Mikrodilusyon Broth Tekniğinde uygulanış şekli.

TARTIŞMA

Bu çalışmada, *Meottomyces dissimulans* ve *Parasola conopilea* türlerine ait metanolik makromantar ekstrelerinin, Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere karşı antimikrobiyal etkileri hem agar kuyu difüzyon yöntemi hem de Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) testleri ile değerlendirilmiştir. Her iki mantar türü, Türkiye'nin biyolojik çeşitliliğiyle öne çıkan önemli ekosistemlerinden biri olan Koramaz Vadisi'nden izole edilmiş ve DNA barkodlama yöntemiyle tür düzeyinde doğrulanmıştır. Antimikrobiyal testlerde kullanılan mikroorganizmalar, halk sağlığı açısından klinik öneme sahip ***E. coli*** **(G-),** ***P. vulgaris*** **(G-) ve** ***M. luteus*** **(G+)** suşlarıdır.

DOI: https://doi.org/10.30546/19023.978-9952-8589-3-8.2025.0016.
ISBN: 978-9952-8589-3-8

Agar kuyu difüzyon yöntemiyle elde edilen veriler, her iki makromantar ekstresinin test edilen bakterilere karşı anlamlı düzeyde antimikrobiyal etki gösterdiğini ortaya koymuştur. *Parasola conopilea*, E. coli üzerinde 17 mm'lik bir inhibisyon zonu ile *Meottomyces dissimulans*'a kıyasla (9 mm) daha yüksek bir etki sergilemiştir. Bu durum, *P. conopilea*'nın Gram-negatif bakterilere karşı daha güçlü bir inhibitör etkiye sahip olabileceğini düşündürmektedir.

Buna karşılık, *Proteus vulgaris* suşuna karşı en yüksek inhibisyon zonu, *Meottomyces dissimulans* ekstresinde gözlenmiş (17 mm), *P. conopilea*'da ise 13 mm'lik daha düşük bir zon oluşmuştur. Bu sonuç, *M. dissimulans*'ın bazı Gram-negatif bakterilere karşı daha etkili olabileceğini göstermektedir.

Micrococcus luteus (Gram pozitif) bakterisine karşı ise her iki mantar özütü benzer inhibisyon zonları oluşturmuş (14–15 mm), bu da her iki ekstraktın da bu bakteriye karşı orta düzeyde ve karşılaştırılabilir antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir.

MİK testleri, özütlerin etkili olduğu en düşük konsantrasyonların belirlenmesi açısından önemli bir parametre olup, kantitatif doğrulama sağlar. *Meottomyces dissimulans*'ın ***M. luteus***, ***E. coli*** ve ***P. vulgaris*** türlerine karşı 12.5 ppm MİK değerinde etkili olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuç, *M. dissimulans* özütünün düşük konsantrasyonlarda dahi mikrobiyal büyümeyi inhibe edebildiğini ve dolayısıyla potansiyel bir doğal antimikrobiyal ajan olabileceğini göstermektedir.

Parasola conopilea için yapılan MİK analizlerinde ise ***E. coli***'ye karşı etki 12.5 ppm'de görülürken, ***M. luteus*** ve ***P. vulgaris*** için inhibisyon ancak 25 ppm konsantrasyonunda gerçekleşmiştir. Bu durum, *P. conopilea*'nın özellikle *E. coli* gibi bazı Gram-negatif bakterilere karşı daha düşük konsantrasyonlarda etkili olabileceğini, ancak bazı diğer suşlara karşı daha yüksek doz gerektirdiğini göstermektedir.

MİK testlerinde kullanılan MTT boyası canlı hücrelerde mor renk oluşturarak metabolik aktiviteyi göstermekte ve bu özellik, antimikrobiyal testlerde görsel ve doğru değerlendirme açısından avantaj sağlamaktadır. Bu çalışmada, 1–3 veya 1–4 numaralı kuyucuklarda renk oluşmaması, bu konsantrasyonlardaki ekstrelerin etkili olduğunu; 5–12 numaralı kuyucuklarda mor renk gözlenmesi ise etkisiz kaldığını ortaya koymuştur.

Çalışma sonuçları, hem *Meottomyces dissimulans* hem de *Parasola conopilea* türlerinin antibakteriyel potansiyele sahip doğal kaynaklar olduğunu göstermektedir. Literatürde özellikle *Parasola* cinsi ile ilgili antimikrobiyal aktivite verileri sınırlı olup, bu çalışmayla birlikte yeni bilgiler elde edilmiştir. *Meottomyces dissimulans* da, Türkiye florasında nadiren kaydedilen ve çalışmalarda yeterince temsil edilmemiş bir türdür. Bu yönüyle, elde edilen bulgular hem etnobiyolojik potansiyelin belirlenmesi hem de biyoteknolojik uygulamalar açısından öncül niteliktedir.

Antibiyotiklere karşı gelişen direnç, yeni doğal ürünlerin keşfini zorunlu kılmaktadır. Bu bağlamda, düşük dozda yüksek antimikrobiyal etki gösteren mantar özütlerinin değerlendirilmesi, doğal ve alternatif tedavi yaklaşımları için umut vericidir. Ancak bu tür özütlerin içerdiği biyoaktif bileşiklerin

fraksiyonlara ayrılması, kimyasal karakterizasyonu (örneğin LC-MS, NMR) ve hücre temelli toksisite analizleri ile desteklenmesi, ilerleyen araştırmalar açısından önem taşımaktadır.

Sonuç olarak, *Meottomyces dissimulans* ve *Parasola conopilea*'nın metanolik ekstreleri, seçilen mikroorganizmalara karşı anlamlı düzeyde antimikrobiyal etki göstermiş ve bu etki, kullanılan bakteri türüne ve mantar cinsine bağlı olarak değişiklik göstermiştir. Bulgular, seçici antimikrobiyal potansiyel ve düşük dozda etki açısından umut verici olup, bu türlerin gelecekteki farmasötik ve biyomedikal çalışmalarda değerlendirilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır.

TEŞEKKÜRLER

Bu çalışma; Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından FBA-2023-12419 kodlu proje ile desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

Benjamin, D. R. (1995). Mushrooms: Poisons and panaceas: A handbook for naturalists, mycologists and physicians. W.H. Freeman and Company.

Hawksworth, D. L., & Lücking, R. (2017). Fungal diversity revisited: 2.2 to 3.8 million species. Microbiology Spectrum, 5(4), FUNK-0052-2016. https://doi.org/10.1128/microbiolspec.FUNK-0052-2016

Keirle, M. R., Hemmes, D. E., & Desjardin, D. E. (2004). Agaricales of the Hawaiian Islands. 7. Coprinus and Coprinopsis. Fungal Diversity, 15, 33–124.

Kuşçulu, M., & Aslan, A. (2019). Liken ekstraktlarının genotoksik ve sitotoksik etkilerinin belirlenmesi. Bitki Koruma Bülteni, 59(1), 25–32.

Larsson, E., & Örstadius, L. (2008). Morphological and molecular studies of Parasola species (Psathyrellaceae, Agaricales) in northern Europe and North America. Mycological Research, 112(4), 471–489. https://doi.org/10.1016/j.mycres.2007.12.003

Lindequist, U., Niedermeyer, T. H. J., & Jülich, W. D. (2005). The pharmacological potential of mushrooms. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2(3), 285–299. https://doi.org/10.1093/ecam/neh107

Newman, D. J., & Cragg, G. M. (2020). Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. Journal of Natural Products, 83(3), 770–803. https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.9b01285

Ocak, F. (2014). Mikrobiyoloji. Ankara: Palme Yayıncılık.

Ríos, J. L., & Recio, M. C. (2005). Medicinal plants and antimicrobial activity. Journal of Ethnopharmacology, 100(1–2), 80–84. https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.04.025

Schoch, C. L., Seifert, K. A., Huhndorf, S., Robert, V., Spouge, J. L., Levesque, C. A., Chen, W., & Fungal Barcoding Consortium. (2012). Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. Proceedings of the National Academy of Sciences, 109(16), 6241–6246. https://doi.org/10.1073/pnas.1117018109

Vizzini, A. (2010). Meottomyces, a new genus for Lyophyllum dissimulans and its allies. Mycotaxon, 113, 309–316. https://doi.org/10.5248/113.309

Wasser, S. P. (2010). Medicinal mushroom science: Current perspectives, advances, evidences, and challenges. Biomedical Journal, 2(1), 4–19.

Wikipedia. (2025). Micrococcus luteus. https://en.wikipedia.org/wiki/Micrococcus_luteus

Wikipedia. (2025). Proteus vulgaris. https://en.wikipedia.org/wiki/Proteus_vulgaris