

***Morchella importuna* M. Kuo, O'Donnell & T.J. Volk MANTARININ
DOĞAL VE KÜLTÜRLENMİŞ MİSELLERİNİ SİTOTOKSİSİTE,
ANTİKARSİNOJEN, ANTİMİKROBİYAL ETKİSİNİN IN VITRO
İNCELENMESİ**

SELİME SEMRA EROL

**DOKTORA TEZİ
DOĞAL VE BİTKİSEL KOZMETİK ÜRÜNLER ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN
DOÇ. DR. ŞEMSETTİN KULAÇ**

DÜZCE, 2023

T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

***Morchella importuna* M. Kuo, O'Donnell & T.J. Volk MANTARININ**
DOĞAL VE KÜLTÜRLENMİŞ MİSELLERİNİ SİTOTOKSİSİTE,
ANTİKARSİNOJEN, ANTİMİKROBİYAL ETKİSİNİN IN VITRO
İNCELENMESİ

Selime Semra EROL tarafından hazırlanan tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından Düzce Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Doğal ve Bitkisel Kozmetik Ürünler Anabilim Dalı'nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Doç.Dr. Şemsettin KULAÇ

Düzce Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Doç.Dr. Şemsettin KULAÇ

Düzce Üniversitesi

Doç.Dr. Çağlar AKÇAY

Düzce Üniversitesi

Doç.Dr. Ayşe İKİNCİ KELEŞ

Aksaray Üniversitesi

Doç.Dr. Hakan ALLI

Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi

Dr.Öğr.Üyesi Tülay BİCAN SÜERDEM

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Tez Savunma Tarihi: 24/07/2023

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

24 Temmuz 2023

Selime Semra EROL

TEŞEKKÜR

Doktora öğrenimimde ve bu tezin hazırlanmasında gösterdiği her türlü destek ve yardımdan dolayı çok değerli hocam Doç Dr. Şemsettin KULAÇ'a en içten dileklerle teşekkür ederim.

Tez çalışmam boyunca değerli katkılarını esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Zeynep Güneş ÖZÜNAL'a şükranlarımı sunarım.

Tez çalışmamda en zorlandığım ve karamsarlığa kapıldığım anda kıymetli akademik bilgileri ve manevi desteği ile yanımda olan sevgili hocam Doç.Dr. Ayşe İKİNCİ KELEŞ'e çok teşekkür ederim.

Sevgili hocam Dr. Öğretim Üyesi Tülay BİCAN SUERDEM ve sevgili hocam Dr.Öğr.Üyesi Gülçin ÖZCAN ATEŞ'e mikrobiyolojik çalışmalarımda yol göstericilikleri için teşekkür ederim.

Arazi çalışmalarımda desteklerini esirgemeyen hocalarım Prof.Dr. Ertuğrul KAYA'ya teşekkür ederim. Arazi çalışmaları, morfolojik ve moleküler tanımlamada desteği için Prof.Dr. Ilgaz AKATA'ya teşekkür ederim.

Çok kıymetli hocam, Doç.Dr. Hakan ALLI'ya akademik hayatım boyunca bana kattığı değer, bilgiler ve tezimin her aşamasında yanımda olarak manevi desteği ile bana güç verdiği için sonsuz teşekkürler.

Bu çalışma boyunca sabır ve hoşgörü ile bana destek olan sevgili aileme ve eşime, ayrıca çalışmamın tüm aşamalarında benimle birlikte olan Deniz ve Bulut'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması, Düzce Üniversitesi 2021.02.02.1269 numaralı Bilimsel Araştırma Projesiyle desteklenmiştir. Düzce Üniversitesine teşekkür ederim.

24 Temmuz 2023

Selime Semra EROL

İÇİNDEKİLER

GÖRSELLER.....	IX
ŞEKİLLER.....	X
TABLOLAR.....	XI
SİMGELER VE KISALTMALAR	XII
ÖZET	XIII
ABSTRACT	XIV
EXTENDED ABSTRACT	XV
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	1
2.1. TAKSONOMİK ÇALIŞMALAR	1
2.2. MANTAR ÜRETİMİ.....	1
2.3. ANTİMİKROBİYAL ETKİ VE ANTİKANSEROJEN ÇALIŞMALAR.....	2
2.3.1. Antimikrobiyal Etki	2
2.3.2. Antikanserojen Etki:	3
3. GENEL BİLGİLER	4
3.1. MAKROMANTARLAR.....	4
3.2. TIBBİ MANTARLAR	9
3.2.1. Kuzugöbeği Mantarı (<i>Morchella spp.</i>).....	9
3.2.1.1. Kuzugöbeği Mantarı İsimlendirilmesi	10
3.2.1.2. Kuzugöbeği Mantarı Taksonomisi	10
3.2.1.3. Kuzugöbeği Mantarının Tanımı	10
3.2.1.4. Kuzugöbeği Mantarının Yaşam Döngüsü.....	11
3.2.1.5. Kuzugöbeği Mantarının Ekolojik İstekleri.....	13
a. Yetiştirme Alanları Sürekli Olan Mantarlar	13

b. Yetişme Alanları Gelişigüzel Olan Mantarlar.....	13
3.2.1.6. Kuzugöbeği Mantarının Ekonomik Değeri	14
3.2.1.7. Türkiye 'de Kuzugöbeği Mantarı Dağılımı.....	14
3.2.1.8. Kuzugöbeği Mantarının Tıbbi Özellikleri.....	17
3.2.1.9. Kuzugöbeği Mantarının Kültürü:	17
4. MATERYAL VE YÖNTEM.....	21
4.1. MANTAR ÖRNEKLERİNİN TOPLANMASI.....	21
4.2. MANTAR ÖRNEKLERİNİN MORFOLOJİK TEşHİSİ	24
4.3. MANTAR ÖRNEKLERİNİN MOLEKÜLER TEşHİSİ.....	26
4.4. MANTAR ÖRNEKLERİNİN DOKU KÜLTÜRÜ İLE ÇOğALTILMASI	26
4.4.1. Besiyeri Hazırlama	27
a. Sabouraud Dekstroz Agar (SDA)	27
b. Patates Dekstroz Agar (PDA).....	27
4.4.2. Doku Kültürü Çalışması:.....	28
4.4.2.1. Saf Kültürlerin Doku Kültürü ile Elde Edilmesi	28
4.4.2.2. Elde Edilen Saf Kültürlerin Çoğaltılması	29
4.4.2.3. Doğal Mantar Örneği ve Kültürlenmiş Miselyumun Ekstraksiyon için Hazırlanması	30
4.4.2.4. Doğal Mantar Örneği ve Kültürlenmiş Miselyumun Ekstraksiyonu	32
4.5. YÜKSEK PERFORMANSLI SIVI KROMATOĞRAFİSİ ANALİZİ (HPLC)	33
4.5.1. Kimyasallar ve Tepkimeler	33
4.5.2. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC-DAD) Koşulları.....	34
4.6. ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTE TAYİNİ	34
4.6.1. Antimikrobiyal Aktivite Tayini için Kullanılan Suşlar	34
4.6.2. Antimikrobiyal Aktivite Tayini için Kullanılan Yöntemler:.....	34
4.6.3. İnokulum Süspansiyonu ve Ekstrakt İçeren Disklerin Hazırlanması.....	34

4.6.3.1.	<i>İnokulum hazırlanması</i>	34
4.6.3.2.	<i>Ekstrakt içeren disklerin hazırlanması</i>	35
4.6.4.	Disk Difüzyon Yöntemi	35
4.6.5.	İstatistiksel Analiz	36
4.7.	HÜCRE KÜLTÜRÜ ÇALIŞMALARI	36
4.7.1.	L929 (Fare Fibroblast) Hücre Hattında Sitotoksosite Testi	36
4.7.2.	SCOV-3 Over Kanser Hücre Çoğalması ve Sitotoksosite Testi	38
5.	BULGULAR	40
5.1.	MANTAR ÖRNEKLERİNİN MORFOLOJİK TEŞHİSİ	40
5.2.	MANTAR ÖRNEKLERİNİN MOLEKÜLER TEŞHİSİ	40
5.3.	YÜKSEK PERFORMANSLI SIVI KROMATOĞRAFİSİ (HPLC) ANALİZİ 42	
5.4.	ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTE TAYİNİ	44
5.5.	HÜCRE KÜLTÜRÜ ÇALIŞMALARI	44
5.5.1.	L929 (Fare Fibroblast) Hücre Çoğalması ve Sitotoksosite Testi	44
5.5.2.	SCOV-3 Over Kanser Hücre Hattında Sitotoksosite Testi	45
6.	TARTIŞMA ve SONUÇ	47
7.	KAYNAKLAR	52
	ÖZGEÇMİŞ	61

GÖRSELLER

Görsel 1. Alata Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü Kuzugöbeği Mantarı Pilot üretim Tesisi [80].	19
Görsel 2. Alata Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü Kuzugöbeği Mantarı Pilot üretim Tesisi [80].	19
Görsel 3. Alata Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü Kuzugöbeği Mantarı Pilot üretim Tesisi [80].	20
Görsel 4. Alata Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü Kuzugöbeği Mantarı Pilot üremi [80].	20
Görsel 5. Muğla Gürleyik Köyü Arazi Çalışması	23
Görsel 6. Kuzugöbeği Mantarı	23
Görsel 7. Laboratuvara Getirilen Kuzugöbeği Mantarı Örnekleri	25
Görsel 8. Laboratuvara Getirilen Kuzugöbeği Mantarı Örnekleri	25
Görsel 9. Besiyeri Hazırlama	27
Görsel 10. Besiyeri Sterilasyonu	28
Görsel 11. Saf Kùltürler	29
Görsel 12. Saf Kùltürler	29
Görsel 13. SE2148Fb	30
Görsel 14. SE2148M	31
Görsel 15. Öğütölmüş SE2148Fb	31
Görsel 16. Öğütölmüş SE2148M	31
Görsel 17. Rotary Evaporatorde Ekstrakt Çözücülerinin Uçurulması	32
Görsel 18. SE2148M Ekstraktı (SE1)	33
Görsel 19. SE2148Fb Ekstakt (SE2)	33
Görsel 23. Antimikrobiyal Aktivite Testi	35
Görsel 24. Disk Difüzyon Yöntemi	36
Görsel 25. L929 Fare Fibroblast Hücresi	37
Görsel 26. L929 Fare Fibroblast Hücresi	37
Görsel 27. Hücre Kùltürü Çalışması	38
Görsel 28. Hücre Kùltürü Çalışması	38
Görsel 29. SCOV-3 Over Kanser Hücresi	39

ŞEKİLLER

Şekil 3.1. Ökaryot hücre yapısına sahip Alemler, Fungi 4 bölümü, Askomisetler ve Basidiyomisetler (Aime & Toome, n.d.).....	5
Şekil 3.2. Askokarp, Askus, Basidiyokarp, Bazidium, Fungal Hif [38].	6
Şekil 3.3. Kuzugöbeği Mantarının Yaşam Döngüsü [56].	12
Şekil 3.4. Türkiye’de Kuzugöbeği Mantarı Dağılımı [63].	16
Şekil 4.1. Flogenetik Kladlar.....	41



TABLÖLAR

Tablo 4.1. Arazi Çalışması İstasyonlar	21
Tablo 5.1. SE1 ve SE2 Ekstraktların HPLC-DAD ile organik asit ve fenolik bileşimi (µg/g) 43	
Tablo 5.2. Antimikrobiyal Aktivite Tayini	44
Tablo 5.3. L929 Fare Fibroblast Sitotoksosite	45
Tablo 5.4. SCOV-3 Over Kanser Hücre Çoğalması ve Sitotoksosite.....	46



SİMGELER VE KISALTMALAR

°C : Santigrad derece

% : Yüzde

µl : Mikrolitre

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

HPLC. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi

ITS : Transkripsiyonu yapılamayan bölge

kg : Kilo gram

MHA : Müller Hinton Agar

PCR : Polimeraz zincir reaksiyonu

PDA : Patates Dekstroz Agar

rDNA : Ribozomal DNA

SDA : Sabouraud Dextrose Agar

SF: Serum Fizyolojik

SPSS: Sosyal Bilimler İçin İstatistik Programı

UV : Ultraviolet (Mor ötesi)

ÖZET

***Morchella importuna* M. KUO, O'DONNELL & T.J. VOLK MANTARININ DOĞAL VE KÜLTÜRLENMİŞ MİSELLERİNİ SİTOTOKSİSİTE, ANTİKARSİNOJEN, ANTİMİKROBİYAL ETKİSİNİN İN VİTRO İNCELENMESİ**

Selime Semra EROL

Düzce Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Doğal ve Bitkisel Kozmetik Ürünler Anabilim Dalı

Doktora Tezi

Danışman: Doç. Dr. Şemsettin KULAÇ

Temmuz 2023, 60 sayfa

Morchella cinsi içerisinde yer alan mantarlar ülkemizde ‘Kuzugöbeği Mantarı’ olarak bilinir. Kuzugöbeği Mantarları, tıbbi, gastronomik ve ekonomik olarak önemli makrofunguslardır. Çalışmamızda *Morchella importuna* ve kültürlenmiş miselyumlarının ekstrelerinin sitotoksitesisi, antikarsinojen ve antimikrobiyal etkisi in vitro olarak araştırılmıştır, Kültürlenmiş miselyumlar doku kültürü tekniği ile doğal mantardan üretilmiştir. Numunelerin sitotoksiste testi L-929 fare fibroblast hücre hattında WST-1 protokolü ile yapılmıştır. Antikarsinojen etki 64 yaşında kadın hasta overinden izole edilmiş bir hücre hattında CCK-8 protokolü ile çalışılmıştır. *M. importuna* ve kültürlenmiş miselyumlarının ekstrelerinin antimikrobiyal etkisi, seçilen test mikroorganizmaları ile disk difüzyon yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Çalışmamızın sonucu olarak *M. impotuna* ve kültürlenmiş miselyumlarından elde edilen ekstraktları L929 sağlıklı fare fibroblast hücre hattında sitotoksik etki göstermemiştir, primer over kanser hücrelerinde toksik etki göstermiştir. Ayrıca numunelerin; SE1 ekstraktının test edilen tüm bakterilere karşı antimikrobiyal aktivitesi olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Sözcükler: *Morchella importuna*, sitotoksiste, antikarsinojen etki, antimikrobiyal etki.

ABSTRACT

IN VITRO INVESTIGATION OF CYTOTOXICITY, ANTICARCINOGEN, ANTIMICROBIAL EFFECT OF NATURAL AND CULTURED MYCELIUMS OF *MORCHELLA IMPORTUNA* M. KUO, O'DONNELL & T.J. VOLK MUSHROOM

Selime Semra EROL

Düzce University

Graduate School, Department of Natural and Herbal Cosmetic Products

Doctoral Thesis

Supervisor: Assoc. Doç. Dr. Şemsettin KULAÇ

July 2023, 60 pages

Mushrooms in the genus *Morchella* are known as 'Morels Mushroom' in our country. Morel Mushrooms are medicinal, gastronomically and economically important macrofungi. In our study, the cytotoxicity, anticarcinogen and antimicrobial effects of methanol extracts of *Morchella importuna* and its cultured mycelium were investigated in vitro. Cultured mycelium was produced from natural fungus by tissue culture technique. The cytotoxicity study of the samples was performed on the L-929 mouse fibroblast cell line with the WST-1 protocol. The anticarcinogen effect was studied in a cell line isolated from the ovary of a 64-year-old female patient with the CCK-8 protocol. The antimicrobial effect of methanol extracts of *M. importuna* and its cultured mycelium was investigated using the disc diffusion method with selected test microorganisms. As a result of our study, methanol extracts obtained from *M. importuna* and its cultured mycelium did not show cytotoxic effect on L929 healthy mouse fibroblast cell line but showed toxic effect on ovarian cancer cell lines. In addition, the samples; It was determined that the SE1 extract had antimicrobial activity against all tested bacteria.

Keywords: *Morchella importuna*, cytotoxicity, anticarcinogen effect, antimicrobial effect

EXTENDED ABSTRACT

IN VITRO INVESTIGATION OF CYTOTOXICITY, ANTICARCINOGEN, ANTIMICROBIAL EFFECT OF NATURAL AND CULTURED MYCELIUMS OF *MORCHELLA IMPORTUNA* M. KUO, O'DONNELL & T.J. VOLK MUSHROOM

Selime Semra EROL

Düzce University

Graduate School, Department of Natural and Herbal Cosmetic Products

Doctoral Thesis

Supervisor: Assoc. Doç. Dr. Şemsettin KULAÇ

July 2023, 60 pages

1. INTRODUCTION

Mushrooms in the genus *Morchella* are known as 'Morels Mushroom' in our country. Morel Mushrooms are medicinal, gastronomically and economically important macrofungi. It is among the popular edible mushrooms in European countries. *M. importuna* is found in every region of Turkey, especially in the Aegean and Mediterranean Regions, it is very well known and collected. In this study, the cytotoxicity, anticarcinogenic and antimicrobial effects of natural morel mushroom and its cultured mycelium, which have ecological, pharmacological and commercial value, were investigated in vitro.

2. MATERIAL AND METHODS

Mushroom samples were collected from locations determined between April and June 2021. Morphological and molecular descriptions of the collected samples were made. Mycelium was produced by tissue culture technique from fresh mushroom samples defined as *Morchella importuna*. Extracts of mushroom samples and cultured mycelium were prepared for analysis. The cytotoxicity study of the samples was performed on the L-929 mouse fibroblast cell line with the WST-1 protocol. The anticarcinogen effect was studied in a cell line isolated from the ovary of a 64-year-old female patient with the CCK-8 protocol. The antimicrobial effect of methanol extracts of *M. importuna* and its cultured mycelium was investigated using the disc diffusion method with selected test microorganisms. The Two Way Anova statistical analysis

program was used to evaluate the antimicrobial effects of *M. importuna* and cultured mycelial extracts against test microorganisms.

3. RESULTS AND DISCUSSIONS

Samples collected from the field, brought to the laboratory and classified, were studied under a binocular microscope and stereo microscope, the microscopic data obtained were noted, and the samples were defined morphologically as *Morchella importuna* according to the available literature. Phylogenetic analyzes performed confirmed the close association of these specimens with *M. importuna* with a high branch bootstrapping rate. As a result, the samples used in the study were confirmed as *M. importuna* by making molecular and morphological taxonomy.

Escherichia coli, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter cloacae*, and *Klebsiella pneumonia* standard strains obtained from Düzce University Traditional and Complementary Medicine Research and Application Center Microbiology Laboratory were used for antimicrobial activity determination. Test microorganisms were inoculated into MHA and kept for 24 hours at a temperature suitable for the growth of microorganisms. Microorganisms kept at +4 degrees were activated and the number of microorganisms increased. 6 mm sterile blank paper antibiotic discs, prepared by absorbing 30 µl of SE1 and SE2 extracts, were placed in perties with 3 replications for each micro-organism. Agar plates were placed in the oven one by one and incubated at 35±1°C, normal atmosphere, for 24 hours. Zones of inhibition formed on agar plates were measured. The obtained data were analyzed using the SPSS statistical analysis program. The antimicrobial effects of *M. importuna* and cultured mycelial extracts against test microorganisms were evaluated with Two Way Anova. As a result, it was determined that extract (p=0,039), microorganism (p=0,000) and extract*microorganism (p=0,000) had a statistically significant difference on the inhibition zone diameter.

In our study, cytotoxicity of extracts obtained from native *M. importuna* and *M. importuna* cultured micelles in L929 Mouse Fibroblast cell line was demonstrated. From the concentrations tested for the L929 cell line in the study (1,25-200 ppm), it was understood that it did not inhibit cell viability, that is, both samples were not toxic at these doses. However, studies have not shown any mechanism related to cell proliferation. Our study is a pioneering study and it is needed in studies for the effect of *M. importuna* and its cultured micelles on cell proliferation.

According to the data obtained in our study with a cell line isolated from the ovary of a 64-year-old female patient, extracts obtained from *M. importuna* collected from nature and

mycelium produced by tissue culture technique caused the death of ovarian cancer cells used in the study.

In a study conducted with a peptide isolated from *M. importuna*, Xiong et al. showed that it causes death by affecting apoptosis-related pathways in cervical cancer cells. In our study, the mechanisms by which it causes death in the ovarian cancer cell line were not shown.

4. CONCLUSION AND OUTLOOK

In vitro studies showed that SE1 extract formed an inhibition zone of 10,00 mm against *S. aureus* bacteria, while SE2 formed more inhibition zones with a diameter of 13,33 mm. The growth of *E. cloacae* was caused by the SE1 and SE2 extracts, respectively, an inhibition zone of 14,00 mm and 13,33 mm. It was determined that SE2 extract did not inhibit the growth of *E.coli* and *K.pneumonia* bacteria, whereas SE1 extract formed an inhibition zone of 9,50 mm and 9,33 mm, respectively. When the inhibition zones were evaluated, it was determined that the SE1 extract had antimicrobial activity against all tested bacteria.

As a result of our study, extracts obtained from *M. importuna* and its cultured mycelium did not show cytotoxic effect on L929 healthy mouse fibroblast cell line, but showed toxic effect on ovarian cancer cell lines. In addition, the samples; It was determined that the SE1 extract had antimicrobial activity against all tested bacteria (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter cloacae*, and *Klebsiella pneumonia*). In our study, the mechanisms by which it causes death in the ovarian cancer cell line were not shown. Studies are needed to evaluate the effect of *M. importuna* extracts on apoptosis. Our study is a preliminary study.

Keywords: *Morchella importuna*, cytotoxicity, anticarcinogen effect, antimicrobial effect.

1. GİRİŞ

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün tanımına göre geleneksel tıp; “Fiziksel ve ruhsal hastalıkların önlenmesinde, teşhis edilmesinde, tedavi edilmesinde, sağlığın korunmasında ve iyileştirilmesinde farklı kültürlerle özgü teoriler, inançlar ve deneyimlere dayanan bilgi, beceri ve uygulamaların toplamı” şeklindedir[1] – [2]. Binlerce yıldır sağlıklı yaşamın sürdürülmesini sağlamak, hastalıkları önlemek ve tedavi etmek için kullanılan geleneksel tıp uygulamaları modern sağlık hizmetlerinin önemli bir parçasıdır [3]. Son yıllarda geleneksel ve tamamlayıcı tıp uygulamalarına yönelim hızla artmaktadır. Bunun temelinde doğal yaşam, doğaya dönüş, doğal ürünler ve uygulamalara olan ilginin artması yatmaktadır. Ülkemizde 27.10.2014 tarihinde T.C. Sağlık Bakanlığı tarafından yayınlanan “Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Uygulamaları” yönetmeliği ile tüm geleneksel tıp uygulamaları tanımlanmış ve yasal düzenlemeleri yapılarak kanıta dayalı olarak uygulamaları kontrol altına alınmıştır.

Dünyanın her yerinde insanlık tarihi boyunca uygulanan halk hekimliği tıbbi mantar, tıbbi bitkiler, probiyotikler, antibiyotikler vb. doğal ürünler; meditasyon ve akupunktur gibi zihin ve beden tıbbi; osteopati, sülük, hacamat, kupa vb fiziksel uygulamalar olarak üç ana kategoride toplanır [1]. Geleneksel tıp uygulamalarından doğal ürünler içerisinde yer alan mantarın insanoğlu tarafından besin ve ilaç olarak kullanımı insanlık tarihi kadar eskidir. Romalılar mantarları ilahi yiyecekler olarak tanımlar ve Jüpiter'in yeryüzüne fırlattığı şimşekler nedeni ile mantarların oluştuğunu düşünür iken, Mısırlılar mantarların tanrı Osiris'in insanlığa hediyesi olduğuna inanırlardı [4]. Asya ülkelerinde en eski halk hekimliği geleneklerinden olan tıbbi mantar kullanımı, Kuzey yarım kürede son yıllarda popüler hale gelmiştir. Dünya çapında 1991 yılında tıbbi mantarların pazar değeri 1,2 milyar dolar iken, 2011 bu rakam 5 kat artarak 6 milyar dolara yükselmiştir [5]. Bu rakamın hızla katlandığı düşünülmektedir. Günümüzde artan şehir hayatı, dengesiz beslenme, 2019 yılında yaşanan COVID-19 pandemisinin devam eden etkilerini azaltmak için alternatif doğal, besleyici, hastalıkları önleyici ve tedavi edici özelliklere sahip olan mantar gibi zengin besin kaynaklarını kullanmak için araştırmalar yapmak önem arz etmektedir[6].

Yapılan çalışmanın amacı geleneksel ve tamamlayıcı tıp uygulamalarında kullanılacak yeni bir doğal ürün üretimi için; ekolojik, farmakolojik ve ticari değere sahip doğal Kuzugöbeği mantarı ile bu mantarın kültürlenmiş misellerinin sitotoksiste, antikanserojen, antimikrobiyal etkisinin in vitro olarak incelenmesidir.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. TAKSONOMİK ÇALIŞMALAR

Mantarlar ilk çağlardan günümüze değerli besinsel içerikleri ve farmakolojik özellikler ile kullanılan fonksiyonel gıdalardır. Hem tıbbi özellikleri hem gastronomi değerleri nedeni ile son 30 yılda mantarlar üzerine birçok akademik çalışma yapılmıştır.

Ülkemizde mantarlar üzerine yapılmış ilk çalışma Rigler (1852) tarafından İstanbul ve yöresinden toplanan 17 tür ile yapılan taksonomi çalışmasıdır [7]. Bu tarihten sonra on yıllar içerisinde yapılan çalışmaların sayısı artmış ve Türkiye mikotasına yeni türler eklenerek devam etmiştir. Tchihatcheff (1860), “Asie Mineure 3” isimli eserinde 33 tür; Fritsch (1899), İstanbul çevresi ve Belgrad Ormanından 4 tür; Maire (1904), 56 tür; Handel-Mazzetti (1909), 44 tür; Zwara (1932), “Contribution A’la des Russules de l’Asie Mineure” isimli makalesinde Russulales ordosundan 14 tür; Albert Pilat 1931-1937 yılları arasında değişik lokasyonlarda 137 tür; Lohwag 1957-1965 yılları arasında 105 tür tespit etmiştir [8]. Son 50 yılda ülkemizde makrofungus çeşitliliği üzerine yapılan çalışmalar artmış ve makrofungus çeşitliliğinin belirlenmesi için önemli aşamalar kaydedilmiştir. Solak ve ark. (2007, 2015, 2022) Türkiye makrofungusları kontrol listesini yayınlamış ve ülkemizde yapılan çalışmalar sonucu yaklaşık olarak 3000 makrofungus türünün kayıtlara geçtiğini bildirmiştir[9]–[11].

Taksonomik çalışmalar ile ülkemizde belirlenmiş ve kayıt altına alınmış makromantarlar arasında ticari ve farmakolojik olarak önemli bir cins olan *Morchella* cinsine ait türler de yer almaktadır. Taşkın ve ark (2010, 2012) tarafından morfolojik, mikroskopik ve moleküler yöntemlerle *Morchella* cinsine ait 20 tür kayıt altına almıştır [12] - [13]. Işıloğlu ve ark. (2010) tarafından kayıt altına alınan *M. anatolica* ile ülkemizde *Morchella* cinsi içerisinde bulunan 21 türün varlığı belgelenmiştir [14].

2.2. MANTAR ÜRETİMİ

Ülkemizde doğal mantarların toplanması ticari olarak satılması ve yenilmesi çok eski tarihlere dayanır ancak; kültür mantarı üretimi ve üretim çalışmaları oldukça yenidir [15]. Uzak doğuda tıbbi özelliklerinden dolayı 2000 yılı aşkın bir süredir yapılan mantar üretimi, Avrupa’da ikinci Dünya Savaşı sonrası yaygın hale gelmiştir. Eren ve Pekşen (2019) ülkemizde kültür mantarı

üretiminin 1960'lı yıllarda başladığını bildirmiştir [15]Yalçın ve ark. (2020) yaptıkları bir çalışmada Dünya çapında 35 mantar türünün ticari ve endüstriyel olarak kültürünün yapıldığını; kültürü yapılan ve endüstriyel olarak en fazla kullanılan türlerin; *Agaricus spp.*, *Pleurotus spp.* ve *Lentinus edodes* olduğunu bildirilmiştir [16]. Eren ve Pekşen, ülkemizde 1980'li yıllarda kültür mantarı üretiminin çoğunlukla küçük aile işletmelerinde yapıldığını ve günümüzde üretimin yaklaşık %35'lik bölümü yüksek kapasiteli modern üretim tesislerinde gerçekleştiğini bildirmiştir [15] .

Kuzugöbeği mantarının kültürü ile yapılmış ilk çalışma Ower ve ark. (1982) tarafından yapılan ve patent alınan çalışmadır [17]. Zhao ve ark, kuzugöbeği mantarı için ilk başarılı üretimin 2002 yılında yapıldığını ve ilk ticari üretimin ise 2004 yılında Yunnan Eyaletinde 33 hektarlık bir alanda gerçekleştirildiğini bildirilmiştir [18]. Ülkemizde kuzugöbeği mantarının ilk pilot üretimi 2022 yılında yapılmıştır [19]

2.3. ANTİMİKROBİYAL ETKİ VE ANTİKANSEROJEN ÇALIŞMALAR

2.3.1. Antimikrobiyal Etki

Eren ve Pekşen (2016) beslenmede; toplum bilincinin gelişmesi kaliteli ve yüksek protein, mineral ve vitamin kaynağı olan mantarlara beslenmede tercih edilmesine neden olduğunu bildirmiştir [15]. Wasser (2011), mantarların modern tıp için bağışıklık sistemini güçlendirici ve antikanserojen etkili polisakkarit ve protein komplekslerini içerdiğini raporlamıştır [20] Çoban (2000) yaptığı çalışmada *Morchella conica* mantarından hazırlanan ekstrenin Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerde antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu ancak mayalara karşı etkili olmadığını bildirilmiştir[21]. Duman ve ark. (2003), *M. conica* mantarının kloroform ekstresinin *S. lutea*, etanol ekstresinin *S. salivarius* üzerine antimikrobiyal etkisi olduğunu ancak diğer ekstrelerin test mikroorganizmalarının (*Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Salmonella thyphimurium*, *Salmonella thyphimurium*, *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus faecalis*, *Streptococcus mutans*) hiç birine karşı dikkate değer bir antimikrobiyal aktivite göstermediğini bildirmiştir [22]. Türkoğlu ve ark. (2006), yaptıkları çalışmada *M. conica* etanol ekstraktının gram-pozitif bakteri, gram-negatif bakteri türleri üzerinde antimikrobiyal etki gösterdiğini tespit etmişlerdir [23] Işık (2008) yaptığı çalışmada *M. conica* mantarı ekstrelerinin *P. vulgaris*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. enteritidis* antimikrobiyal aktivitesi olduğunu, *M. esculenta* mantarının tüm ekstrelerinin *P. vulgaris* ve *S. enteritidis* üzerine antimikrobiyal aktivitesinin olduğunu bildirmiştir[24]. Kalyoncu ve ark. (2010) yaptıkları bir çalışmada

Akdeniz bölgesinden *M. esculenta* var. *vulgaris* mantarının da aralarında bulunduğu 21 farklı doğal mantar örneği toplamış ve bu mantarlara ait misellerin etanol ekstraksiyonunu gerçekleştirmişlerdir. Çalışmanın verilerine göre *M. esculata* var. *vulgaris* agar kuyucuk metodu ile oluşturduğu antimikrobiyal zon çapının *S. aureus* için 8 mm, *C. albicans* için 10 mm olduğu raporlanmıştır [25].

2.3.2. Antikanserojen Etki:

Doğal ürünler ve tıbbi mantarlar kanser tedavisinde dikkat çeken farmasötik özelliklere sahiptir [26] 2003 yılında Japonya’da mide kanseri tanılı 149 hasta ile 287 kontrol grubu ve kolorektal kanser tanılı 115 hasta ile 230 kontrol grubu ile yapılan çalışmalarda mantar tüketimindeki artışın mide kanseri riskini azalttığı ancak kolorektal kanser riskiyle ilişkisinin bulunmadığı bildirilmiştir [27] Hong ve ark. (2008) yaptıkları epidemiyolojik bir çalışmada, meme kanseri tanılı kadınlarda mantar yeme sıklığı ortalamasının, meme kanseri görülme riskiyle ters orantılı olduğunu ve bu ilişkinin menopoz sonrası kadınlarda anlamlı olduğunu bulmuştur [28]. Wenner ve ark. (2012) in vitro çalışmalarda da çeşitli mantarlar ve mantar ekstraktlarının prostat kanser hücresi proliferasyonunu önlediğini raporlamıştır[29]. Xiong ve ark. (2016) *M. importuna* gövdesinden elde edilen polisakkaritin (MIP), oksidatif stresi iyileştirerek H₂O₂ tarafından indüklenen PC12 hücre apoptozunu inhibe ettiğini rapor etmiştir [30] Açıy (2018) PC-3 hücre hattı ile yaptığı çalışmada *M. esculenta* etilasetat eksraktının 550 µg/ml konsantrasyon (99,82 % inhibisyon) ve IC₅₀ 264.33 (µg/ml) değeri ile PC-3 hücre hattına karşı önemli inhibisyon etkisi gösterdiğini bildirmiştir[31]. Xiong ve ark (2021) tarafından yapılan başka bir çalışmada *M. importuna* mantarının fruktifikasyon yapısından elde edilen 8 amino asitten oluşan MIPP polipeptidinin HeLa hücrelerinin canlılığını doza bağlı olarak azalttığını ortaya koymuştur [32]. Haq ve ark. (2022) yaptıkları in vitro çalışmada *M. delicosa* mantarının etanolik ve metanolik ekstraktta kolon kanseri hücrelerinin doza bağlı inhibisyonunu göstermiştir [33].

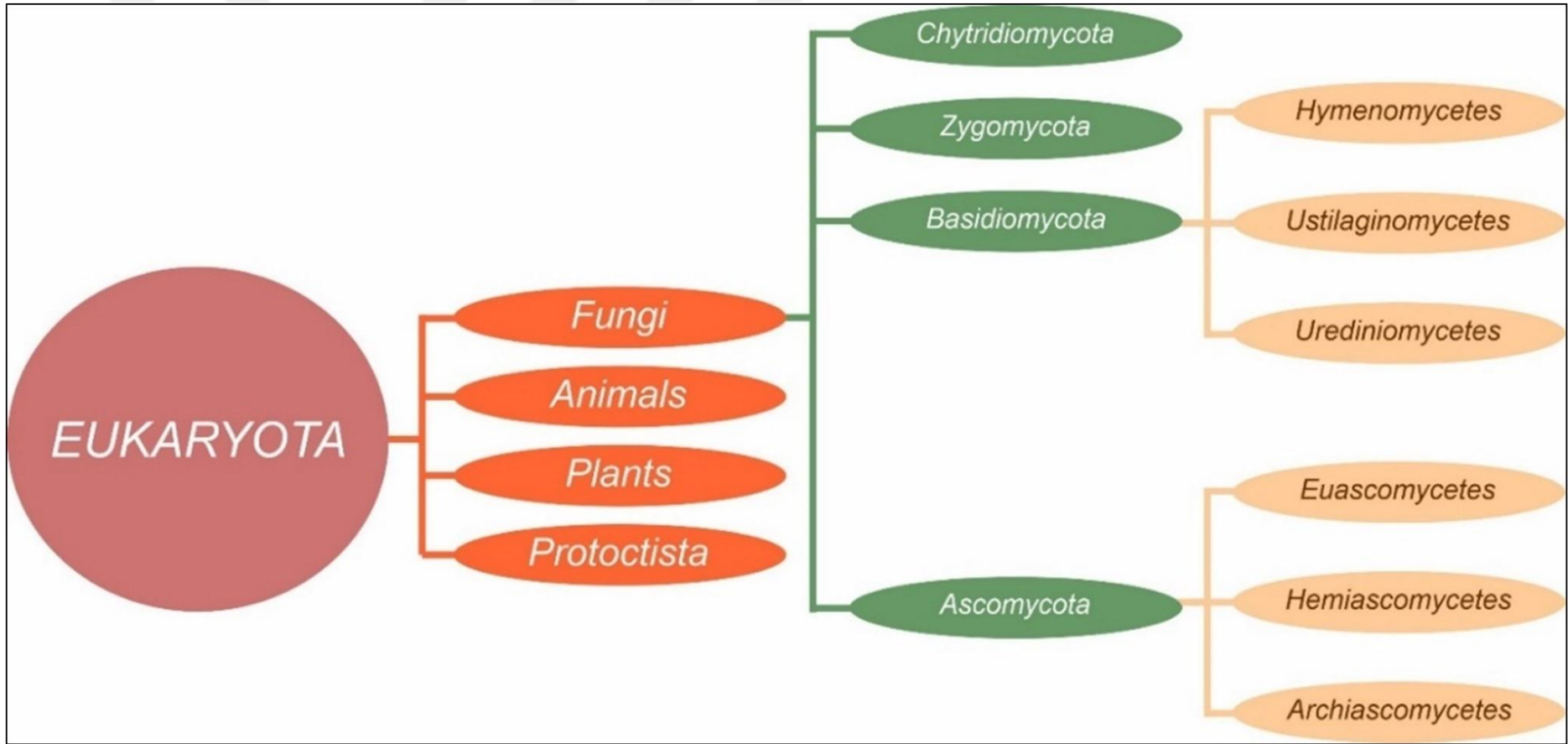
3. GENEL BİLGİLER

3.1. MAKROMANTARLAR

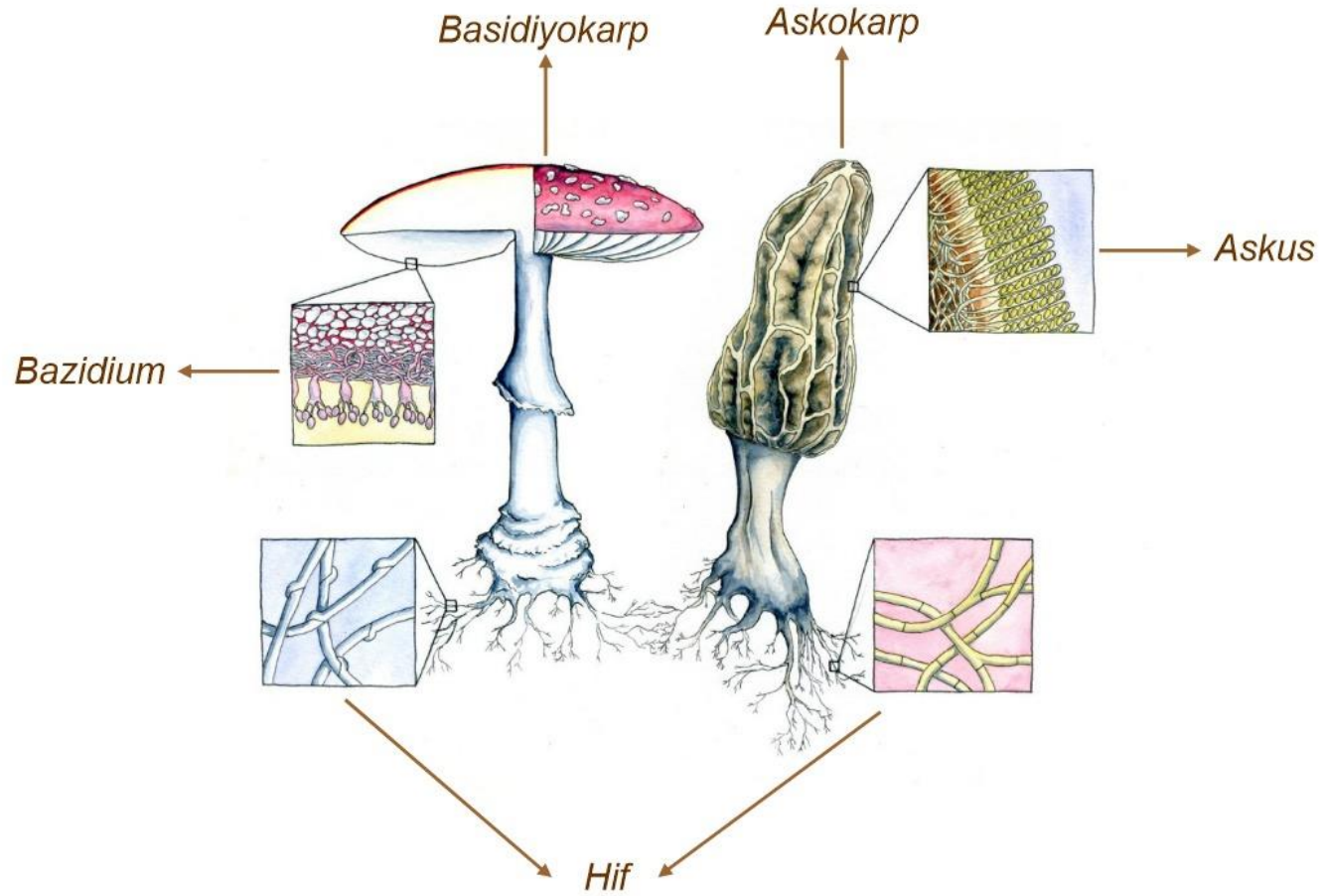
Yeryüzünde yaklaşık olarak 1,5 milyon mantar türü olduğu tahmin edilmekte [34] ancak son 30 yılda yapılan çalışmalar bu tahminin daha da artabileceğini göstermektedir.

Mantarlar alemi, Chytridiomycota, Zygomycota, Ascomycota (keseli mantarlar) ve Basidiomycota olmak üzere dört ana bölüm içerir. Bunlar arasında, Basidiomycota ve Ascomycota bölümleri genellikle gözle görülebilen makromantarları içerir [1].

Makromantarlar; klorofil pigmenti içermeyen, parazit, simbiyotik ya da saprofit yaşam döngüsüne sahip olan [35], ökaryot hücre yapısında tek hücreli ya da çok hücreli, yüksek yapıli organizmalardır. ‘Hif’ olarak adlandırılan fungus hücreleri silindirik bir yapıdadır. Hifler mitoz bölünmeler geçirerek misel ve miselyumları oluşturur. Fungusların ana gövdesi bu miselyum yapılarından oluşur. Yaygın olarak kullanılan ‘‘Mantar’’ terimi ise substrat olarak nitelendirilen çürümüş dal, yaprak, ağaç ya da kompost üzerinde dağınık halde gelişen misel adı verilen hif yığınlarının yoğunlaşması ile oluşan fruktifikasyon yapısını ifade eder [8],[36]-[37].



Şekil 3.1. Ökaryot hücre yapısına sahip Alemler, Fungi 4 bölümü, Askomisetler ve Basidiyomisetler (Aime & Toome, n.d.).



Şekil 3.2. Askokarp, Askus, Basidiyokarp, Bazidium, Fungal Hif [38].

Makrofunguslar; saprofit yaşam döngüleri ile besin ağının her trofik düzeyinde hayati rol oynar. Makrofunguslar heteretrof organizmalardır, metabolizmaları için gerekli olan enerjiyi karşılamak için ölü ya da canlı çeşitli organizmalar ile etkileşim kurarlar. Makrofunguslar, heterotrof beslenen organizmalar olmalarına rağmen hayvanlardan farklı olarak holozoik beslenmezler, güçlü hidrolik enzimlerini vücutlarının dışına gönderir; ortamdaki makro molekülleri parçalar ve monomerler halinde absorbe ederek beslenirler. Bu tarz beslenme saprofit beslenme olarak adlandırılır [39]. Büyük çoğunluğu saprofit beslenme özellikleri sayesinde ölü hayvansal ya da bitkisel maddeleri daha küçük birimlerine ayırır ve ekosistemin diğer üyeleri tarafından kullanılmaya uygun hale getirir [8].

Mikorhiza; bazı makrofunguslarla yüksek yapılı bitkiler arasındaki özel simbiyotik ilişkidir ve mikorhiza yüksek yapılı bitkiler için hayati önem arz eder. Bitki köklerinin ulaşamadığı geniş bir yüzeye ulaşabilen miselyum; simbiyotik ilişki kurduğu bitkinin su ve mineralleri absorblanması için geniş bir yüzey alanı oluşturur. 3 metrelik bir hif bir kökün her santimi boyunca uzanabilir [39], bu sayede bitkinin kök yapısı tek başına ulaşabileceğinden çok daha fazla alana ulaşabilir. Yaşam şekilleri ve diğer organizmalar ile olan ilişkileri makrofungusları ekosistem için oldukça değerli kılar.

Makromantarların insanların dikkatini çekmesi, lezzetli bir gıda olmaları kadar zehirli türlerin neden olduğu zehirlenme ve ölümler sonucu olmuştur [40]. Tarihi kaynaklarda mantarların sadece geleneksel tedavilerde tıbbi özellikleri için ya da besin olarak kullanılmadığını ortaya koymaktadır. Tarihi değiştiren büyük suikastlarda zehirli mantarlar kullanılmıştır; II. Claudius ve Papa VII. Clement'in, Köygöçüren adı ile tanınan, ölümcül *Amanita phalloides* (Vaill ex Fr.) Link ile zehirlenerek öldürüldüğü bilinmektedir [41]. Mantarlar, antik çağlardan günümüze kadar tat, aroma ve lezzetleri ile tercih edilen bir gıda; tıbbi ve halüsinojenik etkileri ile de halk hekimliğinin geleneksel ilaçları olmayı başarmıştır. Mantarların gıda, ilaç, zehir ve keyif verici madde olarak hatta dinsel ritüellerde kullanımı Paleolitik çağlara kadar uzanır [1].

Canlıların ortak özelliği ve en temel ihtiyacı olan beslenme; hızlı artan nüfus, iklimsel değişiklikler ve kuraklığın da etkisi ile her geçen gün önemi artarak devam eden ekolojik ve ticari sorunlar arasında ilk sıralarda yer alır. 1939'dan 1945'e kadar süren II. Dünya savaşı sırasında görülen besin kıtlığı makrofungusları alternatif besin tercihi haline getirmiştir. Bu tarihten sonra gıda olarak değeri daha iyi anlaşılan makrofunguslar yemeklik olarak kullanılmaya başlanmıştır [8]. Dünyada 1945 ve sonrasında makrofungusların besin değeri ve tıbbi özellikleri üzerine yapılan çalışma sayısı hızla ve artarak devam etmektedir.

Günümüzde Beyaz Şapkalı Mantar (*Agaricus spp.*) başta olmak üzere birçok mantar türü üretilmektedir. Dünyada kültürü yapılan başlıca mantarlar *Agaricus spp.* (Beyaz Şapkalı Mantar), *Agrocybe aegerita* (Kavak Mantarı), *Auricularia polytricha* (Kulak Mantarı), *Flammulina velutipes* (Kış Mantarı –Enoki), *Ganoderma lucidium* (Reishi), *Grifola frondosa* (Maitake), *Hericium erinaceus* (Aslan Yelesi), *Lentinula edodes* (Shiitake), *Pleurotus spp.* (İstiridye Mantarı), *Volvariella volvacea* (Saman Mantarı)’dır [42]. Doğadan mantar avcıları tarafından toplanan başlıca mantarlar Sezar Mantarı (*Amanita caesarea*), Porçini (*Boletus spp.*), Kuzu Göbeği (*Morchella spp.*), Trüf (*Truffle spp.*), Sarıkız (*Chantherellus cibarus*), Kanlıca (*Lactarius spp.*)’dır Kültürü yapılan veya doğadan toplanan mantarlar; yöresel pazarlarda ve büyük marketlerin reyonlarında yerini almış ve hatta değişik internet sitelerinde pazarlanmaya başlamıştır. Doğal olarak yetişen 2 000 ile 5 000 arasında yenilebilir makromantar türü vardır. Ancak sadece 30 türün kültürü yapılmaktadır [43, 44]. Dünyada en fazla kültürü yapılan türler; *Agaricus spp.*, *Pleurotus spp.*, *Lentinus edodes*, *Volvariella volvacea*, *Auricularia spp.*’dir. Mantarların; içerdiği farmakolojik olarak değerli biyoaktif bileşenler, nutrisyonel içerikleri, kısa yaşam döngüleri, hızlı metabolik aktiviteleri nedeniyle üretimlerinin düşük maliyetle olabilmesi ve tarımsal-endüstriyel atıklar üzerinde üreyerek düşük karbon salınımlı üretimleri nedeniyle, dünyanın birçok ülkesinde kültür mantarı üretimi teşvik edilmektedir [45]. Ülkemizde 1800’li yılların ortasında taksonomik araştırmalar olarak başlayan makrofungus çalışmaları 2000’li yıllarda çeşitlenerek devam etmiştir. Son 20 yılda ülkemiz mikotasının belirlenmesi üzerine yapılan çalışmalar ile makrofungusların tıbbi özellikleri (antimikrobiyal, antitümör, antifungal) ve nutrisyonel etkileri üzerine yapılan çalışmaların da artarak devam etmiştir; ancak ülkemizde makrofungusların ekonomik değeri, üretim teknikleri ve tıbbi özellikleri üzerine yapılan çalışmaların yeterli olmadığı görülmektedir. Ülkemizde *Tuber sp.* (Trüf), *Hydnum rapandum* (Sığır Dili), *Morchella sp.* (Kuzu Göbeği), *Suillus collinitus* (Bolet), *Cantharellus cibarius* (Sarıkız Mantarı), *Craterellus cornucopioides* (Borazan Mantarı), *Amanita caesarea* (İmparator Mantarı, Yumurta Mantarı), *Pleurotus cornucopiae* (Kavak Mantarı), *Lactarius sp.* (Çam Mantarı, Melki, Kanlıca) türleri mevsiminde taze olarak toplanır iç pazarda tüketilir ya da ihracatçı firmalara satılır. Ancak ekonomik olarak değerli bu türleri kültürleri yapılamamakta ya da klasik yöntemlerin eksik tarafları nedeni ile yaygın olarak yapılmamaktadır. Makrofunguslar Avrupa’da ilk defa 16. yüzyılda Fransa’da kültüre alınmıştır *Agaricus*, *Agrocybe*, *Flammulina*, *Hypholoma*, *Kuehneromyces*, *Lentinus*, *Macrolepiota*, *Pholiota*, *Pleurotus* ve *Tuber* cinslerine ait türlerin Amerika, Avrupa ülkeleri ile Çin ve Japonya gibi uzak doğu ülkelerinde kültürü yapılmakta olup, bu ülkelerde kültür mantarcılığı bir endüstri kolu haline gelmiştir [40].

3.2. TIBBİ MANTARLAR

Mantarların; Çin, Mısır, Roma ve Yunan uygarlıklarında binlerce yıldır halk hekimliğinde çeşitli şekillerde kullanıldıkları bilinmektedir. Ancak batı tıbbında 1990 ve sonrasında kullanımı artmıştır. Mantarlar teröaptik özelliğe sahip birçok kompleks molekül içerirler [42]. Bu moleküllerin; homeostatik dengenin korunmasında, biyoritmin düzenlenmesinde, kalp hastalıkları, inme, kanser, AIDS vb. hastalıkların tedavisinde etkili olduğu bilinmektedir [46]. Pakistan’da yapılan bir çalışmada kuzugöbeği mantarının, kolon kanseri hücre hatlarında antikanserojen aktivitesi gözlenmiştir ve ekstraktlarda anti-tümör etkilere sahip olan biyoaktif bileşikler başlıca amino asitler, yağ asitleri, steroller, flavonoidler ve fenolik asitler olarak bildirilmiştir [47]. Yapılan akademik çalışmalar mantarların içerdiği biyoaktif moleküllerin 130’dan fazla antikanser, antimikrobiyal, antiviral, antioksidan, immün sistem uyarıcı, antioksidan, kolesterol düşürücü, detoksik vb. farmakolojik fonksiyona sahip olduğunu göstermektedir [48]. Reishi Mantarı olarak bilinen; *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. Uzakdoğu Geleneksel Tıbbi’nda binlerce yıl uzun ve sağlıklı yaşam, hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde kullanılmıştır. Kanser, karaciğer hastalıkları, bronşit, prostat gibi rahatsızlıkların tedavisinde geleneksel halk ilacı olarak kullanılmıştır [49]. Ayrıca *Morchella* türlerinin Geleneksel Çin tıbbında balgam söktürücü, hazımsızlık giderici ve nefes darlığı tedavisinde de kullanıldığı bilinmektedir [50]. Yöresel olarak, kulak mantarı ya da orman kulağı, olarak bilinen *Auricularia auricula-judae* (Bull.) Quél.’in kan pıhtılaşmasını önleyici etkisi, puf mantarları olarak bilinen *Lycoperdon* Pers. cinsi içerisinde bulunan bazı mantarların ve bazı *Polyporus* P. Micheli ex Adans. türlerinin, kadim topluluklarda ebeler tarafından yeni doğmuş bebeklerin göbek bağı kanamalarında ve burun kanamalarında kullanıldığı bilinmektedir. Ayrıca *Laricifomes officinalis* (Vill.) Kotl. & Pouzar’ın bebeği süten kesme zamanında annenin süt salgılanmasını kontrol etmek ve anneyi rahatlatmak için; sütlü mantarlar ailesinden *Lactarius piperatus* (L.) Pers.’in sütünün viral siğilleri tedavi etmek için kullanıldığı çeşitli kaynaklarda bildirilmiştir [28] *Geastrum triplex*; yakıcı, detoksik, boğaz ve akciğerleri güçlendirici , olarak kullanıldığı bilinmektedir [8]. Enoki Mantarı olarak bilinen *Flammulina velutipes* (Curtis) P. Karst.’in antikanser aktivitesi, tromboz inhibisyonu, hipolipidemik, antihipertansif etkisi, antioksidan özelliği, immün sistemi uyarıcı etkisi ve anti-bakteriyel aktivitesi akademik çalışmalar ile gösterilmiştir [51]. Zombi Mantar olarak tanınan ve Arthropoda (eklembacaklılarda) parazit olarak yaşayan *Cordyceps sinensis* mantarının karaciğer iltihaplanmasını engellediği ve sirozun gelişmesini geciktirebildiği bulunmuştur [42], [52]

3.2.1. Kuzugöbeği Mantarı (*Morchella* spp.)

3.2.1.1. Kuzugöbeği Mantarı İsimlendirilmesi

Morchella cinsine ait türler lezzeti ve aroması nedeni ile dünya mutfaklarında en çok tercih edilen mantarlar arasında yer alır. Gastronomik ve ekonomik olarak değerli olan bu mantar her ülkede farklı isim ile bilinmektedir. Ülkemizde Kuzugöbeği/göbelek, Japonya’da amigasa-take/benikoji, İspanya’da colmenilla, Almanya’da halbfrei morchel, Hollanda’da morielje, Meksika’da morilla, Fransa’da morille, İsviçre’de toppmurkla, Polonya’da smardz, Çek Cumhuriyeti’nde smrž, İtalya’da spugnola isimleri verilmektedir [53].

3.2.1.2. Kuzugöbeği Mantarı Taksonomisi

Kuzugöbeği mantarları; *Fungi* alemi, *Ascomycota* şubesi, *Pezizomycetes* sınıfı, *Pezizales* takımı içerisinde yer alan *Morchellaceae* familyası *Morchella* cinsi türleri olarak tanımlanır [54]. Index Fungorum’a göre *Morchella* cinsinin geçerli ismi ve sinonimleri aşağıda verilmiştir.

Geçerli isim:

Morchella Dill. ex Pers., Neues Mag. Bot. 1: 116 (1794)

Sinonimler:

Boletus Tourn. ex Adans., Fam. Pl. 2: 9 (1763)

Boletus Tourn., Éléments de botanique ou methode pour connaître les plantes: 440 (1694)

Eromitra Lév., in Orbigny, Dict. Univ. Hist. Nat. 8: 490 (1846)

Mitrophora Lév., Annls Sci. Nat., Bot., sér. 3 5: 249 (1846)

Morchella sect. *Mitrophorae* (Lév.) S. Imai, Bot. Mag., Tokyo 46: 174 (1932)

Morilla Quél., Enchir. fung. (Paris): 270 (1886)

Phalloboletus Adans., Fam. Pl. 2: 9 (1763) [55]

3.2.1.3. Kuzugöbeği Mantarının Tanımı

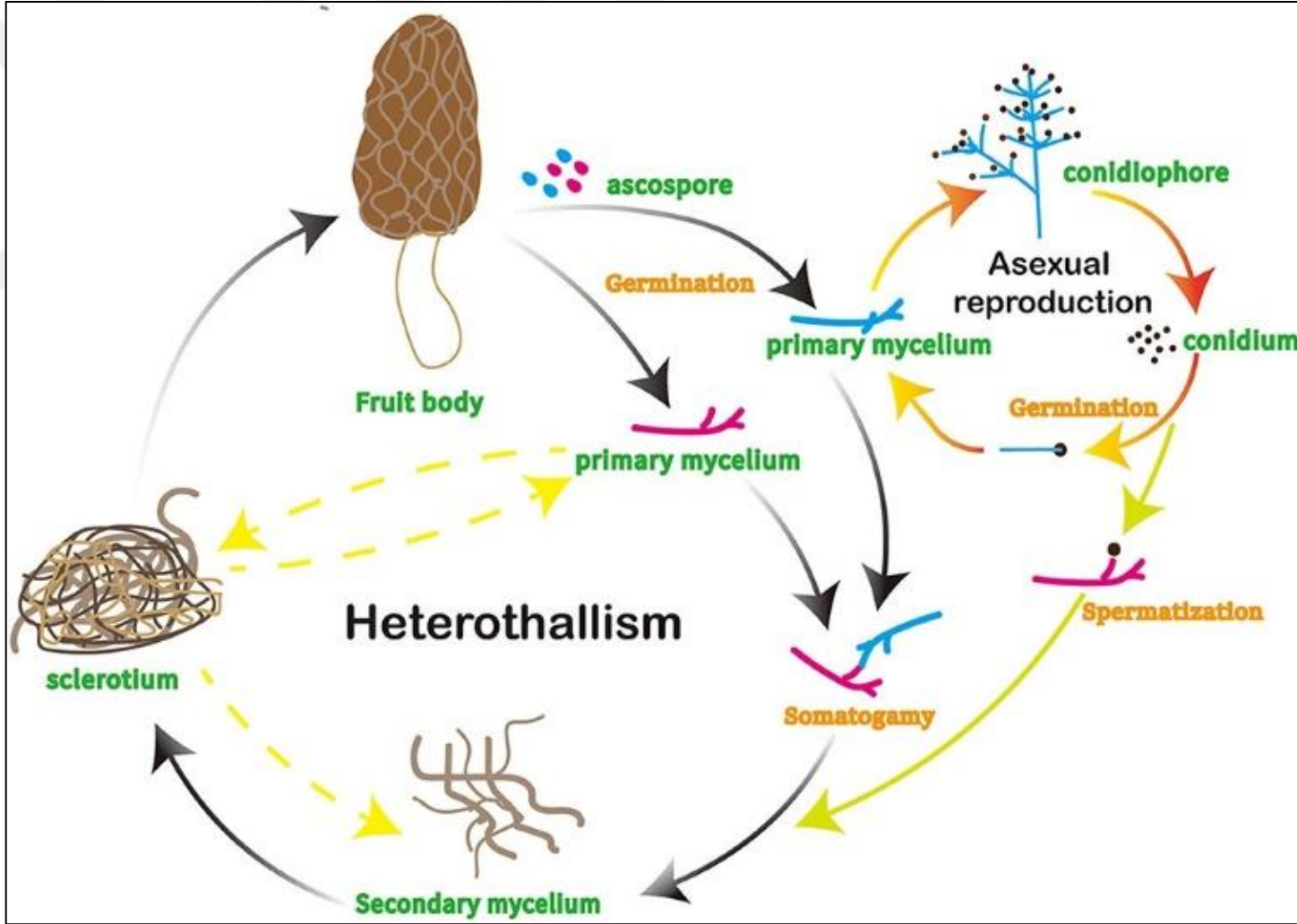
Morchellecea familyası içerisinde yer alan *Morchella* cinsi içerisinde yer alan mantar türleri; ülkemizde Kuzugöbeği mantarı olarak tanınır ve *Morchella* cinsi içerisinde yer alan tüm türler yenilebilir mantarlardır [50]. Cinse ait mantarlarda askokarp; tipik olarak büyük, etli, süngerimsi yapıda, bal peteği görünümündedir[14]. Askokarp rengi türe göre değişmekle beraber, aynı tür içerisinde olgunluğun ilerlemesi ile renk değişimi gözlenebilir. Genel olarak; genç örneklerde sarı ya da kahverengimsi sarı olan şapka rengi yaşlı örneklerde koyu kahverengi ve tonlarına değişmektedir. Tüm askokarp yüzeyini saran girintili çıkıntılı alveoller

vardır. Askokarp şekli türe özgü olarak yuvarlaktan koni şekline kadar değişir. Üreme hücresi olan askosporlar; askus olarak tanımlanan uzun silindir şeklinde keseler içerisinde. Askosporlar; oval, renksiz ve büyüktür. Olgun askosporların içerisinde 8 adet çekirdek görünür [17]. Beyaz ya da beyazımsı olan sap kalın ve içi boştur.

3.2.1.4. Kuzugöbeği Mantarının Yaşam Döngüsü

Fruktifikasyon yapısı *Morchella* cinsi mantarların yaşam döngüsünün en çok bilinen ve dikkat çeken evresidir. Apothecia, oval ya da konik süngerimsi yüzeyin tamamında düzenlenmiştir. Bu askosporların etkili bir şekilde yayılmasını sağlar. Primordium, beyaz renkte parmaklı çıkıntılar şeklinde küçük bir kütledir, hymeniumun üstünde farklılaşır, primordium büyüdükçe olgun fruktifikasyon yapısını oluşturmak için pigmentasyon ve büyüme gerçekleşir [56]





Şekil 3.3. Kuzugöbeği Mantarının Yaşam Döngüsü [56].

3.2.1.5. Kuzugöbeği Mantarının Ekolojik İstekleri

Kuzugöbeği, Kuzey Yarımküre’ de yer alan ılıman iklime sahip ülkelerde yetişir, geniş bir yayılıma sahip olan mantar çevresel koşullara adapte olabilme özelliğine sahiptir [54]. Kuzugöbeği mantarının saprofit mi, mikorhizal mı olduğu konusunda değişik görüşler mevcuttur. Mantarın yangın sahalarında ve meyve bahçelerinde bulunması saprofit olduğu görüşünü destekler, ekolojik olarak canlı ağaçlar ile olan ilişkileri ise mikorhizal yaşam tarzında olduğunu desteklemektedir. Bilim insanları arasında kabul edilen yaygın görüş ise cins içerisindeki mantarların türe göre değişkenlik gösterdiği ve hem saprofit hem mikorhizal olduğudur [13], [17]. Pilz ve ark. (2007) yayınladıkları bir derleme makalede kuzugöbeği mantarının habitatını; yanmış ormanlık alanlar, dere vadileri, sel sonrası oluşan düzlük alanlar, odun talaşının bulunduğu alanlar, tarlalar, kumullar, elma bahçeleri, humusun bol olduğu kompost, çöplük vb. çok geniş alanlar olarak tanımlamıştır [57]. Lui ve ark. (2018) yayınladıkları bir derleme çalışmasında; *M. tomentosa*, *M. sextelata*, *M. eximia*, *M. septimelata* olmak üzere dört kuzugöbeği türünü zorunlu olarak yangın sahalarına adapte olmuş türler olarak tanımlamıştır. Ayrıca yanmış alanlardan toplanmış olan *M. exuberans* ve *M. Importuna* türlerini ise zorunlu olmayan yangın sahası türler olarak belirtmiştir. Weber (1988), odun talaşı kullanılmış peyzaj alanlarında, kumluk arazilerde, organik çöp ve atıkların depolandığı yerlerde kuzugöbeği mantarının yetiştiğinden bahsetmiştir [58]. Jacquetant (1984), kuzugöbeği mantarlarını sürekli gelişim ve gelişigüzel gelişim gösteren moreller olarak 2 kategoride incelemiştir [59].

a. Yetiştirme Alanları Sürekli Olan Mantarlar

Her yıl aynı zaman diliminde ve aynı lokasyonda oluşma eğilimindedirler. Ülkemizde sürekli gelişim gösteren kuzugöbeği mantarının çıktığı alanlar toplayıcılar tarafından “ocak” olarak adlandırılır.

b. Yetiştirme Alanları Gelişigüzel Olan Mantarlar

Bir veya iki mevsim boyunca büyük miktarlarda ürün verimi olan sonra mantar oluşumu hiç gözlenmeyen alanlarda gelişim gösteren mantarlar için kullanılmıştır [54], [58]-[59].

Yapılan çalışmada, çam ormanlarından, elma-armut bahçesinden, yanmış alanlardan ve solucan gübresi üretilen alandan toplanan kuzugöbeği örnekleri mevcuttur.

Ülkemizde; *Abies*, *Pinus*, *Juniperus*, *Quercus*, *Castanea*, *Cedrus* ormanlarında ve yangın sahalarında kuzugöbeği mantarı bulunmuştur [13]. Kuzugöbeği mantarının fruktifikasyon verebilmesi için karasal iklimin hakim olduğu bölgelerde karın erimesi, havanın nemli olması

ve toprak ısısının artması gerekmektedir. Bu nedenle ülkemizde kuzugöbeği mantarı yükselti ve iklimsel özelliklere göre Mart-Haziran aylarında oluşmaktadır. Ege ve Akdeniz Bölge'lerinde genellikle Mart-Nisan aylarında; Marmara Bölgesi, Karadeniz Bölgesi, Güneydoğu Anadolu Bölgesi ve Doğu Anadolu Bölgeleri'nde ise Mayıs-Haziran aylarında oluşmaktadır [17].

3.2.1.6. Kuzugöbeği Mantarının Ekonomik Değeri

Köppen-Geiger iklim sınıflandırmasına göre Türkiye'de üç ana iklim tipi içerisinde 10 alt iklim tipi tespit edilmiştir [60]. Bu nedenle ülkemiz doğal kaynaklar açısından oldukça zengindir. Doğada kendiliğinden çıkan mantarlar da doğal kaynaklarımız arasında yer alır. Her yıl mevsiminde ormanlarda, çayırlarda ya da toprak içinde bulunan (Trüf vb.) mantar türleri köylüler / toplayıcılar tarafından toplanır pazarlarda ya da ihracat ürünü olarak ihracatçı firmalara satılır [61]. Ülkemizde yemeklik olarak toplanan yaklaşık olarak 40 mantar türü bulunmaktadır. Bu türlerden yirmi beş civarı tür ekonomik olarak değerlidir [62]. Önemli bir ihracat ürünü olan kuzugöbeği mantarı bu türler arasında ilk sıralarda yer alır. Türkiye Kuzugöbeği gelişimi için uygun ekolojik ve iklimsel özelliklere sahiptir. Kuzugöbeği mantarının ülkemizin hemen hemen her bölgesinde bulunması nedeniyle Türkiye önemli bir ihracatçı ülkedir [17] Ülkemizde her yıl toplayıcılar tarafından, doğadan toplanan kuzugöbeği mantarı ve diğer doğal mantarlar Fransa, İsviçre, Almanya, İngiltere, Belçika, Hollanda, Lüksemburg, Avusturya, İspanya, İsveç ve Norveç gibi ülkelere ihracat edilmektedir [62]. Çin'de ortalama 160 Amerikan Doları /kilogram fiyatla satılan kuzugöbeği mantarı yıllık ihracatı son 5 yılda kurutulmuş kuzugöbeği mantarı ihracatı 181 000 kilogramdan 900 000 kilograma çıkmıştır. Bu rakamlar küresel olarak kuzugöbeği mantarının ticari değerini ortaya koymaktadır [19]. Bu mantar ülkemizde, Akdeniz, Ege Bölgeleri'nin hemen hemen tüm illerinde ve Doğu Anadolu'nun bazı illerinde çok iyi tanınarak mevsiminde toplanır ve ticari olarak değerlendirilir. Yaygın olarak kuzugöbeği mantarı toplanan yerlerden birisi Bergama- Kozak Yaylası'dır. Burada nisan ayı sonundan mayıs ayı başına kadar kuzugöbeği mantarları yöre halkı tarafından toplanır. Toplanan mantarlar ihracatçı firmalar aracılığıyla taze ve kurutulmuş olarak ihracat edilip yöre halkına ve ülkemize bir gelir sağlamaktadır [61].

3.2.1.7. Türkiye'de Kuzugöbeği Mantarı Dağılımı

Taşkın ve ark (2010, 2012) tarafından Türkiye'de kuzugöbeği mantarının çeşitliliğini belirlemek için Adana, Mersin, Osmaniye, Antalya, Kahramanmaraş, Diyarbakır, Erzincan, Erzurum, Van, Kars, Sivas, Konya, Kayseri, Samsun, Kastamonu, Aydın, Denizli, Uşak, Yozgat, Çanakkale ve Muğla illerinden kuzugöbeği mantarı toplanmıştır. Ancak bu bölgeler dışında, ülkemizin daha

birçok yerinde kuzugöbeği mantarının bulunduğu bilinmektedir [12]-[13],[63].Taşkın ve ark (2010, 2012) morfolojik, mikroskopik ve moleküler yöntemlerle *Morchella* cinsine ait 20 türü kayıt altına almıştır [13]. Işiloğlu ve ark (2010) tarafından kayıt altına alınan *M. anatolica* ile *Morchella* cinsi içerisinde bulunan 21 kuzugöbeği türünün varlığı moleküler tanımlama yöntemleri ile belgelenmiştir. Bu veriler moleküler çalışmalar ile dünyada belirlenen sayının üçte birinden daha fazla türün ülkemiz için kayıt altına alındığını göstermektedir [64].





Şekil 3.4. Türkiye’de Kuzugöbeği Mantarı Dağılımı [63].

3.2.1.8. Kuzugöbeği Mantarının Tıbbi Özellikleri

Kuzugöbeği mantarının tıbbi özellikleri üzerine çok sayıda akademik çalışma yapılmıştır. Yapılan akademik çalışmalarda kuzugöbeği mantarının fruktifikasyon yapısının polisakkaritler, ergosterol türevleri ve mikrotetin gibi aktif farmakolojik bileşenler içerdiği [65]–[67]; antitümör, antimikrobiyal ve antioksidan özellikte olduğu gösterilmiştir [65]- [66]-[68]. Bu özellikleri ile kuzugöbeği mantarı ideal bir fonksiyonel besindir. Kuzugöbeği mantarları hoş aroması, gastronomik değeri ve az bulunması nedeniyle dünyanın en pahalı yenilebilir mantarları arasında ilk sıralarda yer alır. Özellikle Uzakdoğu’da hem besin hem de geleneksel bir ilaç olarak kullanılan kuzugöbeği mantarı; mide sorunları ve dispepsi, difteri ve nefes darlığı için geleneksel olarak kullanılmıştır [69]. *M. esculenta*, Çin geleneksel tıbbında karaciğer kanserlerini tedavi etmek için kullanılmıştır [70]. *Morchella* türleri, Geleneksel Çin tıbbında yaygın olarak kullanılmasının yanı sıra Japonya ve Malezya’da çeşitli hastalıkların tedavisi için kullanılmıştır, ayrıca *Morchella esculenta* tozu antiseptik görevi görür, yaraları iyileştirir ve mide ağrısının tedavisinde kullanılır [67] *Morchella esculenta* miselyumu antimikrobiyal özelliktedir [68]. Kalyoncu ve ark. yaptıkları bir çalışmada *M. esculenta* miselyumunun *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes* *Escherichia coli* ve *Enterobacter cloacae* 'a karşı antibakteriyel aktivitesini göstermiştir [71]. *Morchella esculenta* mantarından elde edilen polisakkaritlerin, kolon kanseri HT-29 hücrelerinin çoğalmasını ve büyümesini 48 saat içinde zamana ve doza bağlı bir şekilde engelleyebileceği kanıtlanmıştır [72] Nitha ve Janardhanan (2008) *M. esculenta* miselyumun sulu-etanol özütü ile yaptıkları çalışmada, mantar miselyum özütünün sisplatin ve gentamisin renel antioksidan sistemi güçlendirerek nefrotoksiteyi koruduğunu göstermiştir. Çalışma sonuçlarına ait bulgular *M. esculenta* miselyumunun nefroprotektif aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Ayrıca deneysel sonuçlar ekstraktın nefroprotektif aktivitesinin E vitamininin aktivitesi ile karşılaştırılabilir olduğunu ortaya koymaktadır [73]. *M. esculenta* mantarından yeni bir polisakkarit izole edilmiştir. İzole edilen bu polisakkarit MEP-II olarak adlandırılmış ve insan hepatoma hücre hattının (HepG2) proliferasyonunu apoptotik bir yolla inhibe ettiği bulunmuştur [74]. Pakistan’da *M. conica*, *M. esculenta* ve *M. delicosa* mantarlarının metanol ve etanol ekstraktlarının SW-480 kolon kanseri hücrelerine karşı farklı anti-proliferatif aktiviteler gösterdiği bildirilmiştir [67].

3.2.1.9. Kuzugöbeği Mantarının Kültürü:

Doğadan toplanan kuzugöbeği mantarı yıllık sıcaklık değişimleri, mevsimsel yağış miktarı vb. nedenlerle sınırlıdır. Ayrıca kuzugöbeği mantarın doğadan toplanması zordur. Tüm bu

nedenlerden dolayı kuzugöbeği mantarının kültürü her dönemde çok popüler bir araştırma konusu olmuştur. Kuzugöbeği kültürü ile ilgili ilk çalışmalar 130 yıl öncesine kadar uzanmaktadır [74]. 1982 yılında Ronald Ower tarafından yayınlanan özet çalışmada San Francisco State Üniversitesi'nde kuzugöbeği mantarının üretildiği bildirilmiş [75] ve kuzugöbeği üretimi ile ilgili ilk patent alınmıştır. Ower, patent başvurusundan sonra öldürülmüştür. Ower'in ölümünden sonra Gary Mills ve Jim Malachowski konu ile ilgili yeni teknikler geliştirmiş ve ilk patente ek olarak 1986 yılında 4594809 nolu iki patent daha almıştır. Miller 2005 yılında ağaç fidesine kuzugöbeği miseli aşıl原因arak mantarın fruktifikasyon yapısının gelişimini sağlamış ve 6907691 numaralı bir patenti almıştır [54]. Sklerotia, ekstrem koşullara dayanıklı, uzun süre canlılığını kaybetmeden uykuda kalabilen ve uygun koşullarda tekrar gelişimine devan eden bir yapıdır ve kültüre alınan diğer mantarlarda bulunmaz. Volk ve Leonard (1990), sklerotianın kuzugöbeği mantarının yaşam döngüsünde miselyum yapısını çimlendirmek için bir besin kaynağı olarak çalıştığını bildirmiştir. Bu nedenle Morel kültürü primordia meydana gelse bile gelişmeyebilir [76]. Ower ve ark. (1982) kuzugöbeği mantarı yetiştiriciliği için optimum nem, sıcaklık ve havalandırma koşullarını ortaya koymuştur. Bu tarihten sonra Çin başta olmak üzere birçok ülkede kuzugöbeği kültürü araştırmacılar için popüler çalışma alanı haline gelmiştir. 2002'de başarılı olan ve 2004 yılında ticarileşen ilk üretim Yunnan Eyaletinde hektar başına yıllık 450-3 000 kg ile 33 hektarlık bir alanda gerçekleştirildi [77]. Tüm bu akademik çalışmalar sonucunda 2011 yılında Çin'de 200 hektar alanda kuzugöbeği üretimine başlanmış ve 2016 yılında üretim alanı 1 600 hektara çıkmıştır [19]. Ülkemizde Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü'ne bağlı Alata Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü tarafından 2022 yılında ilk defa yetiştirilen Kuzugöbeği Mantarı pilot üretimi gerçekleştirildi. İlk askokarp yapıları 11 Mart 2022 tarihinde alındı [78]. Kuzugöbeği yetiştiriciliği, dünya çapında bir araştırma odağı olmuştur ve kuzugöbeğinin açık havada yetiştirilmesi son yıllarda başarılı olmuş ve Çin'de büyük bir ölçeğe yayılmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda kuzugöbeği mantarı sentetik veya yarı sentetik ortamlarda yetiştirilmiş; ancak bu mantarların karmaşık beslenme ve metabolizma istekleri tam olarak belirlenememiştir [79].



Görsel 1. Alata Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü Kuzugöbeği Mantarı Pilot üretim Tesisi [80].
(Anonim – 2022)



Görsel 2. Alata Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü Kuzugöbeği Mantarı Pilot üretim Tesisi [80].
(Anonim – 2022)



Görsel 3. Alata Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü Kuzugöbeği Mantarı Pilot üretim Tesisi [80].
(Anonim – 2022)



Görsel 4. Alata Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü Kuzugöbeği Mantarı Pilot üremi [80].
(Anonim – 2022)

4. MATERYAL VE YÖNTEM

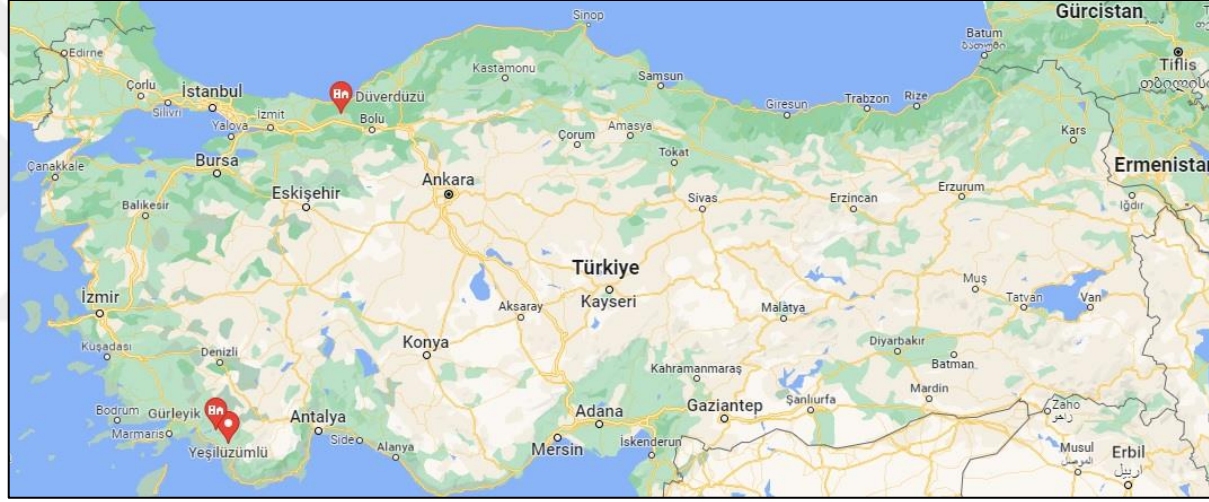
4.1.MANTAR ÖRNEKLERİNİN TOPLANMASI

Morchella cinsinin gelişimine uygun ilkbahar (Nisan-Haziran) döneminde yapılan arazi çalışmalarında 15 adet mantar örneği toplanmıştır. *Morchella* örnekleri istasyon-1'den (Muğla / Fethiye - Yeşilüzümlü Köyü / 08.04.2021) 4 numune, İstasyon-2'den (Muğla / Dalaman - Gürleyik Köyü / 09.04.2021) 8 numune ve İstasyon-3'ten (Düzce - Düverdüzü Köyü / 05.06.2021) 3 numune olarak toplanmıştır.

Çalışmada, çam ormanlarından (İstasyon 1-2), elma-armut bahçesinden (İstasyon-3), yanmış alanlardan (İstasyon1-2) ve solucan gübresi üretilen alandan (İstasyon-3) toplanan kuzugöbeği örnekleri mevcuttur.

Tablo 4.1. Arazi Çalışması İstasyonlar

Lokasyon	İstasyon	Koordinat
Yeşilüzümlü Köyü - Fethiye / Muğla	1	36.739723520647466, 29.214523011686158
Gürleyik Köyü - Dalaman / Muğla	2	36.91834384156905, 29.03319509010173
Düverdüzü Köyü / Düzce	3	40.9449045256433, 31.10878445562802



Harita 4.1. Türkiye Haritası İstasyonlar



Harita 4.2. İstasyon 1 – Yeşilüzümlü



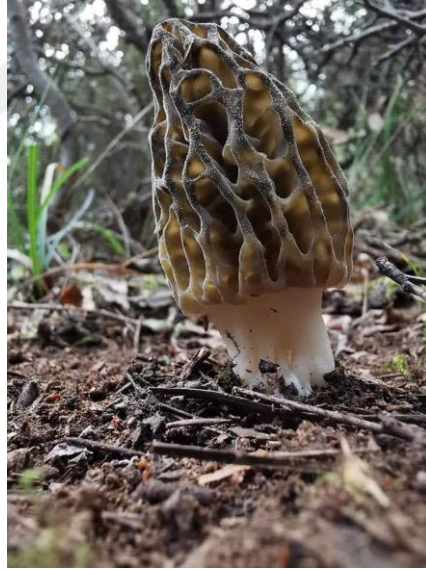
Harita 4.3. İstasyon 2 – Gürleyik



Harita 4.4. İstasyon 3 - Düverdüzü



Görsel 5. Muğla Gürleyik Köyü Arazi Çalışması
(Selime Semra EROL, 2021)



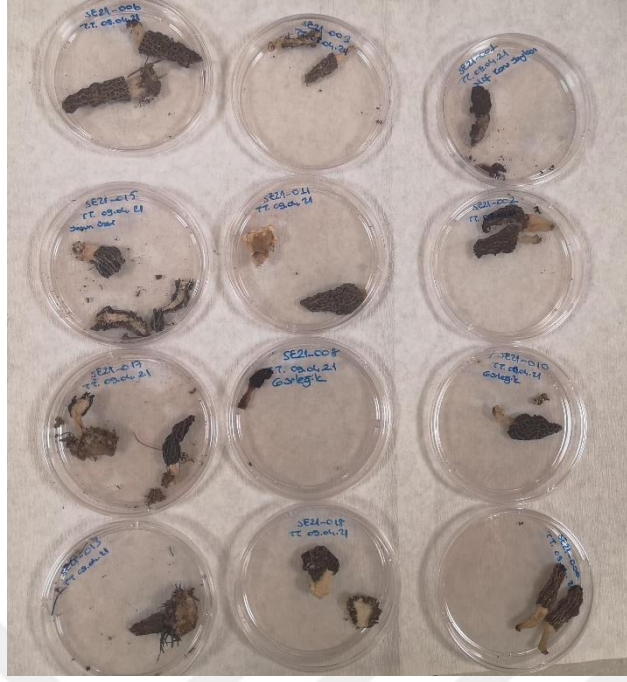
Görsel 6. Kuzugöbeği Mantarı
(İlgaz AKATA, 2021)

Arazi çalışmaları sırasında toplanan örneklerin askokarp yapıları, bulundukları habitat ve ekolojik özellikler ve çalışma alanının fotoğrafı çekilmiştir. Mantar örnekleri, toplanma yeri ve toplanma tarihi eklenerek numaralandırılmıştır. Numara verilen her bir örneğe ait morfolojik ve ekolojik özellikler, çalışma alanının yükseltisi, coğrafi koordinatları arazi defterine kaydedilmiştir. Her bir örnek morfolojik olarak teşhis edilmesi için mumlu kâğıtlara sarılmış ve laboratuvara getirilmiştir. Morfolojik teşhisin ve doku kültürü çalışmalarının yapılabilmesi

için toplanan her bir mantar rneği karton kutularda muhafaza edilerek laboratuvara getirilmiştir.

4.2. MANTAR ÖRNEKLERİNİN MORFOLOJİK TEşHİSİ

Laboratuvara getirilmiş örnekler, tasnif edilmiş, uygun örnekler steril petriler üzerine konularak 24 saat bekletilmiş ve spor baskıları elde edilmiştir. *Morchella* cinsine ait örneklerin morfolojik teşhisi için makroskobik özellikleri stereo mikroskop (Carl Zeiss Stemi 508); mikroskobik özellikleri ise binoküler mikroskop (Carl Zeiss Primostar) ile incelenmiştir. Binoküler mikroskop ile çalışılırken kimyasal ve preparatlar kullanılmıştır. rneklerinin himenyum olarak adlandırılan yapısından ince kesitler alınmış, distile edilmiş saf su, %5 oranında KOH, melzer ayıracı ve kongo kırmızısı çözeltisinden oluşan preparatlar mevcut literatüre göre hazırlanmıştır [81]. Mikroskobik yapılar ve özellikleri klasik morfolojik taksonomide veri olarak kullanılmak için not alınmıştır. Binoküler mikroskop altında yapılan çalışmalarda askus ve askospor şekli, askuslardaki spor dizilim şekli ve spor sayıları, spor rengi, hücre çeper kalınlığı vb. parametreler not alınarak mikrometrik oküler ile llmştir. lm çalışmalarında ölçümün en az 15-35 tekrarla yapılmasına zen gösterilmiş, ölçülmüş olan en küçük ve en yüksek değer farkı esas alınarak ve boyutları belirlenmiştir. Örneklerin teşhisinde mevcut literatür kullanılmıştır [81]–[83]



Görsel 7. Laboratuvara Getirilen Kuzugöbeği Mantarı Örnekleri
(Selime Semra EROL, 2021)



Görsel 8. Laboratuvara Getirilen Kuzugöbeği Mantarı Örnekleri
(Selime Semra EROL, 2021)

4.3. MANTAR ÖRNEKLERİNİN MOLEKÜLER TEŞHİSİ

Yapılan arazi çalışmaları ile toplanan örnekler, laboratuvara getirilmiş, mikroskopik ve morfolojik tanılamaları yapılmıştır. Daha sonra örnekler DNA dizi analizlerinin gerçekleştirilmesi için 40 °C’de 12 saat kurutulmuştur. DNA izolasyonu, kurutulmuş mantarlardan hazır kit (Gene All Palnt Sv marka Bitki ve Mantar DNA Saflaştırma Kiti) kullanılarak yapılmıştır. 50 mg mantar dokusu örneği sıvı nitrojen içerisinde ezilerek 1,5 ml mikrosantrifüj tüplerine alınmıştır. Doku üzerine 400 µl Buffer PL ve 4 µl RNaseA eklenerek karıştırılmıştır. Karışım 65 °C’de 10 dk. bekletilmiştir. Lizat üzerine 140 µl Buffer PD eklenmiş ve karışım buz üzerinde 5 dk. bekletilmiştir. Lizat Ezsep™ filtre üzerine alınarak santrifüj edilmiştir (14 000 rpm, 2 dk.) Dipte kalan hücre peletini bozmadan filtreden geçen 400 µl lizat yeni bir tüpe alınmıştır. Lizat üzerine 600 µl Buffer BD eklenerek karıştırılmıştır. Karışımdan 700 µl alınarak spin kolana aktarılmış ve santrifüj edilmiştir (8 000 rpm, 30 sn). Santrifüj sonrasında kolondan geçen kısım atılmıştır. Geriye kalan karışım aynı örnek için kullanılan spin kolana aktarılmış ve santrifüj edilmiştir (8 000 rpm, 30 sn). Santrifüj sonrasında kolondan geçen kısım atılmıştır. Kolon üzerine 700 µl Buffer CW eklenerek santrifüj edilmiştir (8 000 rpm, 30 sn.). Kolon üzerine 300 µl Buffer CW eklenerek santrifüj edilmiştir (8 000 rpm, 2 dk.). Kolon yeni bir 1,5 ml mikrosantrifüj tüpüne alınarak üzerine 100 µl Buffer AE eklenerek 5 dk. oda sıcaklığında inkübe edilmiş ve sonra santrifüj edilmiştir (140 rpm, 1 dk.). Elde edilen DNA örneği -20 °C’de saklanmıştır. DNA izolasyonu sonrasında ITS1-ITS4 primerleri kullanılarak PCR aşamasına geçilmiştir. Elde edilen PCR ürünleri %2 lik agaroz jel kullanılarak elektroforez uygulanmıştır ve bant varlığı gözlemlenmiştir. DNA dizileme aşaması BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit kullanılarak Thermal cyclers cihazında gerçekleştirilmiştir. ABI 3500 Genetic Analyzer cihazı kullanılarak okuma alınmıştır. ITS1-4 primerleri kullanılarak sekans sonuçları elde edilmiştir. Elde edilen sekans dizileri “BioEdit” programında “ClustalW” analizi ile hizalanmıştır. Hizalanan dizilerin yaklaşık 50 bazlık ilk ve son dizileri sekans yönteminin doğasından kaynaklanan kirlilikleri temizlemek amacıyla silinmiştir. Nihai bir filogenetik ağaç oluşturulmuştur.

4.4. MANTAR ÖRNEKLERİNİN DOKU KÜLTÜRÜ İLE ÇOĞALTILMASI

Arazi çalışmalarında toplanmış örnekler laboratuvara getirilmiştir. Araziden gelen mantar örneklerinden saf misel kültürlerinin elde edilmesinde doku kültürü yöntemi kullanılmıştır [84].

4.4.1. Besiyeri Hazırlama

Optimum fungal gelişme yüksek karbohidrat varlığında sağlanır. Çalışmamızda fungal hif gelişimini modüle etmek için iki farklı besiyeri kullanılmıştır.

a. Sabouraud Dekstroz Agar (SDA)

Çalışmada (Merck 1.03873) kodlu Merck marka dehidre besiyeri kullanılmıştır. Dehidre besiyeri 65,0 g/L olacak şekilde damıtık su içinde ısıtıcılı manyetik karıştırıcıda 1 400 rpm/ 150 °C'de ısıtılarak çözüldü.

Hazırlanan çözelti otoklavda 121 °C'da 15 dakika sterilize edilip, steril petri kutularına 12,5'er ml olacak şekilde döküldü. Hazırlanmış besiyeri berrak, sarımsı kahve renginde ve pH'sı 25 °C 'da $5,6\pm0,2$ olacak şekilde hazırlanmıştır.

b. Patates Dekstroz Agar (PDA)

Çalışmada (Merck 1.10130) kodlu Merck marka dehidre besiyeri kullanılmıştır. Dehidre besiyeri, 39,0 g/L olacak şekilde damıtık su içinde ısıtıcılı manyetik karıştırıcıda 140 rpm/ 150 °C'de ısıtılarak çözüldü. 121 °C'de otoklavda 15 dakika sterilize edildi ve steril petri kutularına 12,5'er ml olacak şekilde döküldü. Hazırlanmış besiyeri berrak, sarımsı kahve renginde ve pH'sı 25 °C 'da $5,6\pm0,2$ olacak şekilde hazırlanmıştır.



Görsel 9. Besiyeri Hazırlama
(Selime Semra EROL, 2021)

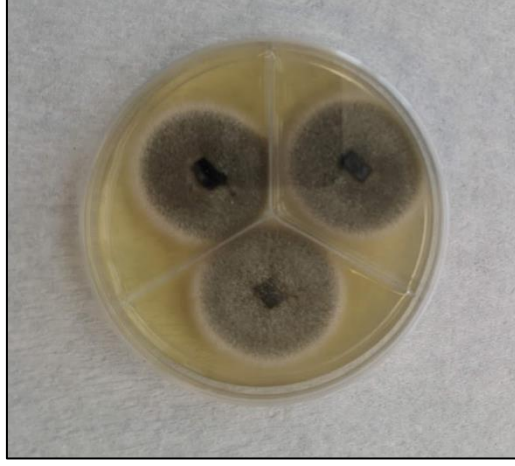


Görsel 10. Besiyeri Sterilasyonu
(Selime Semra EROL, 2021)

4.4.2. Doku Kültürü Çalışması:

4.4.2.1. Saf Kültürlerin Doku Kültürü ile Elde Edilmesi

Aşılama işleminden 1 saat önce ekim işlemlerinin yapıldığı HEPA Filtreli Biyogüvenlik kabini (Metisafe Class II A) iç bölgesi alkol (%70) ile silinerek ortam dezenfekte edilmiştir ve çalışma başlamadan 15 dk önce UV lamba açılarak UV sterilizasyon yapılmıştır. Biyogüvenlik kabini içerisinde taze mantar örneklerinden steril bistüri ile alınan 0,5 cm çapında parçalar Sabouraud Dekstroz Agar (SDA) ve Patates Dekstroz Agar (PDA) besin ortamına steril öze ile aşılanmıştır. Sambyal ve Singh, (2021) yayınladıkları bir çalışmada *M. importuna* primordiyum farklılaşmasının 06-10 °C arasında uyarıldığını rapor etmiştir[85]. Bu çalışma referans alınarak PDA ve SDA besiyerlerine aşılanan örnekler 08 °C’de ve karanlıkta 08 °C’de 10-15 gün soğutmalı inkübatörde inkübe edilmiştir. İnkübasyon sıcaklığı miselyum gelişimleri 24 saatlik periyotlarda kontrol edilmiş. Optimum misel gelişimi tüm örneklerde PDA besiyerinde görülmüştür. Misel tüm petriyi sardıktan sonra elde edilen saf kültürler, kullanılıncaya kadar buzdolabında (+4 °C) saklanmıştır.



Görsel 11. Saf Kültürler
(Selime Semra EROL, 2021)



Görsel 12. Saf Kültürler
(Selime Semra EROL, 2021)

4.4.2.2. Elde Edilen Saf Kültürlerin Çoğaltılması

Elde edilen *M. importuna* saf kültürleri PDA besiyerinde, SDA besiyerine göre optimal gelişim göstermiştir. Çoğaltma işleminden 1 saat önce ekim işlemlerinin yapıldığı hepa filtreli biyogüvenlik kabini iç bölgesi alkol (%70) ile silinerek ortam dezenfekte edilmiştir ve çalışma başlamadan 15 dk önce UV lamba açılarak UV sterilizasyon yapılmıştır. Çoğaltılacak olan saf kültürler saf kültürlerden mantar delici kullanılarak, 0,5 cm çapında misel ihtiva eden parçalar kesilmiştir. Bu parçalar steril bir öze yardımıyla, PDA ortamına petri kabının ortasına bırakılmış, daha sonra, petrilerin kapağı kapatılmış ve kenarları parafilm ile kapatılarak, tarih aktarım generasyonu ve suş adı yazılarak etiketlenmiştir. Ekimi yapılan petriler etüvde 06-08 °C arasında inkübasyona bırakılmıştır. 24 saatlik periyotlarda kontrolleri yapılmıştır. Miselyum

ekstraksiyonu için gerekli misel miktarına ulaşmak için 1 000+ adet petride misel gelişimi sağlanmıştır.

4.4.2.3. Doğal Mantar Örneği ve Kültürlenmiş Miselyumun Ekstraksiyon için Hazırlanması

Nisan 2021’de araziden toplanmış olan ve SE2148Fb kodu verilerek moleküler tanımlaması *Morchella importuna* olarak yapılmış olan örnekler Sinbo SFD-7401 Sebze-Meyve Kurutucu cihazı ile 40 °C’de 24 saat kurutulmuştur. SE2148Fb kodlu *Morchella importuna*’dan doku kültürü tekniği ile üretilmiş SE2148M kültürlenmiş miselyumlar besiyeri ortamından ince film tabakası halinde bistüri yardımı ile ayrılmıştır [6]. Elde edilmiş olan saf miseller Sinbo SFD-7401 Sebze- Meyve Kurutucu cihazı ile 40 °C’de 8 saat kurutulmuştur [86]. SE2148M ve SE2148Fb kodlu kurutulmuş numuneler Sinbo SCM 2934 kahve öğütücüsü ile öğütülmüş; elde edilen 120 gr misel ve 56 gr meyve gövdesi ekstraksiyon işlemi için hazırlanmış, +4 °C’de işlem yapılana kadar saklanmıştır.



Görsel 13. SE2148Fb
(Selime Semra EROL, 2021)



Görsel 14. SE2148M
(Selime Semra EROL, 2021)



Görsel 15. Öğütülmüş SE2148Fb
(Selime Semra EROL, 2021)



Görsel 16. Öğütülmüş SE2148M
(Selime Semra EROL, 2021)

4.4.2.4. Doğal Mantar Örneği ve Kültürlenmiş Miselyumun Ekstraksiyonu

SE2148M ve SE2148Fb kodlu kurutulmuş ve öğütülmüş numunelerin ekstraksiyonu yapılmıştır [31], [86]. Uygun koşullarda kurutulduktan sonra toz haline getirilmiş mantar ve kültürlenmiş miselyum numunelerinden 10'ar gr alınarak erlen içerisine 3 tekrar olacak şekilde [87] %50 metanol %50 etil asetat içeren 30 mL'lik çözelti içerisinde oda Sıcaklığında 24 saat 140 rpm hızla çalkalama sonrasında çözeltiler santtifüj işlemi uygulandı [88]-[89]. Santrifüj işlemi sonrası %100 saf su ile 24 saat çalkalamalı su banyosunda (ilk 3 saati 45-50 °C) çalkalama işlemi yapılan numunelere daha sonra tekrar santrifüj işlemi uygulandı. Elde edilen numunelerin çözücüleri Rotary Evaporator cihazında 50 °C'de uçuruldu. SE2148M kodlu numuneden elde edilen ekstrakta SE1, SE2148Fb kodlu numuneden elde edilen ekstrakta SE2 kodu verilmiştir.



Görsel 17. Rotary Evaporatorde Ekstrakt Çözücülerinin Uçurulması
(Selime Semra EROL, 2021)



Görsel 18. SE2148M Ekstraktı (SE1)
(Selime Semra EROL, 2021)



Görsel 19. SE2148Fb Ekstakt (SE2)
(Selime Semra EROL, 2021)

4.5. YÜKSEK PERFORMANSLI SIVI KROMATOĞRAFİSİ ANALİZİ (HPLC)

4.5.1. Kimyasallar ve Tepkimeler

Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) sınıfı solventler E. Merck'ten (Darmstadt, Almanya) elde edildi. Gallik asit ($\geq \%99$), fumarik asit ($\geq \%99$), protokateşuik asit ($\geq \%97$), kateşin hidrat ($\geq \%98$), p -hidroksi benzoik asit ($\geq \%99$), 6,7-dihidroksi kumarin ($\geq \%98$), kafeik asit ($\geq \%98$), vanilin ($\geq \%99$), 2,4-dihidroksi benzoik asit ($\geq \%98$), p -kumarik asit ($\geq \%98$), ferulik

asit (%99), kumarin ($\geq$ %99)), trans -2-hidroksi sinnamik asit (%99), ellagik asit ($\geq$ %98), rosmarinik asit ($\geq$ %98) ve trans -sinnamik asit (%99), Sigma Chemical Co.'dan (Sigma-Aldrich GmbH) elde edilmiştir. Sternheim, Almanya).

4.5.2. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC-DAD) Koşulları

Ayırma, 40 °C'de termostatlı bir Intertsil ODS-3 ters faz C 18 kolonu (5 μ m, 250 mm x 4,6 mm id) üzerinde gerçekleştirildi. Çözücü akış hızı 1,5 mL/dak idi. Numune hacmi enjeksiyonu 20 μ L idi. Kullanılan mobil fazlar şunlardı: (A) su içinde %0,5 asetik asit, (B) metanol içinde %0,5 asetik asit. Elüsyon gradyanı şu şekildeydi: %0–20 B (0–0,01 dakika); %20–60 B (0,01–2 dk); %60–80 B (2–15 dakika); %100 B (15–30 dakika); %100–10 B (30–35 dakika); %10–0 B (35–40 dakika). Tespit, tercih edilen dalga boyu olarak 280 nm kullanılarak fotodiyot dizisi dedektörü (PDA) ile gerçekleştirildi.

4.6. ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTE TAYİNİ

4.6.1. Antimikrobiyal Aktivite Tayini için Kullanılan Suşlar

Antimikrobiyal aktivite tayini için Düzce Üniversitesi Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi Mikrobiyoloji Laboratuvarından temin edilen *Escherichia coli* ATCC25922, *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Enterobacter cloacae* ATCC 13047, ve *Klebsiella pneumonia* ATCC 13883 isimli standart suşlar kullanılmıştır. Besiyeri olarak bakteriler için Mueller Hinton Agar (MHA – Merck1.05437) kullanılmıştır. Test mikroorganizmaları MHA içine aşılanarak mikroorganizmaların gelişimine uygun sıcaklık derecesinde 24 saat bekletilmişlerdir. +4 derecede muhafaza edilen mikroorganizmalar aktif hale getirilmiş ve mikroorganizma sayısında artış sağlanmıştır.

4.6.2. Antimikrobiyal Aktivite Tayini için Kullanılan Yöntemler:

Antimikrobiyal aktivite testleri, in-vitro olarak uygulanan ve antimikrobiyal özellikte olduğu varsayılan bir ajanın seçilmiş bir mikroorganizma türü üzerindeki etkisini belirlemek için kullanılan yöntemlerdir. Çalışmada ekstraktların antimikrobiyal aktivite tayininde “Disk Difüzyon” metodu uygulanmıştır.

4.6.3. İnokulum Süspansiyonu ve Ekstrakt İçeren Disklerin Hazırlanması

4.6.3.1. İnokulum hazırlanması

100 ml distile suya 0,9 mg NaCl eklenerek hazırlanmış olan Serum Fizyolojik (SF) kullanılmıştır. Mueller Hinton Agar (MHA) besiyerinde çoğaltılan test mikroorganizmalar,

doğrudan koloni süspansiyonu yöntemi kullanılarak SF içerisinde 0,5 McFarland bulanıklık standardı yoğunluğunda hazırlanmıştır. 0,5 McFarland standardından daha yoğun inokulum süspansiyonu inhibisyon zonunun küçülmesine, daha az inokulum süspansiyonu ise inhibisyon zonunun büyümesine neden olabilir. Bu nedenle inokulum süspansiyonunu 0,5 McFarland standart yoğunluğunda standardize edilmiş ve 15 dakika içerisinde kullanılmıştır.

4.6.3.2. Ekstrakt içeren disklerin hazırlanması

6 mm steril boş kâğıt antibiyotik disklere SE1 ve SE2 ekstraktlarından 30'ar µl emdirilerek disk difüzyon yönteminde kullanılacak diskler hazırlanmıştır

4.6.4. Disk Difüzyon Yöntemi

FS içerisinde 0,5 McFarland bulanıklık standardı hazırlanan inokulum otomatik pipet ile 100 ml çekilmiş ve MHA besiyerine yayma ekim yapılarak ekilmiştir. İşlem her bir test mikro organizması için tekrar edilmiştir. 6 mm steril boş kâğıt antibiyotik disklere SE1 ve SE2 ekstraktlarından 30'ar µl emdirilerek hazırlanan diskler her mikro organizma için 3 tekrarlı olacak şekilde mikro organizma ekimi yapılmış petrilere yerleştirilmiştir. Disklerin sıkı ve eşit şekilde yerleştirilmesine özen gösterilmiştir. Antimikrobik maddenin difüzyonu çok hızlıdır. Bu nedenle disklerin agar plağa yerleştirildikten sonra oynatılmamasına özen gösterilmiştir. Zonların iç içe girmesini önlemek için 90 mm petride 3 disk kullanılmıştır.

Bu agar plaklar inkübatörde tek tek yerleştirilerek $35\pm1^{\circ}\text{C}$, normal atmosfer, 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Agar plaklarda oluşan inhibisyon zonları ölçülmüştür.



Görsel 20. Antimikrobiyal Aktivite Testi
(Selime Semra EROL, 2021)



Görsel 21. Disk Difüzyon Yöntemi
(Selime Semra EROL, 2021)

4.6.5. İstatistiksel Analiz

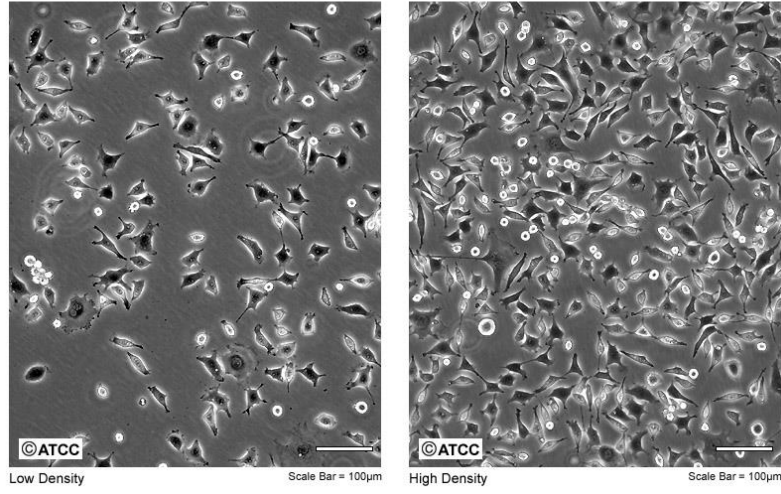
Elde edilen veriler Sosyal Bilimler İçin İstatistik Programı (Statistical Package for the Social Sciences/SPSS) istatistiksel analiz programı kullanılarak analiz edilmiştir. Doğal *M. impotuna* ve kültürlenmiş misel ekstraktlarının test mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkileri İki Yönlü Anova ile değerlendirilmiştir.

4.7. HÜCRE KÜLTÜRÜ ÇALIŞMALARI

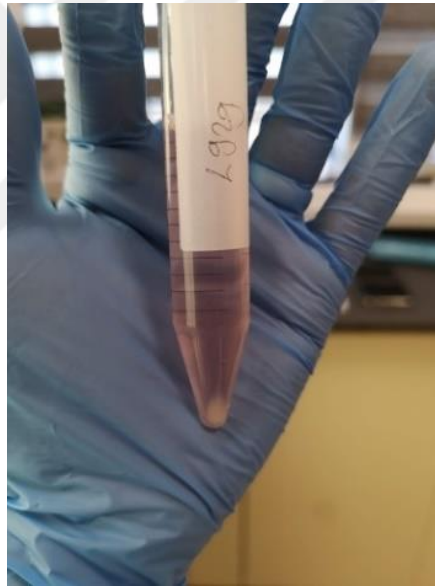
4.7.1. L929 (Fare Fibroblast) Hücre Hattında Sitotoksikite Testi

SE2148M ve SE2148Fb kodlu örneklerin toksisitesini belirlemek için WST-1 hücre proliferasyon test protokolü uygulandı. Hücre canlılığını %50 ve aşağısına düşüren konsantrasyonlar toksik olarak kabul edildi. SE2148M ve SE2148Fb kodlu örneklerin test numunelerinin farklı doz aralıklarında sitotoksitesini belirlemek üzerine L929 fibroblast hücre hattında analiz gerçekleştirildi. En yüksek 200 ppm ve en düşük 1,56 ppm olmak üzere 8 farklı konsantrasyonun toksisitesi analiz edildi. Numune M için analiz sonuçlarına göre; ürünün geniş doz aralığında bakıldığında toksik değer kaydedilmemiştir. Numune F için analiz sonuçlarına göre; ürünün geniş doz aralığında bakıldığında toksik değer kaydedilmemiştir.

ATCC Number: **CCL-1**
Designation: **NCTC clone 929**



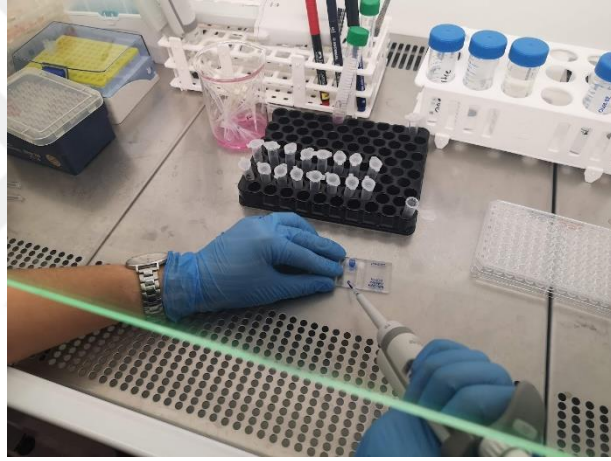
Görsel 22. L929 Fare Fibroblast Hücresi



Görsel 23. L929 Fare Fibroblast Hücresi
(Selime Semra EROL, 2021)



Görsel 24. Hücre Kültürü Çalışması
(Selime Semra EROL, 2021)



Görsel 25. Hücre Kültürü Çalışması
(Selime Semra EROL, 2021)

Hücre canlılığı en düşük %70 olarak 200 ppm konsantrasyonunda görülmüş iken, en yüksek %127 ile 12,5 ppm konsantrasyonunda görülmüştür. Sonuç olarak numune-M' ve Numune Fb'nin test edilen konsantrasyonlarından (1,25- 200 ppm aralığı) hücre kültürü ortamında, hücre canlılığını inhibe etmediği yani bu dozlarda her iki numunenin de toksik olmadığı anlaşılmıştır.

4.7.2. SCOV-3 Over Kanser Hücre Çoğalması ve Sitotoksikite Testi

Çalışmada 64 yaşında kadın hasta overinden izole edilmiş bir hücre hattı kullanılmıştır. SCOV-3 Over Kanser hücrelerinin kültüründe kullanılan besiyerinin temel içeriği RPMI 1640 olmakla birlikte %10 fetal sıgır serumu (FBS) ve %1 penisilin/streptomisin içermektedir.

Çalışmada kullanılan hücreler, RPMI, %10 fetal sığır serumu ve %1 penisilin/streptomisin ile 25'lik flasklara ekilmiştir.

- Sitotoksosite Test Protokolü:

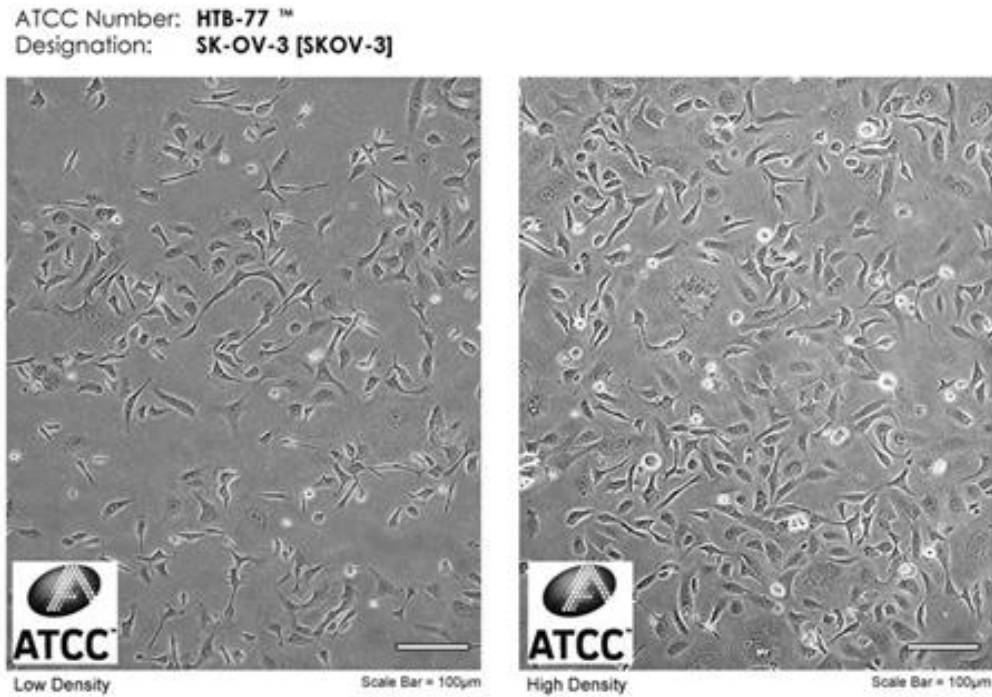
96 kuyucuklu plakada 50 mikrolitre hücre süspansiyonu (20.000 hücre / kuyucuk) dağıtıldı. Plaka inkübatörde 24 saat 37 °C 'de, %5 CO2 inkübe edildi.

24 saat sonra 5 ppm - 0,625ppm ardışık mantar ekstre(SE2148M ve SE2148Fb) dilüsyonları plaka kültür ortamına 100 µl olacak şekilde eklendi ve 24 saat inkübe edildi.

Çalışmada proliferasyon ve sitotoksosite deneylerinde canlı hücrelerin sayısının belirlenmesi için hassas kolorimetrik testlerin yapılmasını sağlayan CCK-8 Proliferasyon Testi Hücre Sayım Kiti-8 kullanıldı.

24 saat inkübe edilen hücreler CCK-8 testiyle değerlendirildi.

Plakanın her bir kuyucuğuna 10 mikrolitre CCK-8 solüsyonu eklendi. Plaka inkübatörde 2 saat inkübe edildi. Mikroplak okuyucu kullanılarak 450 nm'de absorbans ölçüldü.



Görsel 26. SKOV-3 Over Kanser Hücresi

5. BULGULAR

5.1. MANTAR ÖRNEKLERİNİN MORFOLOJİK TEŞHİSİ

Araziden toplanarak laboratuvara getirilmiş ve tasnif edilmiş örnekler binoküler mikroskop ve stereo mikroskop altında çalışılmış elde edilen mikroskobik veriler not edilmiş ve örnekler mevcut literatüre göre [81]-[83] , *Morchella importuna* olarak tanımlanmıştır.

5.2. MANTAR ÖRNEKLERİNİN MOLEKÜLER TEŞHİSİ

Mor193, 110M ve 111M'ün evrimsel geçmiş analizleri ile ilgili olarak, BLASTn aramalarının sonuçları dikkate alınarak, *Morchella* cinsinin üyelerinden bazı nrITS rDNA dizileri, iç grup üyelerini temsil etmek üzere seçilmiştir ve *Gyromitra esculenta* O80558'in nrITS rDNA dizisi, dış grup üyesini temsil etmesi için seçilmiştir.

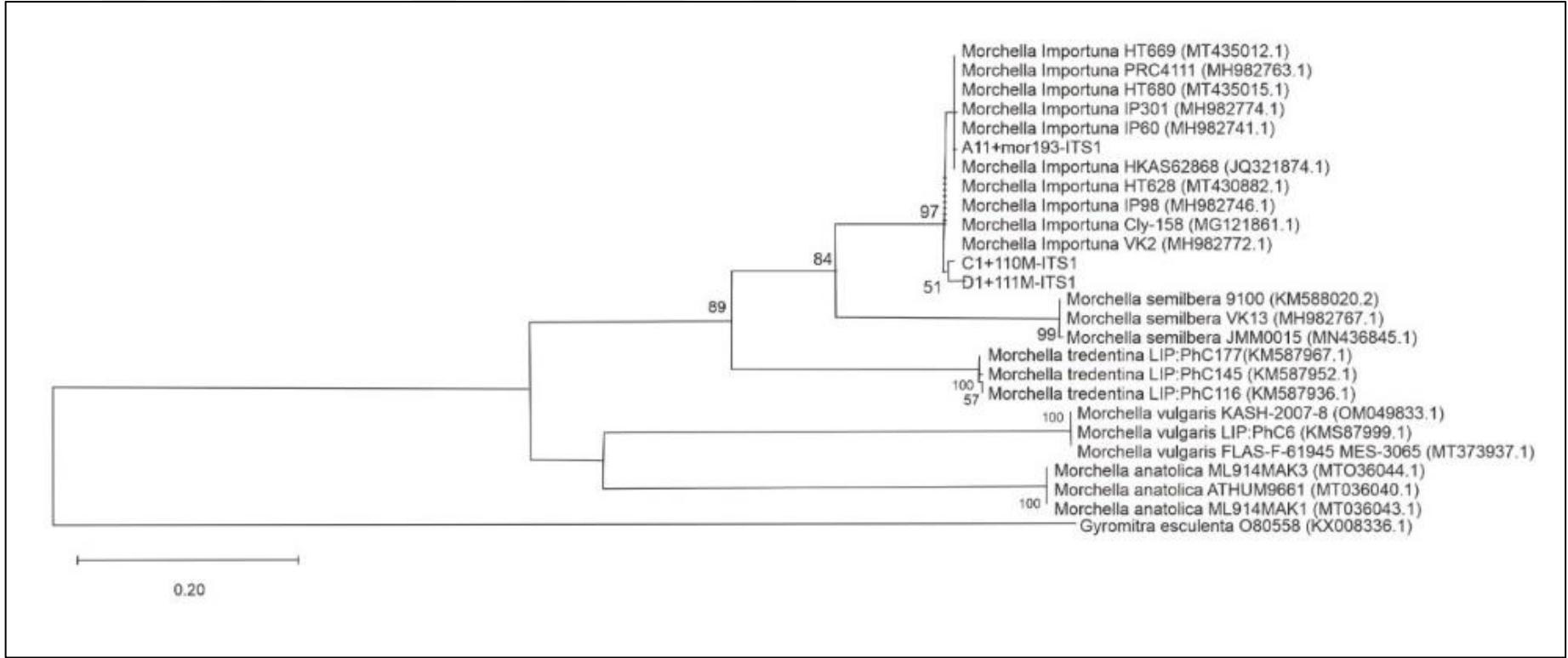
Moleküler filogenetik analiz sonucunda, bir dış gruptan ayrı olarak beş ayrı klad ortaya çıkmıştır.

1. Klad: *Morchella importuna*'nın bazı farklı izolatlarını ve Mor193, 110M ve 111M örneklerini içerir
2. Klad: *Morchella* cinsinden *M. semilibera*,
3. Klad: *M. tridentina*,
4. Klad: *M. vulgaris*
5. Klad: *M. anatolica* türlerinin üyelerini içermiştir.

Diğer yandan, *Gyromitra esculenta* iç grup kladlardan ayrı olarak dallanarak tahmin edildiği gibi bir dış grup oluşturmuştur.

Mor193, 110M ve 111M'nin nükleer ITS rDNA dizileri ile yapılan BLAST analizleri, farklı *M. importuna* izolatları ile %99'un üzerinde benzerlik oranları göstermiştir. Gerçekleştirilen filogenetik analizler, bu örneklerin yüksek dal önyükleme oranıyla *M. importuna* ile yakın ilişkisini doğruladı.

Sonuç olarak arazi çalışmalarında toplanmış ve morfolojik olarak *M. importuna* olarak tanımlanan örnekler moleküler taksonomi kullanılarak tanımlanmış ve morfolojik tanımlama doğrulanmıştır.



Şekil 5.1. Flogenetik Kladlar

Çekirdek ITS rDNA bölgelerine göre, TN93+G+I evrim modeli kullanılarak tahmin edilen, *Morchella* cinsine ait mantar örneklerinin filogenetik ilişkilerini ortaya koyan en olası ağaç. Her dal için, yüzde önyükleme değerleri belirtilmiştir. Mor193, 110M ve 111M kodlu örnekler hariç filogenetik analize dahil edilen tüm diziler GenBank'tan alınmıştır. *Gyromitra esculenta* dış grup örneği olarak filogenetik analize dahil edilmiştir.

5.3. YÜKSEK PERFORMANSLI SIVI KROMATOĞRAFİSİ (HPLC) ANALİZİ

SE1 ve SE2 ekstraktlarının fenolik bileşikleri HPLC-DAD kullanılarak tespit edildi. İncelenen ekstraktların toplam fenolik bileşik miktarının diğer gıdalarla karşılaştırılabilir düzeyde olduğu belirlendi. Fenolik bileşiklerin niteliksel ve niceliksel bileşimindeki farklılıkların mantarların olgunlaşmasından kaynaklanabileceği düşünülebilir. Bulgular, doğal *M. importuna* meyve veren gövdesi ve kültürlenmiş miselyumunun türlerinin gıda, kozmetik ve ilaç endüstrileri için alternatif bir doğal fenolik bileşik kaynağı olarak kullanılabileceğini göstermektedir.



Tablo 5.1. SE1 ve SE2 Ekstraktların HPLC-DAD ile organik asit ve fenolik bileşimi (µg/g)

No	Fenolik bileşikler	RT (min)	SE1	SE2
1	Fumarik asit	3.36	16.20	5.33
2	Gallik asit	5.40	1.15	-
3	Protokatekuik asit	8.75	4.51	1.65
4	Kateşin	10.68	-	-
5	Pirokatekol	11.04	-	-
6	Klorojenik asit	12.35	-	-
7	p-hidroksi benzoik asit	12.77	-	-
8	6,7-Dihidroksi kumarin	14.10	-	-
9	Kafeik asit	15.09	-	-
10	3-hidroksi benzoik asit	15.98	-	-
11	Şıngı asidi	16.56	-	-
12	Vanilin	17.78	-	-
13	p-Kumarik asit	20.56	-	-
14	Taksifolin	21.26	-	-
15	Ferulik asit	22.14	0.62	-
16	Kumarin	24.49	-	-
17	Rutin	25.30	-	-
18	Ellagik asit	26.11	-	-
19	Rosmarinik asit	26.77	0.79	0.28
20	mirisetin	27.35	-	-
21	Kuersetin	30.83	-	-
22	Trans-sinamik asit	31.33	-	-
23	Luteolin	31.70	-	-
24	Hesperatin	32.14	-	-
25	Kaempferol	33.21	-	-
26	Apigenin	33.77	-	-
27	Krizin	38.40	-	-

5.4. ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTE TAYİNİ

Çizelge 4.1.'de görüldüğü gibi *M. impotuna* ve kültürlenmiş misellerinde elde edilen ekstraktlarından SE1 ekstraktının *S. aureus* ATCC25923 bakterisine karşı 10,00 mm inhibisyon zonu oluştururken, SE2'nin 13,33 mm çap ile daha fazla inhibisyon zonu oluşturduğu belirlendi. *E. cloacae* ATCC13047 üremesini ise SE1 ve SE2 ekstraktları sırasıyla 14,00 mm ve 13,33 mm inhibisyon zonu oluşturmuştur. SE2 ekstraktı ise *E. coli* ATCC25922 ve *K. Pneumonia* ATCC13883 bakterilerinin üremesini inhibe etmediği, buna karşın SE1 ekstraktının ise sırası ile 9,50 mm ve 9,33 mm inhibisyon zonu oluşturduğu tespit edildi. İnhibisyon zonlarını değerlendirildiğinde, SE1 ekstraktının test edilen tüm bakterilere karşı antimikrobiyal aktivitesi olduğu belirlendi. Sonuç olarak ekstrakt ($P=0,039$), mikroorganizma ($P=0,000$) ve ekstrakt mikro organizmanın ($P=0,000$) inhibisyon zon çapı üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık oluşturduğu belirlendi.

Tablo 5.2. Antimikrobiyal Aktivite Tayini

Mikroorganizma / Ekstrakt	SE1	SE2
<i>Escherichia coli</i>	9,50±0,50	6,00±0,01
<i>Staphylococcus aureus</i>	10,00±0,01	13,33±2,08
<i>Enterobacter cloacae</i>	14,00±1,73	13,33±1,53
<i>Klebsiella pneumonia</i>	9,33±0,58	6,00±0,01

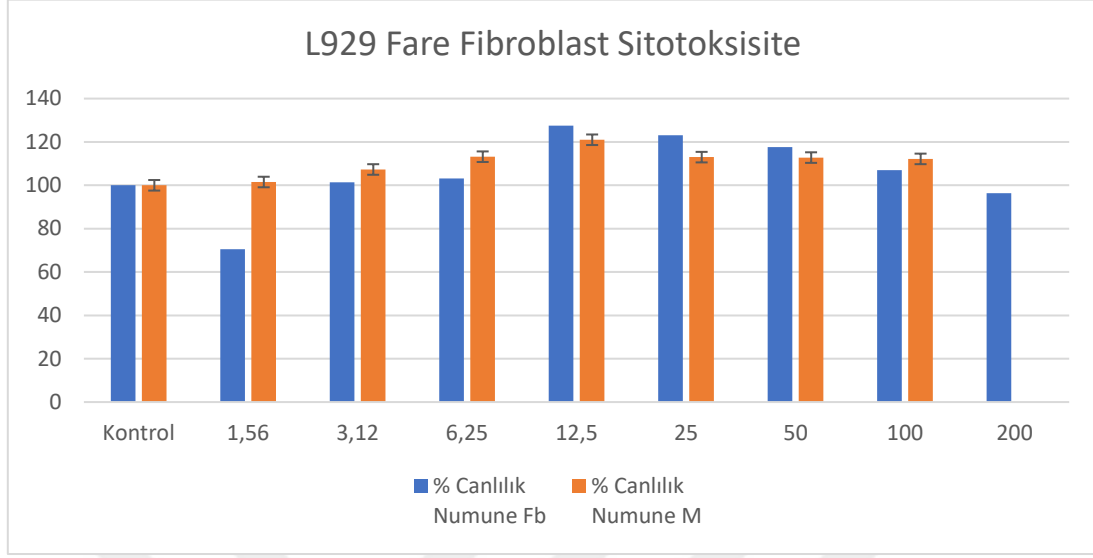
Her bir değer üç tekrarın ortalaması $\pm$ standart sapma olarak gösterilmiştir ($n=3$, $P<0.05$)

5.5. HÜCRE KÜLTÜRÜ ÇALIŞMALARI

5.5.1. L929 (Fare Fibroblast) Hücre Çoğalması ve Sitotoksite Testi

Çalışmada L929 Fare Fibroblast hücre hattında doğal *M. importuna* ve *M. importuna* kültürlenmiş misellerinden elde edilen ekstraktların sitotoksitesi gösterilmiştir. Hücre canlılığı en düşük %70 olarak 200 ppm konsantrasyonunda görülmüştür. Hücre canlılığı en yüksek %127 ile 12,5 ppm konsantrasyonunda görülmüştür. Sonuç olarak numune-M' ve Numune Fb'nin test edilen konsantrasyonlarından (1,25- 200 ppm aralığı) hücre kültürü ortamında, hücre canlılığını inhibe etmediği yani bu dozlarda her iki numunenin de toksik olmadığı anlaşılmıştır. Ancak yapılan çalışmalarda hücre poliferasyonu ile ilgili herhangi bir mekanizma gösterilmemiştir. Çalışmamız öncü çalışma niteliğinde olup *M. importuna* ve kültürlenmiş misellerinin hücre poliferasyonuna etkisi için ilave çalışmalarda gerek duyulmaktadır.

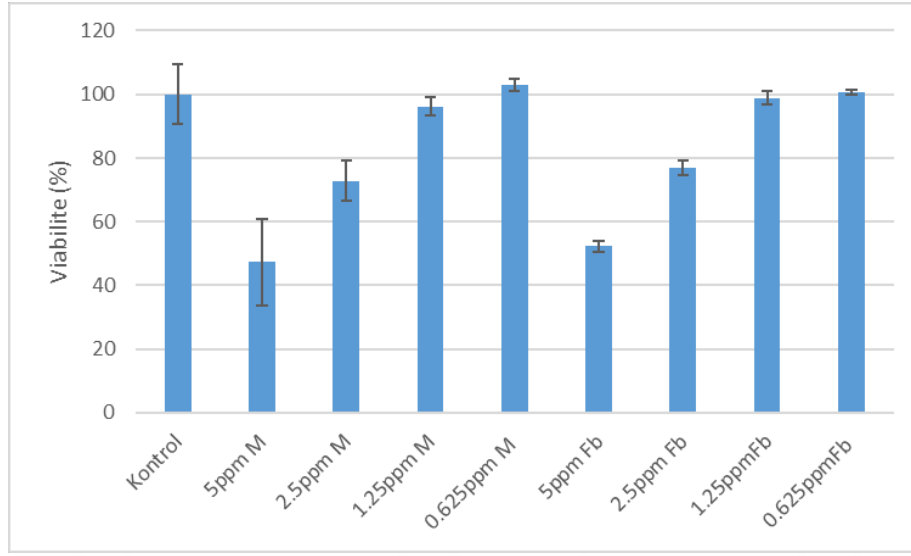
Tablo 5.3. L929 Fare Fibroblast Sitotoksosite



5.5.2. SCOV-3 Over Kanser Hücre Hattında Sitotoksosite Testi

64 yaşında kadın hasta overinden izole edilmiş bir hücre hattı ile yapılan çalışmada elde edilen verilere göre doğadan toplanmış *M. importuna* ve doku kültürü tekniği ile üretilmiş olan miselyumlarından elde edilmiş ekstraktlar çalışmada kullanılan over kanser hücrelerinin ölümüne neden olmuştur. *M. importuna mantarından* izole edilen bir peptid ile yapılmış bir çalışmada Yitong ve ark., (2023) serviks kanseri hücrelerinde apoptoz ile ilişkili yollara etki ederek ölüme neden olduğunu göstermiştir [99]. Yapılan çalışmada over kanseri hücre hattında ölüme hangi mekanizmalar ile yola açtığı gösterilmemiştir. *M. importuna* ekstraktlarının apoptoz üzerine etkisini değerlendirmek üzere çalışmalara ihtiyaç vardır. Yapılan çalışma ön çalışma niteliğindedir.

Tablo 5.4. SCOV-3 Over Kanser HÜcre Çoğalması ve Sitotoksosite



6. TARTIŞMA ve SONUÇ

Morchella cinsi aroması ve tıbbi özellikleri ile en pahalı makromantarlar arasında yer alır[90]. Ticari üretim, yabani hasattan daha standart ve düşük maliyetle yapılabilir. Çin'de ticari olarak kültürü yapılan *Morchella* türleri *M. importuna*, *M. sextelata* ve *M. eximia* türleridir. *M. importuna*, ekili alanlarda yetiştirilen ve ticari olarak başarılı tek türdür [85]. Çalışmada kullanılan doğal mantar *M. importuna* literatürde yer alan misel üretim teknikleri [19]dikkate alınarak seçilmiştir. Çalışma materyali belirlenen istasyonlardan toplanan doğal *Morchella importuna* mantarlarıdır ve mantarların tür teşhisi morfolojik ve moleküler olarak yapılmış; moleküler tanımlama morfolojik tanımlama ile uyumlu sonuç vermiştir. Literatüre uygun [13, 81, 83] tanımlanan mantarlardan doku kültürü tekniği ile miselyum üretilmiştir. *M. importuna* kültürlenmiş miselyumunun ve doğadan toplanan örneklerinin metanol / etil asetat kullanılarak hazırlanan ekstralarının sitotoksitesi, antikanserojen ve antimikrobiyal etkisi in-vitro olarak incelenmiş ve doğal mantardan elde edilen ekstre sonuçları kültürlenmiş miselyumdan elde edilen sonuçlar ile karşılaştırılmıştır.

Sitotoksitite testi WST-1 protokolü ile L929 Fare Fibroblast Hücre Hattında çalışılmış ve test edilen konsantrasyonlarda (1,25- 200 ppm aralığı) in-vitro olarak, hücre canlılığını inhibe etmediği, bu dozlarda her iki numunenin de toksik olmadığı bulunmuştur. En yüksek hücre canlılığı %127'lik oran ile 12,5 ppm konsantrasyonda doğal mantardan elde edilen ekstrede görülmüş; aynı konsantrasyonda kültürlenmiş miselyumdan elde edilen ekstrede %121'lik hücre canlılığı bulunmuştur. Çalışma sonucuna göre doğal mantarın metanol / etil asetat ekstresi, kültürlenmiş miselyumdan elde edilen metanol / etil asetat ekstresine oranla hücre canlılığını daha fazla arttırmıştır. Ayrıca yapılan literatür taramasında *M. importuna* ve kültürlenmiş miselyumları ile L929 Fare Fibroblast Hücre Hattında yapılmış bir sitotoksitite çalışmasına rastlanmamıştır. Ancak, Baran ve ark. (2017) WST-1 Sitotoksitite Testi ile L929 Fare Fibroblast Hücre Hattında *Russula delica* mantarının, konsantrasyonlara bağlı olarak sitotoksitesinin değiştiğini raporladığı 5000 ppm oranında uygulanan etil alkol ekstrelerinde toksitite oranı yüksek (%Canlılık 27,55); ancak 2500 ppm altında uygulanan ekstrelerde toksitite oranları arasında bir fark bildirilmemiştir (%Canlılık % 97.04-101.18) [91] . Ayrıca 2012 yılında yapılan bir çalışmada; *Morchella* cinsine ait 7 farklı türün metanolik ekstreleri 72 saatlik inkübasyona bırakılmış çalışma sonunda MTT sonuçları değerlendirilmiştir. MTT sonuçlarına göre sağlıklı akciğer BEAS-2B hücre hattında, tüm *Morchella* gruplarının proliferatif etkiye sahip olduğu raporlanmıştır [92] Baran ve ark. yaptıkları çalışmada 2500 ppm

altındaki dozlarda sağlıklı vücut hücrelerinde etanol ekstraktlarının sitotoksitesinin olmadığını işaret etmektedir. Çalışma sonucu *M.importuna* ve kültürlenmiş miselyumunun metanol/etil asetat ekstresi ile yapılan çalışmada uygulanan doz aralığı ile uyumludur[91]. Ancak; Tül, (2012) sağlıklı akciğer BEAS-2B hücrelerinde yedi farklı *Morchella* cinsi ile 8000 ppm dozda yaptığı çalışmada tüm gruplar için proliferatif etki bildirmiştir[92]. Sonuç olarak yapılan çalışma ve literatür verileri birlikte değerlendirildiğinde sağlıklı hücrelerde proliferatif etkinin doza, cinse ve türe bağımlı olabileceği görülmektedir. *M. importuna* ve kültürlenmiş miselyumunun proliferatif etkisi için ileri doz ve değişik çözücüler ile yapılacak çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Hücrelerin kontrolsüz olarak çoğalması ve yayılması ile oluşan kanser, Dünyada ölüm nedenleri arasında ikinci sırada yer alır [93]. Over kanseri, kanserden meydana gelen ölümlerde cinsiyete bağlı olarak kadınlarda dördüncü sıradadır [94]. Yapılan çalışmada 64 yaşında kadın hasta overinden izole edilmiş bir hücre hattında doğal *M. importuna* ve kültürlenmiş miselyumundan elde edilen metanol/etil asetat ekstresi 5 ppm- 0,625 ppm doz aralığında çalışılmıştır. Çalışma sonucunda kültürlenmiş miselyumdan elde edilen metanol / etil asetat ekstresi 0,625 ppm dozda, doğal mantardan elde edilen ekstreye göre %2,5 daha etkili olarak over kanser hücrelerinin ölümüne neden olmuştur.

Kuzugöbeği mantarında biyoaktif bileşenler türlere ve kökenlere göre değişmekle birlikte esas olarak biyoaktif olarak polisakkaritler, fenolikler, tokoferoller, ergosteroller yer almaktadır. *M. importuna* mantarından ekstrakte edilen iki yeni D-glukan; MIPB50-W ve MIPB50-S-1 tanımlanmıştır [95]. Farede meme kanseri modelinde yapılmış bir araştırma *M. importuna* mantarından izole edilen bir polisakkarit olan MIPB-70'in Doksorubusin'in antitumor etkisini arttırdığını göstermiştir [96] Scales ve ark., (2020) yaptıkları bir çalışmada *M. esculenta* su ve etanol ekstraktlarının, yumurtalık adenokarsinoma (SKOV-3) hücreleri üzerine antiproliferatif etkisini incelemiştir. Çalışma sonucu göre *M. esculenta*, su ve etanol ekstraktı yumurtalık kanseri hücrelerine karşı antiproliferatif potansiyel sergileyebileceğini göstermiştir [87] Literatür verileri incelendiğinde *M. importuna* ile aynı cins içerisinde yer alan *M. esculenta* mantarının (SKOV-3) hücreleri üzerine antiproliferatif etkisi ve *M. importuna* mantarının çalışmada Doksorubusin antitümör etkisini arttırıcı özelliği yapılan çalışma verileri ile uyumludur. Ayrıca Açı (2018) PC-3 prostat hücre hattı ile yaptığı bir çalışmada *M. esculenta* etilasetat ekstraktının PC-3 hücreleri için 550 µg/ml konsantrasyonda (99,82 % inhibisyon) IC₅₀ 264,33 (µg/ml) değeri ile inhibisyon etkisi gösterdiğini; sitotoksik aktivitenin konsantrasyon ve ekstraktların çözücü tipine bağımlı olduğu rapor edilmiştir [31] Başka bir

çalışmada Liao ve ark, (2017) üç farklı istasyondan elde edilen, Yunnan (MCP-Y), Tibet (MCP-T) ve Sincan (MCP-X), *M. conica* mantarının fenolik ekstraktların HepG2 hücre hattında poliferasyonunu incelemiştir[95]. Çalışma sonucunda, HepG2 hücrelerinin poliferasyonunun doza bağımlı olarak *M. conica* tarafından inhibe edildiği ve sitotoksik olmayan konsantrasyonlarda, serbest fenolik ekstraktların EC50 değerlerinin 186.43 ile 271.38 µg/mL arasında değiştiği rapor edilmiştir [95]. Literatür verileri yapılan çalışma sonucu ile kıyaslandığında *Morchella* cinsine ait mantarların doza bağımlı olarak antikanserojen etkisi olduğu görülmektedir. Çalışma sonucunda kültürlenmiş *M. importuna* miselyumunun, doğal mantara oranla sağlıklı hücrelerde hücre poliferasyonunu arttırdığı bulunmuştur. Ayrıca kültürlenmiş miselyum %2,5 oranla over kanser hücre hattına aynı konsantrasyondaki doğal mantar ekstresinden daha etkin olduğu bulunmuştur. Yapılan çalışmada over kanseri hücre hattında ölüme hangi mekanizmalar ile yola açtığı gösterilmemiştir. *M. importuna* ekstraktlarının hücre ölümü mekanizmalarına etkisini değerlendirmek üzere ileri doza bağımlı in-vitro çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde kullanılan antibiyotiklerin yan etkileri ve mikroorganizmalarda direnç gelişimine sebep olmaları, son yıllarda doğal ürünlere olan ilginin artmasındaki önemli nedenlerden biridir. Eren ve Akyüz (2019) yaptıkları bir çalışmada farklı mantar türlerine ait kültürlenmiş miselyumların ekstraktlarının *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus megaterium*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Candida albicans*, *C. glabrata*, *Trichophyton sp.* ve *Epidermophyton sp.* test mikroorganizmaları üzerindeki antimikrobiyal aktivitesini araştırmıştır. Bu çalışma sonuçlarına göre farklı doğal mantarlar ve bu mantarlara ait kültürlenmiş miselyum ekstrelerinin antimikrobiyal etkisi gösterilmiştir [86]. Farklı çalışmalarda makrofungus türleri ile yapılmış çalışmalar sonucunda test mikroorganizmalara karşı farklı çözücüler ile hazırlanan ekstraktların farklı antimikrobiyal etki gösterilmiştir. Bekçi ve ark. (2011) farklı mantar ekstraktlarının antimikrobiyal etkisi üzerine yaptıkları araştırmada, *M. elata* aseton ekstraktı en düşük inhibisyon etkisini 8 mm zon çapı ile *C. Glabrata* üzerinde; 15 mm inhibisyon zon çapı ile en yüksek antimikrobiyal etkiyi *E. coli* üzerinde gösterdiğini bildirmiştir [97] Saleh (2019) yaptığı bir araştırmada *Terfezia* mantarının metanolik ekstraktının *S. aureus* üzerinde 19 mm'lik zon çapı ile antimikrobiyal etki gösterdiği rapor etmiştir [98] Yapılan çalışmada doğal *M. importuna* mantarı ve kültürlenmiş miselyumundan elde edilen metanol / etil asetat ekstraktlarda; inhibisyon zonları değerlendirildiğinde, SE1 ekstraktının (kültürlenmiş *M. importuna* ektrati) test edilen tüm bakterilere karşı antimikrobiyal aktivitesi olduğu belirlendi. Heleno ve ark.

(2013) Sırbistan (SS) ve Portekiz'den (SP) toplanmış olan *M.esculanta* örneklerinin antimikrobiyal aktivitesini 2 mg ve 1 mg ekstrakt içeren disklerde disk difüzyon yöntemi ile araştırmış; 2 mg diskler için en düşük inhibisyon bölgesi *E. coli* bakterisinde 6.31 mm (SP) ve 6.44 mm (SS), en duyarlı organizma ise 7.80 mm (SP) ve 8.40 mm (SS) inhibisyon zon çapı ile *L. monocytogenes* olarak bildirilmiştir. Ayrıca, 1 mg ekstrakt içeren disklerde *S. typhimurium* ve *E. coli* için inhibisyon zonu olmadığı rapor edilmiştir [68]. *M.importuna* ekstraktı ile yapılan çalışmada SE2 ekstraktının Heleno ve ark. çalışması ile uyumlu olarak *E. coli* bakterisinin üremesini inhibe etmediği ancak; SE1 ekstraktının 9,50 mm zon çapı ile antimikrobiyal aktivite sergilediği bulunmuştur. Işık ve ark (2020) *M. esculenta* mantarının Tokat ve Yozgat illerinden toplanan numunelerinin etanol ve aseton ekstraktlarının zon çaplarını değerlendirmiş, çalışma sonucuna göre *M. esculanta* etanol ve aseton ekstraktlarının çalışmada kullanılan tüm mikroorganizmalara karşı (*Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis*, *Streptococcus pyogenes*) antimikrobiyal aktivite gösterdiği bildirilmiştir [99]. 2015 yılında yapılan başka bir çalışmada Poyraz ve ark. *Morchella* cinsine ait yedi farklı türün metanol ekstraktlarının antibakteriyel ve antitümör aktivitesini araştırmış, *M. excissa* ekstraktının 22 mm inhibisyon zon çapı ile *E. coli* bakterisine karşı antibakteriyel aktivite sergilediğini bildirmiştir [100] . Bu veriler ve tez çalışma sonuçları beraber değerlendirildiğinde ekstratlarda kullanılan çözücü ve mantar türü antimikrobiyal aktiveyi etkileyebileceği görülmektedir.

Çalışımız sonucunda, doğal olarak toplanan *Morchella* cinsi içerisindeki mantarlar morfolojik ve moleküler olarak tanımlayarak, *Morchella importuna* olarak tanımlanan mantar örneklerinden doku kültürü ile miselyum geliştirilmiştir. Geliştirilen miselyum ve doğal mantarlardan metanol/ etil asetat ekstratları elde edilmiştir. Yapılan analizler sonucunda doğal ve kültürlenmiş miselyumdan elde edilen ekstraktların yüksek oranda fenolik bileşik içerdiği ve antimikrobiyal etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca makromantarlarda antimikrobiyal etkiyi oluşturan etken maddelerin kültürlenmiş miselyumunda bulunabileceği ve kültürlenmiş miselyumun metanol/ etil asetat ekstratının doğal mantara oranla daha iyi antimikrobiyal aktivite sergilediği bulunmuştur. Hücre kültürü çalışmaları sonucunda ise sağlıklı fare fibroblast hücrelerinde sitotoksik olmadığı ancak over kanserli hücrelerde sitotoksik olduğu bulunmuştur. Bu sonuçlar bize *Morchella importuna* mantarının sağlıklı hücrelerde herhangi bir sitotoksik etkiye sahip olmazken kanserli hücreler üzerinde antikarsinojen etki gösterebileceği düşüncesine neden olmuştur.

Literatür verileri incelendiğinde özellikle *Morchella* cinsi içerisinde yer alan mantarların antimikrobiyal özelliklerinin ekstraksiyonda kullanılan çözücülere bağımlı olarak değiştiği görülmektedir. Bioaktif bileşik ve moleküllerin en etkili çözücü ve konsantrasyonlarının belirlenmesi için kontrollü ileri çalışmalar yapılması gerekmektedir. Ayrıca over kanserli hücrelerde sitotoksositeye neden olan bioaktif bileşik ve moleküllerin mantar meyve yapılarında ve kültürlenmiş miselyumlarda hangi oranlarda olduğunun belirlenmesi ileri çalışma ve deneyler gerektirmektedir. Çalışmalarımız in vitro yapıldığından in vivo çalışmalar için bir ön çalışma olarak kabul edilebilir ve *Morchella importuna*'nın daha kapsamlı olarak etkilerini araştırmak için in vivo çalışmalara ihtiyaç olduğu düşüncesindeyiz



7. KAYNAKLAR

- [1]. S.S. Erol, I. Akata, & E. Kaya, “Use of macrofungi in traditional and complementary medicine practices: Mycotherapy,” *International Journal of Traditional and Complementary Medicine Research*, c.1, sayı 2, ss. 70-78, 2020.
- [2]. <https://www.mfa.gov.tr/who.tr.mfa>
- [3]. G. Zare, & N.Y. Diker, “Anadolu’da solunum yolu hastalıkları tedavisinde geleneksel olarak kullanılan *Lamiaceae* bitkilerinin değerlendirilmesi,” *Anadolu Tıbbi Dergisi*, c.1, sayı 3, ss. 46–53, 2022.
- [4]. P. Manzi, L. Gambelli, S. Marconi, V. Vivanti, & L. Pizzoferrato, “Nutrients in edible mushrooms: An inter-species comparative study,” *Food Chem.*, c. 65, sayı 4, ss. 477–482, 1999.
- [5]. U. Lindequist, T.H.J. Niedermeyer, & W.D. Jülich, “The pharmacological potential of mushrooms,” *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, c. 2, sayı 3, ss. 285-299, 2005.
- [6]. A. Eren, “Bazı Makrofungus misellerin antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi,” Yüksek lisans tezi, Biyoloji Ana Bilim Dalı, Bitlis Eren Üniversitesi, Bitlis, Türkiye, 2017.
- [7]. H. H. Doğan, “Karaman yöresinin makrofungusları,” Doktora Tezi, Biyoloji Ana Bilim Dalı, Selçuk Üniversitesi, Konya, Türkiye, 2001.
- [8]. S.S. Erol, “Armutlu (Yalova) yöresinin ekonomik değeri olan mantarları,” Yüksek lisans tezi, Biyoloji Ana Bilim Dalı, Muğla, Türkiye, 2018.
- [9]. H. Solak, M. Işıloğlu, E. Kalmış & H. Allı, *Macrofungi of Turkey Checklist Volume I*, İzmir, Türkiye, Üniversiteliler Ofset, 2007.
- [10]. H. Solak, M. Işıloğlu, E. Kalmış & H. Allı, *Macrofungi of Turkey Checklist Volume II*, İzmir, Türkiye, Üniversiteliler Ofset, 2015
- [11]. H. Solak & A. Türkoğlu, *Macrofungi of Turkey Checklist Volume III*, İzmir, Türkiye, Kanyılmaz Matbacılık, 2022.
- [12]. H. Taşkın, & S. Büyükalaca, “Kuzugöbeği mantarı (*Morchella* spp.)’nın Türkiye’deki bölgesel yayılımı,” *Alatarım*, c.1, sayı 11, ss. 19–24, 2012.
- [13]. H. Taşkın, S. Büyükalaca, H.H. Doğan, & S.A. Rehner, “A multigene molecular phylogenetic assessment of true morels (*Morchella*) in Turkey,” *Fungal Genetics and Biology*, c. 8 sayı 47, ss. 672–682, 2010.

- [14]. M. Işıloğlu, H. Allı, H.B.M. Spooner, & M.H. Solak, “*Morchella anatolica* (Ascomycota), a new species from southwestern Anatolia, Turkey,” *Mycologia*, c.9, sayı 186, ss. 455–458, 2010.
- [15]. E. Eren, & A. Pekşen, “Türkiye’de kültür mantarı üretimi ve teknolojik gelişmeler,” *The Journal of Fungus*, c.10, sayı özel, ss. 225-233, 2019.
- [16]. M. Yalçın, Ç. Akçay, & G. Düzkale Sözbir, “Meşe, kayın odunu ve fındık kabuğu atıklardan *lentinus edodes* (Şitaki) mantarı üretimi,” *Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, c. 8, sayı 3, ss. 2051–2061, 2020 .
- [17]. H. Taşkın, & S. Büyükalaca, “Kuzugöbeği (*Morchella*) mantarı,” *Bahçe*, c. 41 sayı 1, ss. 25–36, 2012.
- [18]. W. Liu, W. Zhou, Z. Wang, X. Zhang, Y. Li & H. Chen, “Cultivation, nutritional value, bioactive compounds of morels, and their health benefits,” *Nutrition and Food Science Technology*, c. 10, sayı 1, ss. 259-271, 2023.
- [19]. Q. Liu, H. Ma, Y. Zhang, & C. Dong, “Artificial cultivation of true morels: current state, issues and perspectives,” *Critical Reviews In Biotechnology*, c. 38, sayı 2, ss. 259-271, 2018.
- [20]. S.P. Wasser, “Current findings, future trends, and unsolved problems in studies of medicinal mushrooms,” *Applied Microbiology Biotechnology*, c. 89, sayı 5, ss. 1323–1332, 2011.
- [21]. E. Çoban, “Bazı makrofungusların antimikrobiyal etkisi üzerinde araştırmalar,” Yüksek Lisans Tezi, Muğla Üniversitesi, Biyoloji Ana Bilim Dalı, Muğla, Türkiye, 2000
- [22]. R. Duman, H.H. Doğan, & A. Ateş, “Antimicrobial activities of the macrofungi of *Morchella conica* (Pers.) Boudier and *Suillus luteus*,” *Selçuk Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi*, c. 1, sayı 22, ss. 19-24, 2003.
- [23]. A. Türkoğlu, I. Kıvrak, N. Mercan, M.E. Duru, K. Gezer, & H. Türkoğlu, “Antioxidant and antimicrobial activities of *Morchella conica* Pers.,” *African Journal of Biotechnology*, c. 5, sayı 11, ss. 1146–1150, 2005.
- [24]. H. Işık, “Tokat yöresinde bulunan bazı makromantar türlerinin antimikrobiyal aktivitesinin araştırılması,” Yüksek lisans tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Biyoloji Ana Bilim Dalı, Tokat, Türkiye, 2008.
- [25]. F. Kalyoncu, M. Oskay, & E. Kalmış, “Bazı yabancı makrofungus misellerinin antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi,” *The Journal of Fungus*, c. 1 sayı 1, ss. 1-8, 2010.

- [26]. R. Varghese & Y. Dalvi, "Natural products as anticancer agents, " *Current Drug Targets*, c.22, sayı 11, ss.1272-1287, 2021.
- [27]. M. Hara, T. Hanaoka, M. Kobayashi, T. Otani, H. Y. Adachi, A. Montani, S. Natsukawa, K. Shaura, Y. Koizumi, Y. Kasuga, T. Matsuzawa, T. Ikekawa, S. Sasaki, & S. Tsugane, "Cruciferous vegetables, mushrooms, and gastrointestinal cancer risks in a multicenter, hospital-based case-control study in Japan." *Nutrition and Cancer*, c. 46, sayı 2, ss. 138–147, 2003.
- [28]. S. A. Hong, K. Kim, N. Seok-Jin, G. Kong, & M. K. Kim, "A case-control study on the dietary intake of mushrooms and breast cancer risk among Korean women," *The International Journal of Cancer*, c. 122, sayı 4, ss. 919–23, 2008.
- [29]. C.A. Wenner, M.R. Martzen, H. Lu, M.R. Verneris, H. Wang, & J.W. Slaton, "Polysaccharide-K augments docetaxel-induced tumor suppression and antitumor immune response in an immunocompetent murine model of human prostate cancer," *International Journal of Oncology*, c. 40, sayı 4, ss. 905–913, 2012.
- [30.] C. Xiong, Q. Li, C. Chen, Z. Chen, & W. Huang, "Neuroprotective effect of crude polysaccharide isolated from the fruiting bodies of *Morchella importuna* against H₂O₂-induced PC12 cell cytotoxicity by reducing oxidative stress," *Biomedicine and Pharmacotherapy*, c. 1 sayı 83, ss. 569–576, 2016.
- [31]. H. Acay, "Yenilebilen yabani mantar *Morchella esculenta* (L.) Pers.'nın Besinsel Kalitesi ve Biyoaktif Özelliklerinin Değerlendirilmesi," *Mantar Dergisi*. c. 9, sayı 2, ss. 95–105 2018.
- [32]. C. Xiong, P. Li, Q. Luo, C.W. Phan, Q. Li, X. Jin, & W. Huang, "Induction of apoptosis in hela cells by a novel peptide from fruiting bodies of *Morchella importuna* via the mitochondrial apoptotic pathway," *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, ss. 1-14, 2021.
- [33]. F.U. Haq, M. Imran, S. Saleem, A. Rafi, & M. Jamal, "Investigation of three *Morchella* species for anticancer activity against colon cancer cell lines by uplc-ms-based chemical analysis," *Applied Microbiology Biotechnology*,. c. 195, sayı 1, ss. 486–504, 2023.
- [34]. D. L. Hawksworth, "The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance, and conservation," *Mycological Research*, c. 95, sayı 6, ss. 641-655, 1991 .
- [35]. T. Baytop, A. Baytop, A. Mat, *Türkiye’de Zehirli Bitkiler Bitki Zehirlenmeleri ve Tedavi Yöntemleri*, İstanbul, Türkiye, İstanbul Üniversitesi Yayınları, 1984.

- [36]. Berch, M. Shannon Ka, Kang-Hyeon, Winder, Park, Hyun, & R.S. Winder, "Development and potential of the cultivated and wild-harvested mushroom industries in the Republic of Korea and British Columbia," BC Journal of Ecosystems and Management, c. 8, sayı 3, ss. 53–75, 2007.
- [37]. O. T. Okan, S. Yildiz, A. Yilmaz, J. Barutciyan, & I. Deniz, "Wild Edible Mushrooms Having an Important Potential in East Black Sea Region," International Caucasian Forestry Symposium, ss., Artvin, Türkiye, 2014, ss. 673–680.
- [38]. <https://xylaria.net/2016/09/30/basidiomycetes-and-ascomycetes/>
- [39]. J.B. Reese & N.A. Campbell, Biology, 6. Baskı, San Francisco, A.B.D, Benjamin Cummings, 2001.
- [40]. G. Kaşık, Mantar Bilimi, Konya, Türkiye, Selçuk Üniversitesi Yayınları, 2010
- [41]. P. Stamets, Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms, 3. Baskı, New York, A.B.D Ten Speed Press, 2000.
- [42]. P. Manzi, A. Aguzzi, & L. Pizzoferrato, "Nutritional value of mushrooms widely consumed in Italy," Food Chem, c. 73, sayı 3, ss. 321–325, 2001.
- [43]. M. Akyüz, & S. Kirbag, "Element contents of *Pleurotus eryngii* (DC. ex Fr.) quel. var. *eryngii* grown on some various agro-wastes," Ekoloji, c. 19, sayı 74, ss.10–14, 2010
- [44]. A. Öztürk, & U.Ö. Çopur, "Mantar bileşenlerinin teröpatik etkileri," Bahçe, c. 38, sayı 1, ss. 19–24, 2009.
- [45]. R. Ragunathan, R. Gurusamy, M. Palaniswamy, K. Swaminathan, "Cultivation of *Pleurotus* spp. on various agro-residues," Food Chemistry c. 55, sayı 2, ss. 139–144, 1996.
- [46]. B. Çöl, E. Balcı, H. Güneş, & H. Allı, "Schizophyllum commune Fr. türünden misel eldesi, moleküler tanımlanması ve antitümör etkisinin araştırılması," Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, c. 21, sayı 2, ss. 586, 2017.
- [47]. F.U. Haq, M. Imran, S. Saleem, A. Rafi, & M. Jamal, "Investigation of three *Morchella* species for anticancer activity against colon cancer cell lines by UPLC-MS-based chemical analysis," Appl Biochem Biotechnol, c. 195, sayı 1, ss. 486–504, 2023.
- [48]. S.P. Wasser, "Medicinal mushroom science : Current perspectives, advances, evidences, and challenges," Biomed Journal, c. 37, sayı 6, ss. 345–356, 2014.
- [49]. Z. Kırış, "Akmağdeni (Yozgat) ve Gemerek Sivas makromantarları," Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Ana Bilim Dalı, Erciyes Üniversitesi, Kayseri, Türkiye, 2011.

- [50]. C.J.G. Duncan, N. Pugh, D.S. Pasco, & S.A. Ross, "Isolation of a galactomannan that enhances macrophage activation from the edible fungus *Morchella esculenta*," J Agric Food Chem, c. 50, sayı 20, ss. 5683–5685, 2002.
- [51]. A.F. Karasoy, H. Okuyucu, & A. Pekşen, "Flammulina velutipes mantarı Flammulina velutipes Mushroom," c. 10, ss.152–162, 2019.
- [52]. Y.K. Liu & W. Shen, "Inhibitive effect of cordyceps sinensis on experimental hepatic fibrosis and its possible mechanism," World J Gastroenterol, c. 9, sayı 3, ss. 529–533, 2003.
- [53]. H. Kreisel, "Liste der ethnomykologisch und biotechnologisch relevanten Pilze," Feddes Repertorium, c. 166, sayı 5, ss. 339-3391, 2005.
- [54]. H. Sermenli Baş, "Morchella Cinsinin Revizyonu," Yüksek Lisans Tezi, Muğla Üniversitesi, Biyoloji Ana Bilim Dalı, Muğla, Türkiye, 2012.
- [55]. <https://www.speciesfungorum.org/Names/SynSpecies.asp?RecordID=3268>
- [56]. T.J. Volk, & T.J. Leonard, "Cytology of the life-cycle of *Morchella*," Mycol Res, c. 94, sayı 3, ss. 399–406, 1990.
- [57]. Pilz, D., McLain, R., Alexander, S., Villarreal-Ruiz, L., Berch, S., Wurtz, T.L., Parks, C.G., McFarlane, E., Baker, B., Randy, M., Smith, J.E.: Ecology and management of morels harvested from the forests of Western North America. United States Department of Agriculture Forest Service Pacific Northwest Research Station 2007.
- [58]. N.S. Weber, A Morel Hunter's Companion: Guide to True and False Morels of Michigan, Michigan, A.B.D., Two Peninsula Press, 1988.
- [59]. Jacquetant, E.: Les morilles. Piantanida, Lausanne, Switzerland 1984.
- [60]. M.Z. Öztürk, G. Çetinkaya, & S. Aydın, "Köppen-Geiger iklim sınıflandırmasına göre Türkiye'nin iklim tipleri," Journal of Geography, c. 35, ss. 17–27, 2017.
- [61]. E.E. Ak, Y. Tüzel, E. Eren, & F. Atilla, "Türkiye'nin mantar ihracatının değerlendirilmesi," Türk Tarım Gıda Bilim Teknoloji Dergisi, c. 4, sayfa 3, ss. 239–243, 2016.
- [62]. A. Pekşen, & H. Akdeniz, "Organik ürün olarak doğa mantarları" Düzce Üniversitesi Ormancılık Dergisi, c. 8, sayı 1, ss. 34–40, 2012.
- [63]. H. Taşkın, H.H. Doğan, S. Büyükalaca, P. Clowez, P.A. Moreau, & K. O'Donnell, "Four new morel (*Morchella*) species in the elata subclade (M. sect. Distantes) from Turkey," Mycotaxon, c. 131, sayfa 2, ss. 467–482, 2016.

- [64]. İ. Keskinılıç, Moleküler Yöntemlerin Kullanımı İle Türkiye Morchella (Kuzugöbeği) Cinsi Genetik Çeşitliliğine Katkılar Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı, Adana, Türkiye, 2019.
- [65] J.A. Kim, E. Lau, D. Tay, & E.J.C. De Blanco, “Antioxidant and NF- κ B inhibitory constituents isolated from *Morchella esculenta*” *Natural Product Research*, c. 25, sayı 15, ss. 1412–1417, 2011.
- [66]. J. Wang, J. Xiao, F. Geng, X. Li, J. Yu, Y. Zhang, Y. Chen, & D. Liu, “Metabolic and proteomic analysis of morel fruiting body (*Morchella importuna*),” *Journal of Food Composition and Analysis* c. 76, ss. 51–57, 2019.
- [67]. M. Ajmal, A. Akram, A. Ara, S. Akhund, & B. Gagosh Nayyar, “*Morchella esculenta*: An edible and health beneficial mushroom,” *Pakistan Journal of Food Sciences*, c. 25, sayı 2, ss. 71–78, 2015.
- [68]. S.A. Heleno, D. Stojković, L. Barros, J. Glamočlija, M. Soković, A. Martins, M.J.R.P. Queiroz, & I.C.F.R. Ferreira, “A comparative study of chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of *Morchella esculenta* (L.) Pers. from Portugal and Serbia,” *Food Research International*, c. 51, sayı 1, ss. 236–243, 2013
- [69]. J.Z. Ying, *Icons of medicinal fungi from China*, Beijing, China Science Press, 1987.
- [70]. S. Li, A. Gao, S. Dong, Y. Chen, S. Sun, Z. Lei, & Z. Zhang, “Purification, antitumor and immunomodulatory activity of polysaccharides from soybean residue fermented with *Morchella esculenta*,” *International Journal of Biological Macromolecules*, c. 96, ss. 26–34, 2017.
- [71]. F. Kalyoncu, M. Oskay, H. Sag, F. Erdog & A. U. Tamer, “Antimicrobial and Antioxidant Activities of Mycelia of 10 Wild Mushroom Species,” *Journal of Medicinal Food*, c. 13, sayı 2, ss. 415-9, 2010.
- [72]. L. Chao, S. Yonghai, M. Qian, G. Xiaolei, L. Peng, L. Yang, & X. Na, “Characteristics and antitumor activity of *morchella esculenta* polysaccharide extracted by pulsed electric field,” *Int J Mol Sci*, c. 17, sayı 6, ss. 986–987, 2016.
- [73]. B. Nitha, & K.K. Janardhanan, “Aqueous-ethanolic extract of morel mushroom mycelium *Morchella esculenta*, protects cisplatin and gentamicin induced nephrotoxicity in mice,” *Food and Chemical Toxicology*, c. 46, sayı 9, ss. 3193–3199, 2008.
- [74]. M.E. Roze, “Adherence de la base d’appareils ascospores de *Morchella* sur *Helianthus*,” *Bull Soc Bod France*, c. 19, ss. 166–167, 1882.

- [75]. H. Tan, A. Kohler, R. Miao, T. Liu, Q. Zhang, B. Zhang, L. Jiang, Y. Wang, L. Xie, J. Tang, X. Li, L. Liu, I.V. Grigoriev, C. Daum, K. LaButti, A. Lipzen, A. Kuo, E. Morin, E. Drula, B. Henrissat, B. Wang, Z. Huang, B. Gan, W. Peng, & F.M. Martin, “Multi-omic analyses of exogenous nutrient bag decomposition by the black morel *Morchella importuna* reveal sustained carbon acquisition and transferring,” *Environmental Microbiology*, c. 21, sayı 10, ss. 3909–3926, 2019.
- [76]. R. Ower, Brief Articles Notes on The Development of The Morel Ascocarp: *Morchella esculenta*,” *Mycologia*, c. 74, sayı 1, ss. 142–144, 1982.
- [77]. M. Kuo, D.R. Dewsbury, K. O’Donnell, M.C. Carter, S.A. Rehner, J.D. Moore, J.M. Moncalvo, S.A. Canfield, S.L. Stephenson, A.S. Methven, & T.J. Volk, “Taxonomic revision of true morels (*Morchella*) in Canada and the United States,” *Mycologia*, c. 104, sayı 5, ss. 1159–1177, 2012.
- [78]. Y.C. Zhao, H.M. Cai, X.L. Zhang, “Difficulties and prospect of Morel commercialization in China,” *China Edible Med Mushrooms*, c. 24, ss. 133–139, 2016
- [79]. Y.L. Cai, X.L. Ma, Q.Q. Zhang, F.Q. Yu, Q. Zhao, W. Huang, J.X. Song, & W. Liu, “Physiological Characteristics and Comparative Secretome Analysis of *Morchella importuna* Grown on Glucose, Rice Straw, Sawdust, Wheat Grain, and MIX Substrates,” *Frontiers in Microbiology*, c. 12, 2021.
- [80]. <https://www.aa.com.tr/tr/ekonomi/mersinde-arastirma-enstitusunun-serasinda-kuzugobegi-mantari-yetistirildi/2560590> (Son Erişim 23.07.20023).
- [81]. J. Breitenbach & F. Kränzlin, *Fungi of Switzerland*, Vol. 1 Ascomycetes, 2. Baskı, Luzern, Switzerland, Edition Mycologia Lucerne, 1984.
- [82]. G. Meardi, *Ascomiceti d’Italia*, Rezzato, Italy, Centro Studi Micologici ,2006
- [83]. M. Loizides, “Morels: the story so far A genus locked in controversy,” *Mycologia* c. 113, sayı 3, ss. 559-573, 2021.
- [84]. S.G. Jonathan, & I.O. Fasidi, “Requirements for vegetative growth of *Tricholoma lobayensis* (Heim), a Nigerian edible fungus,” *Advances in food sciences*, c. 25, sayı 3, ss. 91–95, 2003.
- [85]. K. Sambyal, & R.V. Singh, “A comprehensive review on *Morchella importuna*: cultivation aspects, phytochemistry, and other significant applications. *Folia Microbiol (Praha)*, c. 66, ss. 147–157, 2021.
- [86]. A. Eren, M. Akyüz, “Bazı Makrofungus Misellerin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi,” *Mantar Dergisi*, c. 9, sayı 2, ss. 196–205, 2018.

- [87]. K. Scales, A. Schlacks, T. Parr, & M. Soendergaard, "Antioxidant capacity and antiproliferative activity of *Morchella esculenta* in human ovarian adenocarcinoma cells," *The FASEB Journal*, c. 34, ss. 1–1, 2020.
- [88]. E.H. Erbiai, B. Amina, A. Kaoutar, R. Saidi, Z. Lamrani, E. Pinto, J.C.G. Esteves da Silva, A. Maouni, & L. Pinto da Silva, "Chemical characterization and evaluation of antimicrobial properties of the wild medicinal mushroom *Ganoderma lucidum* growing in northern moroccan forests," *Life*, c. 13, sayı 5, 2023.
- [89]. J.Y. Wong, & F.Y. Chye, "Antioxidant properties of selected tropical wild edible mushrooms," *Journal of Food Composition and Analysis*, c. 22, sayı 4, ss. 269–277, 2009.
- [90]. P. Clowez, J.-M. Bellanger, L. Romero La Osa, P.-A. Moreau, "*Morchella palazonii* sp. nov. (Ascomycota, Pezizales): une nouvelle morille méditerranéenne. Clé des *Morchella* sect. *Morchella* en Europe," *Documents mycologiques*, c. 36, sayı 1, ss. 71-74, 2015.
- [91]. H. Baran, P. Güler, & M. Türk, "Russula delica Fr. Sitotoksite, Apoptik ve Nekrotik Etkileri," *NWSA Academic Journals*, c. 12, sayı 4, ss. 48–55 2017 .
- [92]. B. Tül, Bazı mantar türlerinin antimikrobiyal ve antitümör etkilerinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Muğla Üniversitesi, Biyoloji Ana Bilim Dalı, Muğla, Türkiye, 2012.
- [93]. U. Bayrak, E. Gram, E. Mengeş, Z.G. Okumuş, H.C. Sayar, E. Skrijelj, A. Açıkgoz, R. Çehreli, & H. Ellidokuz, "Üniversite öğrencilerinin sağlıkla ilgili alışkanlıklar ve kanser konusundaki bilgi ve tutumları," *DEÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, c. 24, ss. 95–104, 2010.
- [94]. U. Bayrak, E. Gram, E. Mengeş, Z.G. Okumuş, H.C. Sayar, E. Skrijelj, A. Açıkgoz, R. Çehreli, & H. Ellidokuz, "Üniversite öğrencilerinin sağlıkla ilgili alışkanlıklar ve kanser konusundaki bilgi ve tutumları," *DEÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, c. 24, ss. 95–104, 2010.
- [95]. X. Liao, F. Li, Y. Tan, K. Lu, S. Wu, R. Yin, & J. Ming, "Cellular antioxidant and antiproliferative activities of *morchella conica* pers. polyphenols in vitro," *Journal of Food and Nutrition Research*, c. 5, sayı 10, ss. 742–749, 2017.
- [96]. D. Peng, Y. Wen, S. Bi, C. Huang, J. Yang, Z. Guo, W. Huang, J. Zhu, R. Yu, & L. Song, "A new GlcNAc-containing polysaccharide from *Morchella importuna* fruiting bodies: Structural characterization and immunomodulatory activities in vitro and in

- vivo,” *International Journal of Biological Macromolecules*, c. 192, ss. 1134–1149, 2021.
- [97]. H. Bekçi, B. Altınsoy, S. Sarıkaya, D. Onbaşılı, G. Yuvalı Çelik, “Kastamonu yöresinden toplanan bazı makrofungusların antimikrobiyal aktivitesi,” *Journal of Forestry Faculty*, c. 11, sayı 2, ss. 187–190, 2011.
- [98]. S.A.M. Khalifa, M.A. Farag, N. Yosri, J.S.M. Sabir, A. Saeed, S.M. Al-Mousawi, W. Taha, S.G. Musharraf, S. Patel, & H.R. El-Seedi, “Truffles: From Islamic culture to chemistry, pharmacology, and food trends in recent times,” *Trends in Food Science and Technology*, c. 91, ss. 193–218, 2019.
- [99]. H. Işık, İ. Türkekul, & İ. Karaman, “Tokat ve Yozgat bölgelerinden toplanan bazı yenilebilir mantarların antimikrobiyal potansiyeli üzerine bir araştırma,” *Türk Doğa ve Fen Dergisi*, c. 9, sayı 1, ss. 125–130, 2020.
- [100]. B. Poyraz, H. Güneş, B. Tül, & H.B. Sermenli, “Antibacterial and antitumor activity of crude methanolic extracts from various macrofungi species,” *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, c. 8, sayı 1, ss. 1308–1261, 2015.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : SELİME SEMRA EROL

Yabancı Dili : İNGİLİZCE

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Doktora	Doğal ve Bitkisel Kozmetik Ürünler Anabilim Dalı	Düzce Üniversitesi	2023
Y. Lisans	Fen Bilimleri Enst. Biyoloji A.B.D.	Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi	2017
Lisans	Fen Fak. Biyoloji Bölümü	Ankara Üniversitesi	2008
Lise	Dalaman Yabancı Dil Ağırlıklı Lise	Dalaman Lisesi	2002

AKADEMİK YAYINLAR

PROJELERDE YAPTIĞI GÖREVLER:

Mantar Miselinden Kompozit Malzemeler- İYİEKİM MYCO Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu 1512 Teknogirişim Sermayesi Desteği Programı (BiGG); Danışman 01.02.2023 – DEVAM EDİYOR (ULUSAL)

Ekolojik ve farmakolojik değere sahip bazı makrofungusların moleküler analizi ve biyoteknolojik yöntemler ile üretilmesi, Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi; Araştırmacı 01/06/2021- DEVAM EDİYOR (ULUSAL)

Yenilebilir ve Tıbbi Mantarların Biyoteknolojik Yöntemlerle Misel Üretimi (650.653 TL bütçeli KOSGEB Projesi); Proje Yürütücüsü Düzce KOSGEB İl Müdürlüğü – Düzce Teknopark 21.03.2019-21.03.2021 (ULUSAL)

Üniversitemizin Sağlık Alanında İhtisaslaşması Kapsamında Düzce Tıbbi ve Aromatik Bitkilerinin Araştırılması, Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi; Araştırmacı 02/07/2018 – 02.07.2020 (ULUSAL)

Düzce yöresindeki bazı lignoselülozik atıklardan *Lentinus edodes* (shiitake) mantarının üretilme olanaklarının araştırılması, Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi; Araştırmacı 01/03/2018- 01/03/2019 (ULUSAL)

Kütahya İli Makrofunguslarının Fenotipik Ve Moleküler Yöntemlerle Belirlenmesi, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu Başkanlığı Projesi: Bursiyer 15.04.2011 -15.11.2011

ULUSAL BİLİMSEL TOPLANTILARDA SUNULAN VE BİLDİRİ KİTAPLARINDA (PROCEEDINGS) BASILAN BİLDİRİLER

Candar,S.S, Allı, H., “Yalova İli Makrofungusları” , 21. Ulusal Biyoloji Kongresi 03-07 Eylül 2012- İzmir, S: 1192 (Poster Bildiri)

ULUSLARARASI BİLİMSEL TOPLANTILARDA SUNULAN VE BİLDİRİ KİTAPLARINDA (PROCEEDINGS) BASILAN BİLDİRİLER

M. Işıloğlu, H. Allı, H. Güngör & S.S. Candar, “*Macrofungi of Liquidambar orientalis Mill. Forests in Muğla (Turkey)*” XVI. Congress of European Mycologists, 19-23 September 2011 (Thessaloniki) Greece, P:160 (Sözlü Bildiri)

S.S. Candar, H. Allı, & S.D. Koç, “Türkiye *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. Kontrol Listesi”, Fitoterapi, Aromaterapi ve Kozmetikte Yenilikler Kongresi 15-17 Eylül 2017- İstanbul (Sözlü Bildiri)

S.S. Erol, & E. Kaya, (2018). Düzce İlindeki Aktarlık Uygulamaları Üzerine Bir Çalışma. Uluslararası Geleneksel Ve Tamamlayıcı Tıp Kongresi (Özet Bildiri/Poster) (Yayın No:4260651)

S.S. Erol, & H. Allı, “*Liquidambar orientalis* Mill. Ormanlarında Muğla (Türkiye) Tespit Edilen Bazı Tıbbi Mantarlar.” Uluslararası Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Kongresi (Özet Bildiri/Poster) (Yayın No:4260649)

S.S. Erol, & H. Allı, (2019). 2.Uluslararası Avrasya Mikolojisi Kongresi'nde "Economically Valueable Mushrooms of Armutlu Yalova" (Özet Bildiri/Poster), 04-06 Eylül 2019

M.K. Soylu S.S. Erol, (2019). "XI. Türkiye Yemeklik Mantar Kongresi"ne "Yalova'da bulunan *Picoa junpeir Vittad.*'ın Makroskobik ve Mikroskobik Özellikleri ve Yalova Orman Ekosisteminde Bazı Yaban Mantarları ve Yöre Halkının Yaban Mantarları Hakkındaki Bilgi Birikimi" (Özet Bildiri/Poster), 09-11 Ekim 2019

ULUSAL HAKEMLİ DERGİLERDE YAYIMLANAN MAKALELER

H. Allı, S. Candar, & I. Akata, "Macrofungal Diversity of Yalova Province". Mantar Dergisi 8, 76-84, (2017) <http://dergipark.gov.tr/mantar/issue/31507/289613>

ULUSLARARASI HAKEMLİ DERGİLERDE YAYIMLANAN MAKALELER

S.S. Erol, I. Akata, & E. Kaya, "Use of Macrofungi in Traditional and Complementary Medicine Practices: Mycotherapy" *International Journal of Traditional and Complementary Medicine Research* Cilt:1, Sayı:2, Sayfa:70-78 (2020)