

Gölgem Bahar ÖZTEKİN^{1*}

¹Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi,
Bahçe Bitkileri Bölümü

¹ORCID: 0000-0001-6023-013X

*Sorumlu yazar:

golgen.oztekin@ege.edu.tr

DOI

<https://doi.org/10.46291/ISPECJASv>

[ol5iss1pp27-39](#)

Alınış (Received): 16/12/2020

Kabul Tarihi (Accepted): 18/01/2021

Anahtar Kelimeler

Lentinula edodes, PDA, MEA, in-vitro, tohumluk misel, klon

Keywords

Lentinula edodes, PDA, MEA, in-vitro, spawn, clone

Farklı Besi Ortamları, Aşılama Yöntemleri ve Sıcaklıkların Shii-Take Mantarında Misel Gelişimi Üzerine Etkileri

Özet

Bu çalışma in-vitro koşullarda 2 farklı besiy ortamında [patates dekstrozu agar (PDA) ve malt ekstrakt agar (MEA)] ve 5 farklı sıcaklıkta (10, 15, 20, 25 ve 30°C) shii-take mantar (*Lentinula edodes*) miselinin gelişim süresi ve hızını belirlemek amacıyla yürütülmüştür. Araştırmada kullanılan tohumluk miseller Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü (Yalova)'ndan, klon olarak kullanılan anaçlık mantar AgroMantar (Denizli)'den temin edilmiştir. Hazırlanan MEA (48 g/L) ve PDA (39 g/L) besiy ortamları 121°C'de 20 dk otoklavlandıktan sonra ılıkken steril kabin içerisinde UV ışık altında petri kaplarına doldurulmuş ve soğumaya bırakılmıştır. Anaçlık özellikteki shii-take mantarı alkolle dezenfekte edildikten sonra klonlar alınmış, tohumluk misellerden ise tek dane alınarak petri kaplarında besiy ortamları üzerine yerleştirilmiş ve petri kapları parafilm ile kapatılmıştır. Her konudan 15 adet petri kabı hazırlanmış ve petri kapları uygun sıcaklıkta inkübatöre yerleştirilmiştir. Düzenli olarak farklı iki noktadan günlük misel uzunlukları ölçülmüş; petri kapları miseller ile tam sarıldığında ölçümler bitirilmiştir. Elde edilen verilerden misel gelişim süresi (gün) ve hızı (mm/gün) hesaplanmıştır. Uygulamaların teksel, ikili ve üçlü etkileşimlerini istatistiksel önem derecesinde etkilemiştir. Kullanılan besiy ortamları içerisinde MEA, PDA'ya göre, dane misel aşılama hızı doku aşılama hızına göre, 25°C diğer sıcaklık derecelerine göre daha kısa sürede daha hızlı misel gelişimi sağlamıştır. Araştırma sonuçlarına göre 25°C x MEA x dane misel aşılama hızı shii-take mantar miseli üretiminde uygun bulunmuştur.

Effect of Different Growth Media, Incubation Methods and Temperatures on Mycelium Growth of Shii-Take Mushroom

Abstract

This study was carried out to determine the effect of different agar media [potato dextrose agar (PDA) and malt extract agar (MEA)] and temperatures (10, 15, 20, 25 ve 30°C) on mycelium growth period and speed of shii-take mushroom. The mushroom spawn and carpophore used in the experiment was provided by Atatürk Horticultural Central Research Institute (Yalova) and Agro Mantar (Denizli), respectively. The prepared MEA (48 g L⁻¹) and PDA (39 g L⁻¹) medium was autoclaved at 121°C for 20 minutes, they were filled into petri dishes under UV light in a sterile cabinet after they became warm and left to cool. After disinfection of stock mushroom carpophores with alcohol, clones were taken from carpophore and one grain was taken from spawn and they were placed on the medium in petri dishes and petri dishes were closed with parafilm. 15 petri dishes from each treatment were prepared and the petri dishes were placed in the incubator at different temperatures. Mycelium lengths were measured regularly from same points and mycelia growth period (day) and speed (mm day⁻¹) was calculated. The main, double and triple interactions of the treatments affected the mycelia development in statistical significance. Among the tested growth media, inoculation methods and temperatures, MEA, grain spawn and 25 °C provided faster mycelia development in a shorter time compared to other treatments. According to the results of research, 25 °C x MEA x grain mycelia inoculation is found appropriate in the production of shii-take mushroom mycelium.

GİRİŞ

Yenilen mantarlar, gerek gıda, gerekse tıbbi özellikleri nedeni ile insanlık tarihinde binlerce yıldan beri önem taşıyan organizmalardır (Wasser, 2002). Yüksek oranda kaliteli protein, ham lif, mineraller, vitaminler, bol miktarda aminoasit, mono ve disakkaritler, alkoller, glikojen ve kitin içermeleri, ayrıca düşük yağ içeriğine sahip olmaları beslenmede tercih nedeni olmalarını sağlamaktadır. Beslenmeye olan katkıları nedeni ile her zaman ilgi odağı olan yenilen mantarların, 1958 yılına kadar *Agaricus*, *Lentinula*, *Pleurotus*, *Auricularia*, *Volvariella*, *Flammulina* ve *Tramella* cinsleri dünya mantar üretiminin %90'lık kısmını oluştururken, 50'li yıllardan sonra mantar pazarına bazı yeni mantar türleri de (tıbbi ve egzotik) dahil olmuştur (Chang ve Roh, 1999).

“Shii-take, Meşe ya da Çin mantarı” olarak bilinen *Lentinula edodes*, yenilebilen bir mantar türü olup, Dünya’da kültürü yapılan ve en çok üretilen mantarlar (*Agaricus*, *Pleurotus* ve *Lentinula* türleri) arasında üçüncü sırada yer almaktadır. Özellikle doğu ülkelerinde sahip olduğu lezzet ve tıbbi özellikler nedeniyle tüketimi tercihlerde ilk sıralarda yer almaktadır (Boztok ve Erkip, 2002). Doğu ve Güneydoğu Asya ülkelerinde hayat iksiri olarak bilinen bu mantar Çin, Kore, Japonya, Singapur, Tayland ve diğer Asya ülkelerinde yüzyıllardır yetiştirilmektedir. Ülkemizde de benzer şekilde kültüre alınabilen yenilebilir mantarlar içerisinde beyaz şapkallı ve kestane mantarı (*Agaricus* spp.) ve istiridye (katın) mantarından (*Pleurotus* spp.) sonra üçüncü sırada üretilmektedir. Türkiye’de *Lentinula edodes* ilgili akademik çalışmalar 1990’lı yıllarda yapılmaya başlanmış olmasına rağmen, bu türün ticari yetiştiriciliği ancak 2010 yılından sonra yaygınlaşmıştır (Ciesla, 2002; Eren ve Pekşen, 2016).

Shii-take mantarı, doğal bir sağlık koruyucu ve uzun yaşamın sırrı olarak yüzyıllardır lezzetli tadı ve besin değeri nedeniyle tüketilmektedir. Tıbbi mantar

olarak da bilinen bu mantar ayrıca antitümör ve antiviral reaksiyona sahip olması ve cinsel gücü artırması nedeniyle de her geçen gün popülaritesi artan çok değerli bir mantardır (Stamets, 1993). Sağlıklı ve dengeli beslenme açısından; sahip olduğu düşük yağ içeriği ve zengin lif yapısının yanı sıra eritadenin, biyoaktif polisakkarit (lentinan), vitamin B1, B2, B12, C ve D açısından da oldukça zengindir (Manzi ve ark., 2001; Beelman ve ark., 2004). Çok lezzetli olmaları yanında özellikle sağlık açısından, diyet programına alınması tavsiye edilmektedir (Boztok ve Erkip, 2002).

Lentinula edodes sistematikte Fungi âleminin, “Basidiomycota” bölümünün bir üyesidir. Basidiomycota bölüm üyelerinde sporlar bazidiyumların üzerinde oluşur. Bu grubun en belirgin özelliği yaşam döngülerinde hücrelerinde dikaryotik (iki çekirdek taşıdığı) bir dönemin görülmesidir. Bir diğer belirgin özellikleri de hücre duvarlarının iki katlı olmasıdır. Bu mantarların eşey organları gelişmemekle birlikte eşeysiz üremeleri bazidiosporlar ile gerçekleşmektedir. Eşeyli üremeleri ise somatogami ile yani farklı eşeye sahip haploit monokaryotik misellerin toprakta birbirlerine yaklaşması sonucu oluşmaktadır (Ağaoğlu ve ark., 1992).

Nemli ve ılıman iklimte sahip yerlerde, sert dokulu ağaçların gövdelerinde yetişmektedir. Ağaç kütüklerine aşılardan itibaren meyvenin görüldüğü ilk ana kadar geçen süre, kullanılan misel kültürüne, ağacın cinsine ve iklim şartlarına bağlı olarak, 6-18 ay arasında değişiklik göstermektedir. Kütüklerin verimli kullanım süresi ise 3 ila 5 yıl arasındadır (Stamets, 1993). Shii-take mantarının türe özel kompost içerisinde de kültüre alınması mümkündür (Khan ve ark., 1991; Kalmış ve Kalyoncu, 2007). Milyonlarca spor oluşturabilme özelliğine sahip olan mantarlar doğada bu sporların yayılarak uygun sıcaklık ve nem koşullarında çimlenmesi ile ürerler. Oysa ticari olarak yapılan üretimlerde sporların kullanımları söz konusu değildir. “Tohumluk misel” adı

verilen, hububat daneleri veya değişik organik maddelere sardırılmış sekonder miseller kullanılır (Günay ve ark., 1984). Tohumluk misel üretimi için *Agaricus* ve *Pleurotus* cinslerine giren türlerde genellikle buğday, çavdar, darı, sorghum gibi hububat daneleri sardırma ortamı olarak; *Lentinus edodes* gibi bazı türlerde ise küçük ağaç dalı parçacıkları kullanılmaktadır. Buna karşılık bazı ülkelerde çeltik, kompost, perlit gibi materyallerde sardırma ortamı olarak değerlendirilebilmektedir (Abak, 1989).

Mantar yetiştiriciliğinin tarihine bakıldığında, 16. yüzyıldan 20. yüzyılın başına kadar olan süre içinde mantar yıkama suyunun aşılama materyali olarak kullanıldığı ilkel bir tohumluk misel anlayışı görülür. Modern anlamda misel üretimi ise, Fransa'da Constantin ve Matruchet'in (1893) mantar sporlarını çimlendirme suretiyle ilk misel kültürünü elde etmeleriyle başlamıştır. Bunu 1902-1905 yılları arasında Ferguson ve Duggar tarafından geliştirilen doku kültürü yöntemi izlemiş ve böylece hatların saf olarak üretiminde doku kültürü etkili bir yöntem olarak ortaya çıkmıştır. Tohumluk misel üretimindeki son aşama, misellerin hububat daneleri üzerine sardırılması olmuştur ve bu sistem ilk kez Amerika'da 1931 yılında Sinden tarafından geliştirilmiştir (İlbağ ve Günay, 1992).

Günümüzde bütün dünya ülkelerinde yaygın olarak kullanılan tohumluk misel üretim yöntemi iki aşamada gerçekleştirilir. İlk olarak ana kültürler, gelişmiş mantar şapkalarının altında bulunan lamellerde oluşan sporların çimlendirilmesiyle ya da mantar şapkasından alınan dokulardan misel gelişmesi ile elde edilir. Ana kültürler için kullanılan katı ortamlar hem ekonomik olmaması hem de bu ortamların ekim sırasında enfeksiyon merkezi oluşturma riski nedeniyle doğrudan doğruya üretimde kullanılmamaktadır. Değişik maddeler ve özellikle hububat danelerine aşılama suretiyle tohumluk materyaller elde edilir (Günay, 1995).

Ülkemiz misel eldesinde dışa bağımlı olmakla beraber, ithal edilen misellerin ülke içinde akredite olmuş laboratuvarlarda çoğaltılması şeklinde bir uygulama söz konusudur. 2019 yılında ithal edilen tohumluk misel miktarı 2573332 kg olup, ithalatın Macaristan, Polonya, Ukrayna ve Fransa'dan yapıldığı görülmektedir (TUIK, 2020). Bununla birlikte ülke içinde üretilen tohumluk miseller İran, Gürcistan, Irak, Kuveyt, Azerbaycan, Kuzey Kıbrıs ve Suriye gibi ülkelere ihraç edilmektedir. Misel gelişiminin, şapka oluşumu için uygun içsel koşulların yaratılmasında önemli olduğu, bu nedenle misel gelişiminin iyi olmasının mantar üretiminde hayati bir faktör olduğunu bilinmektedir (Pokhrel ve ark., 2009).

Misel kalitesi kullanılan anaçlık materyal ve kültürlere, kullanılan besi ortamına, üretim aşamasındaki koşullara, kullanılan dane türüne, depolanma süresine göre değişebilmektedir. Tohumluk misel başlangıç materyali olması nedeni ile önemli bir materyaldir ve kalitesinin verime doğrudan etkisi olması nedeni ile yüksek olması beklenmektedir. Ancak shii-take mantarında misel gelişimi ile ilgili pek fazla çalışma yapılmadığı ve yapılan çalışmaların üretim aşamasında kaldığı görülmektedir. Bu da tohumluk misel konusunda çalışmaların ve üretim protokollerinin az olduğunu göstermektedir. Günümüzde üretim miktarı gittikçe artan shii-take mantarının tohumluk misel üretimi ile ilgili protokolleri çeşitlendirmek ve misel kalitesini arttırmaya yönelik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmada kullanılan shii-take mantar türü insan beslenmesindeki önemi ve antitümör özelliği ile kansere çözüm olması nedeni ile Uzakdoğu ülkelerinde fazlaca üretilmekte ve tüketilmektedir. Ülkemizde üretim ve tüketimi az olan bu mantarın misel üretim safhasında ana kültür hazırlığında protokollerin oluşturulması büyük önem taşımaktadır.

Yürütülen araştırmada misel üretimi için ana kültür üretiminde en çok kullanılan iki besi ortamında [patates dekstroz agar (PDA) ve malt ekstrakt agar (MEA)] ve 5 farklı sıcaklıkta (10, 15, 20, 25 ve 30°C) shii-take mantar (*Lentinula edodes*) miselinin gelişmesi incelenmiş ve en uygun ortam ve sıcaklığın ortaya konulması amaçlanmıştır. Bu çalışma shii-take mantarı ile yürütülecek daha sonraki çalışmalara ışık tutacaktır.

MATERYAL ve YÖNTEM

Araştırma Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'ne ait mantar üretim ve araştırma laboratuvarında 2019 yılı içerisinde yürütülmüştür. Araştırmada 2 farklı besi ortamı [Patates dekstroz agar (PDA), Malt ekstrakt agar (MEA)], 2 farklı aşılama yöntemi [dane misel ve doku (klon) aşılması] ve 5 farklı sıcaklık derecesi (10, 15, 20, 25 ve 30 °C) kullanılmıştır. Çalışmada tüm işlemler laboratuvara bulunan HEPA filtreli ve UV-C lambasına (Philips, TUV 30W/G30 T8, Polonya) sahip steril kabin (ESCO Laminar Flow Cabinet, Singapur) içerisinde gerçekleştirilmiştir. İşlemler başlamadan önce kabin önce kloraklı su ile daha sonra saf etil alkol temizlenerek steril edilmiştir. Daha sonra kabin içerisindeki UV lamba açılarak 1 gece sterilizasyon için bırakılmıştır.

Araştırmada mantar miseli üretiminde en çok kullanılan iki besi ortamı olan PDA, (39.0 g/L) (Merck 1.10130) ve MEA, (48.0 g/L) (Merck 1.05398) kullanılmıştır. Tartımı yapılan besi ortamları saf suda eritilerek otoklav şişelerine konularak 121 °C'de 20 dakika steril edilmiştir. Otoklavdan çıkan ve tutulabilecek sıcaklığa kadar soğuyan besi ortamları steril tek kullanımlık polistiren 90 x 17 mm'lik petri kaplarına (İSOLAB, İstanbul) aktarılmıştır. Petri kaplarının dolum aşamasına geçilmeden önce dış ambalajı saf etil alkol ile dezenfekte edilmiş ve steril kabin içerisine alınmıştır. Hazırlanan besi ortamları steril kabin içerisinde petri kaplarına dikkatlice doldurulmuştur (12.5

ml/petri) ve hemen parafilm ile etrafları kapatılmıştır. Petri kapları 1 gece kabin içerisinde UV ışık altına tutulmuştur. Aşılama kullanılan tüm el aletleri (pens, neşter vs) otoklavda 121°C'de 20 dakika otoklavlanmış, steril halde steril kabin içerisinde tutulmuştur. El aletleri kullanılmadan önce ve her kullanım öncesi saf alkole batırılıp uçları ispirota ocağında yakılmıştır.

Aşılama dane misel ve doku aşılması olmak üzere 2 farklı aşılama yöntemi kullanılmıştır. Shii-take mantarı tohumluk miseli Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü (Yalova)'nden temin edilmiştir. Tohumluk dane misel ambalajı kabin dışında saf alkol ile dezenfekte edildikten sonra steril kabin içerisine alınmış ve açılmıştır. Hazırlanan petri kaplarında agar ortalarına bu stoktan alınan 1 adet üzeri misel sarılı dane misel konulmuştur. Doku (klon) aşılmasında kullanılacak anaçlık mantar AgroMantar (Denizli)'den temin edilmiştir. Doku parçası alınacak olan shii-take mantarı %60'lık alkollü su ile temizlenip, UV lambalı kabin içerisinde kurumaya bırakılmıştır. Steril kabin içerisinde yine steril bir petri kabı üzerinde yaklaşık 0.5 cm² ebatlarında kesilen doku parçaları, bek alevinden geçirildikten sonra petri kapları içerisindeki agar ortamı üzerine, petri kaplarının tam ortasına yerleştirilmiştir. Hazırlanan petri kaplarının kapakları kapatılmış ve etrafı parafilm ile sarılmıştır. Her bir deneme konusundan 20 adet petri kabı hazırlanmıştır. Ancak her türlü hijyen önlemine karşı bazı petri kaplarında bulaşma olmuş ve denemeden çıkartılmıştır.

Aşılama petri kapları vakit kaybetmeden konusuna uygun sıcaklığı ayarlanmış inkübatöre (BINDER Cooled incubator KB 23 ULKB 23, Almanya) yerleştirilmiştir. Yerleştirmeden önce inkübatör önce kloraklı su ile sonra saf alkol ile steril edilmiştir. Aşılama tarihleri laboratuvarında başlangıçta 1 adet inkübatör olduğu için sıcaklık denemelerine göre arka arkaya yapılmış; 10, 15 ve 20 sıcaklık

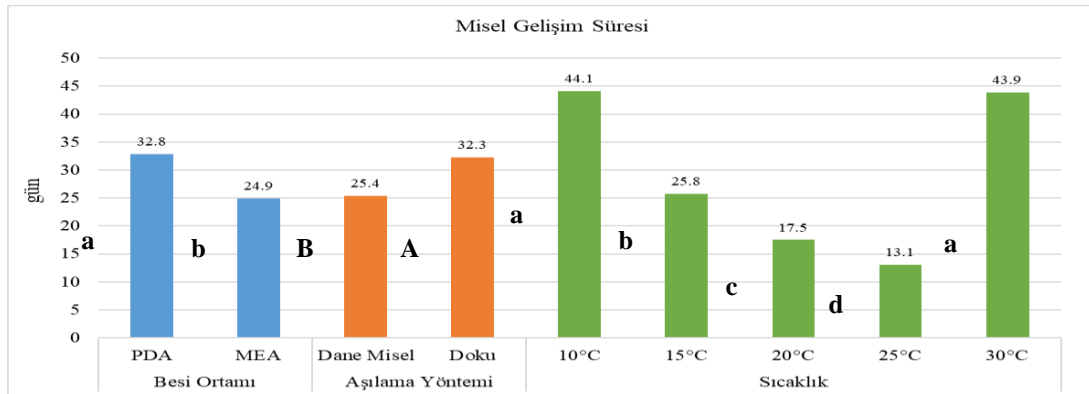
uygulamasında aşılama sırasıyla 08.07.2019, 02.07.2019 ve 28.06.2019 tarihinde yapılmıştır. Daha sonra tamiri yapılan diğer inkübatör de devreye sokulmuş; 25, 30 °C sıcaklık uygulamasında aşılama aynı anda farklı inkübatörde 14.11.2019 tarihinde yapılmıştır. Her sıcaklık uygulamasında 2 besi ortamı ve 2 aşılama yöntemi birlikte hazırlanmıştır. Petri kapları inkübatöre konulduktan sonra her gün işaretlenen iki noktadan misel uzunlukları dijital kumpas (Mitutoyo, Japonya) yardımı ile ölçülmüştür. Ölçümler miseller petri kaplarını tamamen sarana kadar devam etmiştir. Elde edilen verilerden misel gelişim süresi (gün), misel gelişim hızı (mm/gün) ve misel ağırlığı (g/petri) hesaplanmıştır.

Araştırmadan elde edilen verilerin ortalamaları alınarak, günlük değişim değerleri ve yüzde farklılıkları belirlenmiştir. Veriler bilgisayarda JMP istatistik paket programında değerlendirilmiş ve ortalamalar arasındaki fark TUKEY testine göre belirlenmiştir.

BULGULAR

Misel Gelişim Süresi

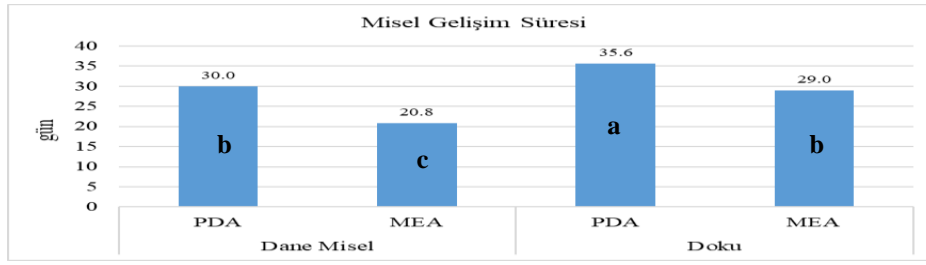
Uygulamaların ana etkisinin shii-take mantarında misel gelişimi süresi üzerine etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Besi ortamları arasında MEA ortalama 24.9 günde, PDA ortamı 32.8 günde petri kaplarını sarmış ve MEA ortamı PDA ortamına göre %24.1 oranında daha kısa sürede misel gelişimi sağlamıştır ($P<0.0001$). Aşılama yöntemleri içerisinde dane misel ile yapılan aşılamanın (25.4 gün) doku aşılmasına (32.3 gün) göre %21.4 daha kısa sürede sonuç verdiği saptanmıştır ($P<0.0001$). Sıcaklık dereceleri misel gelişim sürelerini etkilemiş ($P<0.0001$) ve en hızlı gelişim 25 °C sıcaklıkta elde edilmiştir. 10, 15, 20, 25 ve 30 °C sıcaklıklarda misel gelişimleri sırası ile 44.1, 25.8, 17.5, 13.1 ve 43.9 gün olmuştur. 10 °C'den 25 °C ye kadar sıcaklık arttıkça misel gelişimi azalmış, 25 °C sıcaklıktan sonra gelişim tekrar yavaşlamıştır. 10 ve 30 °C sıcaklıklarda gelişim hızı 25 °C'ye göre çok yavaşlamış, 25 °C'de gelişim ortalama 3.35 kat hızlı olmuştur (Şekil 1).



Şekil 1. Uygulamaların ana etkilerinin misel gelişim süresine etkisi

Aşılama yöntemi x besi ortamı ikili etkileşimini misel gelişim süresini etkilemiştir ($P=0.0411$). Dane misel x MEA 20.8 gün ile en kısa sürede gelişim hızını verirken, doku x PDA 35.6 gün ile en uzun süreli gelişim hızını vermiştir. Dane

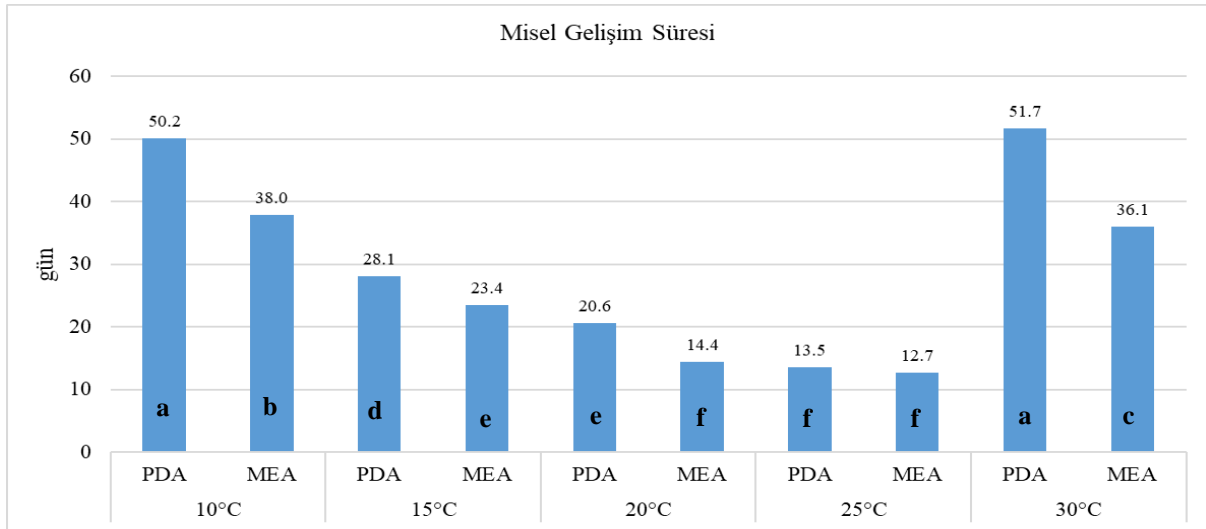
misel x MEA etkileşimi dane misel x PDA etkileşiminden %30.7, doku x PDA etkileşiminden %41.6 ve doku x MEA etkileşiminden %28.3 azalış sağlamıştır (Şekil 2).



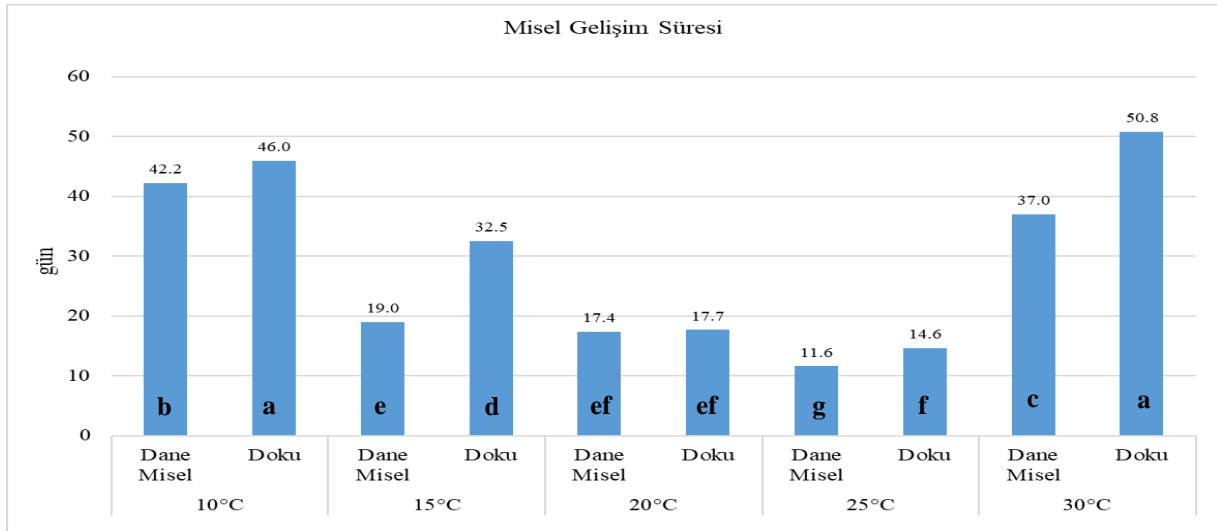
Şekil 2. Aşılama yöntemi ve besi ortamı ikili interaksiyonunun misel gelişim süresine etkisi

Besi ortamı x sıcaklık ikili interaksiyonu misel gelişim süresini istatistiksel önem düzeyinde etkilemiştir ($P=0.0002$). En kısa misel sarımı $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ x MEA ortamından elde edilirken bunu aynı istatistiksel grupta yer alan $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ x PDA ve $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ x MEA ortamları izlemiştir. Sıcaklık azaldıkça veya arttıkça misel sarım günleri uzamıştır. $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de MEA ortamı $10, 15, 20$ ve $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ x MEA interaksiyonuna göre sırası ile %66.5, 48.5, 11.8 ve 64.8 oranında; $10, 15, 20, 25$ ve $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ x PDA interaksiyonuna göre sırası ile %74.7, 54.8, 38.4, 5.9 ve 75.4 oranında azalma olmuştur (Şekil 3). Sıcaklık x aşılama yöntemi ikili interaksiyonu misel

gelişim süresini istatistiksel önem düzeyinde etkilemiştir ($P<0.0001$). En kısa misel sarımı $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ x dane misel ortamından elde edilmiştir. Bunu yakın gün değerleri $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ x doku, $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ x dane misel ve $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ x doku uygulamaları izlemiştir. Sıcaklık azaldıkça veya arttıkça misel sarım günleri uzamıştır. $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de dane misel ortamı $10, 15, 20$ ve $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ x dane misel interaksiyonuna göre sırası ile %72.6, 39.1, 33.5 ve 68.8 oranında; $10, 15, 20, 25$ ve $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ x doku interaksiyonuna göre sırası ile %74.8, 64.5, 34.5, 21.0 ve 77.2 oranında azalma görülmüştür (Şekil 4).



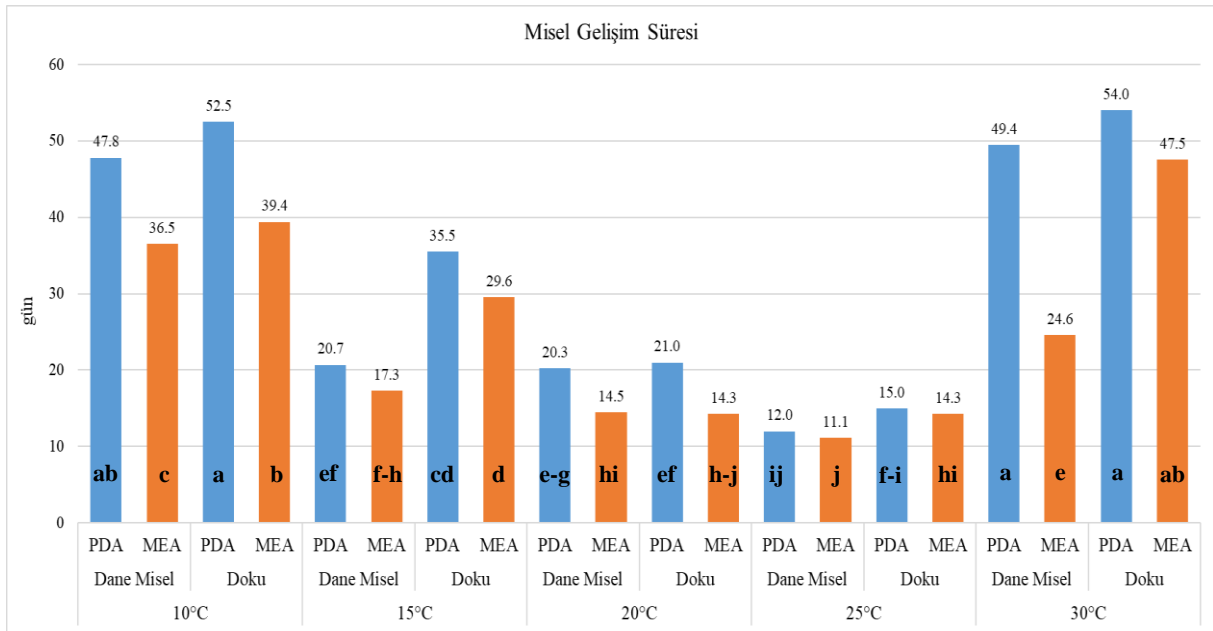
Şekil 3. Sıcaklık x besi ortamı ikili interaksiyonunun misel gelişim süresine etkisi



Şekil 4. Aşılama yöntemi ve sıcaklık ikili etkisinin misel gelişim süresine etkisi

Sıcaklık, aşılama yöntemi ve besi ortamı üçlü etkisinin misel gelişim süresi üzerine etkisi de istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P=0.0088$). Misel sarım süresi 11.1 gün ($25\text{ °C} \times \text{dane misel} \times \text{MEA}$) ile

54.0 gün ($30\text{ °C} \times \text{doku} \times \text{PDA}$) arasında değişim göstermiştir. Sıcaklık azaldıkça ve arttıkça doku ve PDA ortamlarında gelişim süreleri uzamıştır (Şekil 5).



Şekil 5. Sıcaklık, aşılama yöntemi ve besi ortamı üçlü etkisinin misel gelişim süresine etkisi

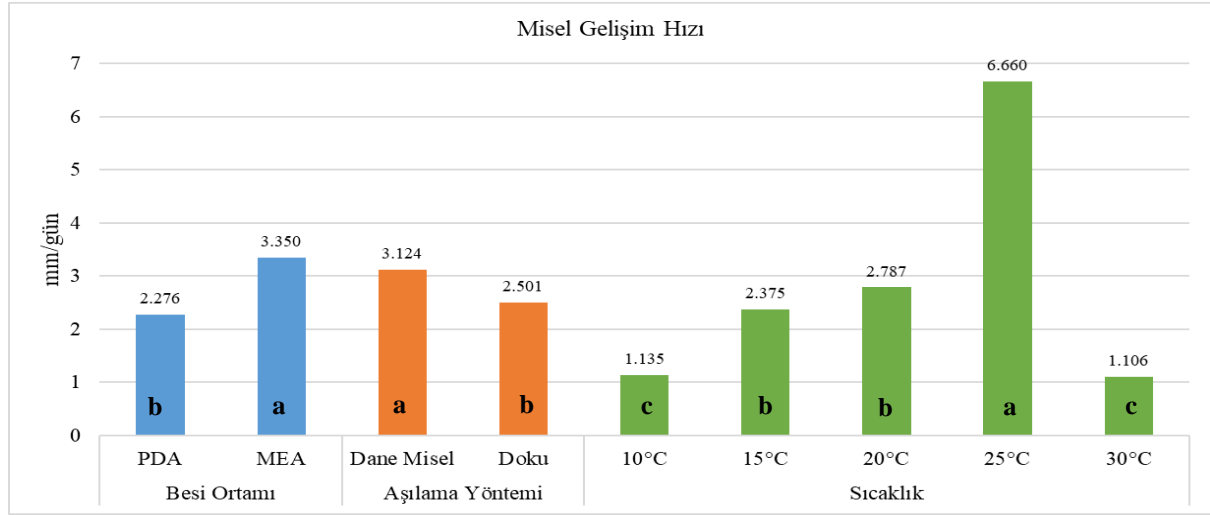
Misel Gelişim Hızı

Uygulamaların ana etkisinin shii-take mantarında misel gelişimi hızına (mm/gün) etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Besi ortamları arasında MEA 3.350 mm, PDA ortamı 2.276 mm/gün hızla sarım yapmıştır. MEA ortamında PDA

ortamına göre %47.2 oranında hızlı sarım gerçekleşmiştir ($P<0.0001$). Aşılama yöntemleri içerisinde dane misel ile yapılan aşılamanın (3.124 mm/gün) doku aşılmasına (2.501 mm/gün) göre %24.9 oranında daha hızlı sarıma neden olduğu saptanmıştır ($P=0.0112$). Sıcaklık

dereceleri misel gelişim hızını etkilemiş ($P<0.0001$) ve en hızlı gelişim 25 °C sıcaklıkta 6.660 mm/gün ile elde edilmiştir. En düşük sarım hızı aynı istatistiksel grupta yer alan 30 °C (1.106 mm/gün) ve 10 °C (1.135 mm/gün) sıcaklıklarından elde edilmiştir. 10 °C'den 25 °C ye kadar

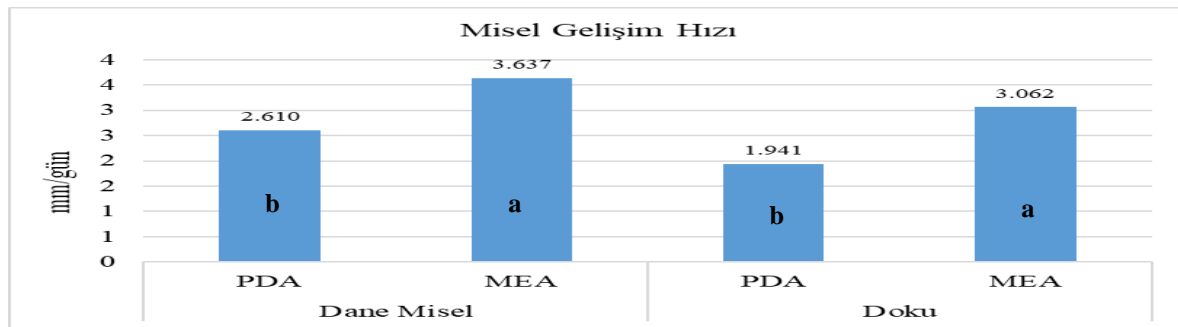
sıcaklık arttıkça misel gelişim hızı artmış, 25 °C sıcaklıktan sonra hız tekrar yavaşlamıştır. 25 °C'de misel gelişim hızı 10, 15, 20 ve 30 °C sıcaklıklara kıyasla sırası ile 5.9, 2.8, 2.4 ve 6.0 kat fazla olmuştur (Şekil 6).



Şekil 6. Uygulamaların ana etkilerinin misel gelişim hızına etkisi

Aşılama yöntemi x besi ortamı ikili etkileşimi misel gelişim hızını etkilemiştir ($P=0.0533$). Dane misel x MEA 3.637 mm/gün ile en uzun misel hızını vermiş, bunu aynı istatistiksel grupta yer alan doku x MEA 3.062 mm/gün ile izlemiştir. Dane misel x PDA ve doku x PDA etkileşimi aynı grupta yer almış ve

sırası ile 2.610 ve 1.941 mm/gün günlük misel uzunluğuna sahip olmuşlardır. Dane misel x MEA etkileşimi dane misel x MEA etkileşimine göre %39.3, doku x PDA etkileşimine göre %87.4 ve doku x MEA etkileşimine göre %18.8 artış göstermiştir (Şekil 7).



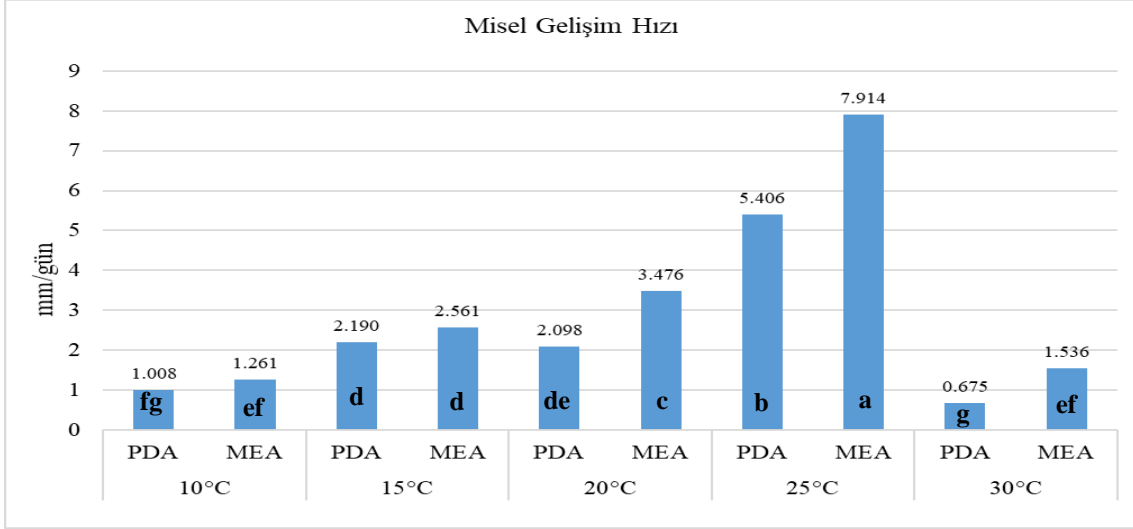
Şekil 7. Aşılama yöntemi ve besi ortamı ikili etkileşiminin misel gelişim hızına etkisi

Besi ortamı x sıcaklık ikili etkileşimi misel gelişim hızını istatistiksel önem düzeyinde etkilemiştir ($P=0.0001$). En hızlı misel sarımı 25 °C x MEA ortamından elde

edilirken, en kısa sarım hızı 30 °C x PDA ortamında görülmüştür. Sıcaklık 10 °C'den 25 °C'ye kadar arttıkça misel gelişim hızı artmış, 25 °C'den sonra azalmıştır (Şekil 8).

25 °C x MEA uygulamasında misel sarım hızı 10, 15, 20 ve 30 x MEA uygulamalarına göre sırası ile 6.3, 3.1, 2.3 ve 5.2 kat; 10, 15,

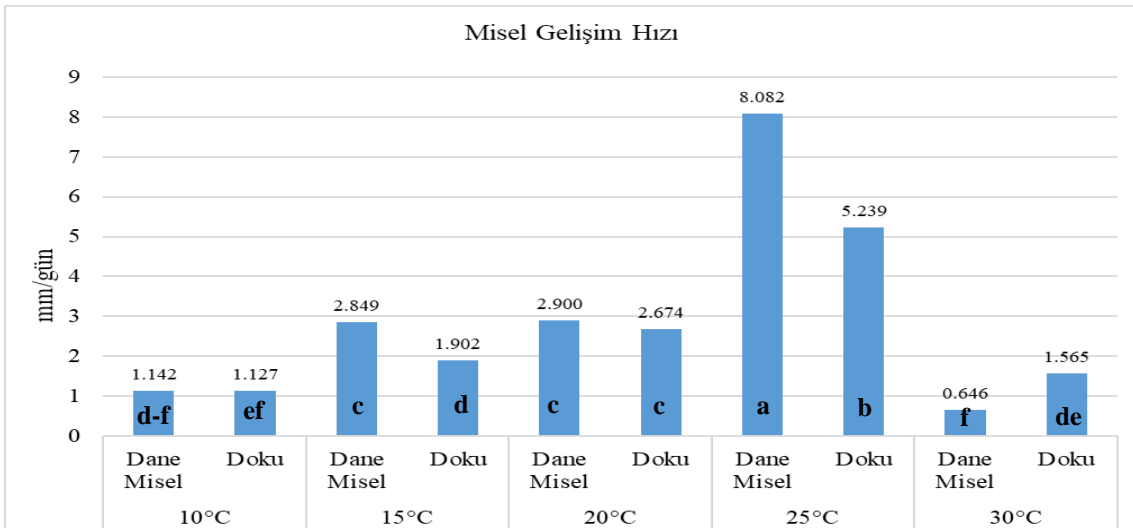
20, 25 ve 30 x PDA uygulamalarına göre 7.3, 3.6, 3.8, 1.5 ve 11.7 kat daha hızlı olmuştur.



Şekil 8. Besi ortamı ve sıcaklık ikili etkisinin misel gelişim hızına etkisi

Sıcaklık x aşılama yöntemi ikili etkisini misel gelişim hızını istatistiksel önem düzeyinde etkilemiştir ($P < 0.0001$). En hızlı misel sarımı 25°C x dane misel ortamından (8.082 mm/gün), en yavaş sarım hızı 30°C x dane misel uygulamasından (0.646 mm/gün) elde

edilmiştir. 25°C’de dane misel ortamı 10, 15, 20 ve 30°C x dane misel etkisiyle göre sırası ile 7.1, 2.8, 2.8 ve 12.5 kat; 10, 15, 20, 25 ve 30°C x doku etkisiyle göre sırası ile 7.2, 4.2, 3.0, 1.5 ve 5.2 kat hızlı sarım sağlamıştır (Şekil 9).



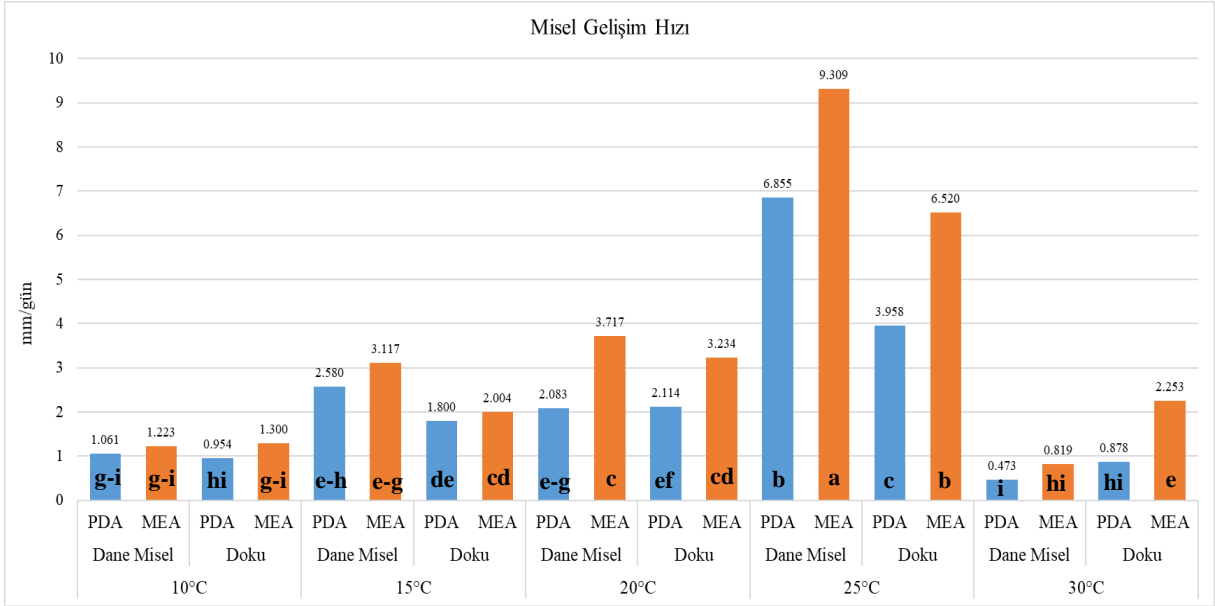
Şekil 9. Aşılama yöntemi ve sıcaklık ikili etkisinin misel gelişim hızına etkisi

Sıcaklık, aşılama yöntemi ve besiy ortamı üçlü etkisinin misel gelişim süresi üzerine etkisi de istatistiksel olarak önemli

bulunmuştur ($P = 0.0597$). Misel gelişim hızı 0.473 mm/gün (30°C x dane misel x PDA) ile 9.308 mm/gün (25°C x dane misel x

MEA) arasında değişim göstermiştir. Sıcaklık 10 °C'ye doğru azaldıkça ve 25 °C

üzerine çıktıkça doku ve PDA ortamlarında gelişim hızları kısalmıştır (Şekil 10).



Şekil 10. Sıcaklık, aşılama yöntemi ve besi ortamı üçlü interaksiyonunun misel gelişim hızına etkisi

BULGULAR ve TARTIŞMA

Tohumluk misellerin elde edilmesinde farklı besi ortamları kullanılmakta ve doku kültürü ile üretim yapılmaktadır. Misel gelişimi mantar türüne, kullanılan besi ortamına, besi ortamına gelişimi artırıcı maddeler konulup konulmamasına ve sıcaklık değerlerine göre değişebilmektedir. İn-vitro koşullarda farklı sıcaklık derecelerinde, PDA ve MEA besi ortamlarında dane misel ve doku (klon) aşılmasının shii-take mantarının misel gelişim süresi ve hızına etkisinin araştırıldığı bu çalışmada, 25°C sıcaklık, MEA ortamı ve dane misel aşılmasının misel gelişim süresini kısalttığı, misel gelişim hızını arttırdığı saptanmıştır.

Besi ortamı içerisinde MEA kullanımının PDA kullanımına göre shii-take misel gelişim süresini %24.1 azalttığı, hızını %47.2 oranında arttırdığı belirlenmiştir. Besi ortamı kullanımının farklı mantar türleri üzerinde misel gelişimi üzerine yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar verdiği görülmüştür. Kalyoncu ve ark. (2008)'nin yapmış oldukları çalışmada 8 farklı yabancı şapkalı makrofungus türüne

(*Collybia dryophila*, *Fomes fomentarius*, *Gloeophyllum trabeum*, *Inocybe flocculosa* var. *crocifolia*, *Meripilus giganteus*, *Morchella hortensis*, *Omphalotus olearius*, *Postia stiptica*) ait misellerin dört farklı besi ortamında [patates dekstroz agar (PDA), Hagem ortamı (HO), minimal ortam (MO) ve malt ekstrakt agar (MEA)] sergiledikleri büyüme değerlerini araştırılmıştır. Kullanılan besi ortamları içinde en yavaş misel gelişimleri MO'da gözlenirken, PDA ve MEA besi yerlerinde misel gelişim hızları hemen hemen yakın bulunmuştur. Önay ve ark. (2018) *Pleurotus ostreatus* mantarının misel gelişmesinde PDA'nın MEA'dan daha iyi sonuç verdiği belirtmiştir. Kayın mantarında yapılan başka bir çalışmada da deniz yosunu ilave edilmiş veya edilmemiş besi ortamlarında misel gelişimi ve hızı açısından PDA, MEA'ya göre daha iyi sonuç vermiştir (Öztekin ve Kurt, 2020). Bu çalışmaların sonucundan farklı olarak ve elde ettiğimiz sonucu destekler nitelikte Kayahan ve ark. (2020), farklı besi ortamlarında (PDA ve MEA) *Lentinula edodes*'in misel gelişimi üzerine hümik maddeler ve giberellik asidin

(GA3) farklı dozlarının etkisini araştırdıkları çalışmalarında, MEA besi ortamının PDA ortamından daha iyi olduğunu belirtmişlerdir.

Aşılama yöntemlerinden dane misel uygulamasının doku aşılmasına göre shii-take misel gelişim süresini %21.4 azalttığı, hızını %24.9 oranında arttırdığı belirlenmiştir. Dane misel ticari olarak satın alınan tohumluk misellerden tek bir danenin besi ortamına aktarılması şeklinde kullanılmıştır. Burada dane üzerinde kaplı olan misellerin besi ortamında yayılımının dokudan misel üretilmesine göre daha kolay olduğu, dokudan misel çıkışı için geçen süreyi azalttığı için daha hızlı sarım yaptığı ve olgun misellerin daha güçlü geliştiği düşünülmektedir. Misel gelişiminde büyümenin sınırlanmadan devam edebilmesi için optimum bir sıcaklık aralığı vardır. Bu değer in altında ve üstünde sıcaklığın enzim aktivitesi üzerindeki etkisinden dolayı misel büyümesinin sınırlandığı görülmüştür (Miles ve Chang, 1997). Mush World, (2005), shii-take mantarının misel büyümesi için en uygun sıcaklık aralığını 24-27 °C olarak belirtmiştir. Yürütülen bu çalışmada misel gelişim süresi ve hızı sıcaklıklardan etkilenen shii-take mantarının en kısa misel gelişim süresi ve en yüksek misel gelişim hızı 25 °C sıcaklıktan elde edilmiştir. 20 °C'nin de 25 °C'den sonra en umutvar sıcaklık olduğu belirlenmiştir. Soğuk (10 °C) ve sıcak (30 °C) ortamlar misel gelişim süresi ve hızını olumsuz etkilemiştir. Söz konusu bu sıcaklıklarda süre uzamış, hız azalmıştır. 10 °C'den 25 °C'ye kadar olan her 5 derecelik artışta misel gelişim süresi kısalmış, hızı artmıştır. Elde ettiğimiz sonuç önceki çalışmalar ile uyumlu bulunmuştur. Düzkale Sözbir (2014) *L. edodes* mantarının misellerin çoğaltılması için 25 °C'yi optimum sıcaklık olarak kabul etmiştir. Farklı sıcaklık derecelerinde yapılan çalışmalarda da en iyi misel gelişim sıcaklığı 25 °C olarak belirlenmiştir (Athayde ve ark., 2010). Lee ve ark., (2008) bu sıcaklık derecesini 24.7 °C olarak belirlenmiştir. Farklı *Hericium* (Dede

saklılı mantarı) izolatlarında (Atilla, 2015), *Pleurotus eryngii*'nde (Oluklu ve Kibar, 2016) yapılan sıcaklık çalışmalarında da en iyi misel gelişiminin 25 °C sıcaklık altında olduğu belirtilmiştir.

Besi ortamı x aşılama yöntemi ikili interaksiyonunda MEA x dane misel, sıcaklık x besi ortamı ikili interaksiyonunda 25 °C x MEA, sıcaklık x aşılama yöntemi ikili interaksiyonunda 25 °C x dane misel interaksiyonları misel gelişim süresini kısaltmış, gelişim hızını arttırmıştır. Elde edilen bu veriler ile paralel şekilde sıcaklık x besi ortamı x aşılama yöntemi üçlü interaksiyonunda en iyi sonuç 25 °C x MEA x dane misel interaksiyonundan elde edilmiştir.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Araştırma bulgularına göre shii-take mantarı misel gelişiminde 25°C'nin, PDA ortamının ve dane miselden aşılama yapılmasının uygun olacağı sonucuna varılmıştır. Ancak shii-take mantarında alternatif besi ortamlarında, besi ortamına ilave edilecek stimulatorlerin belirlenmesinde ve 20-25°C sıcaklık aralıklarında farklı çalışmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

AÇIKLAMA

Çalışma 18-ZRF-005 proje numarası ile Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından Genel Araştırma Projesi olarak desteklenmiştir. Araştırmama sağladığı maddi kaynak nedeni ile BAP Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederim.

KAYNAKÇA

Abak, K. 1989. Mantar misel üretimi ve doku kültüründen yararlanma. yenilebilir mantar yetiştiriciliği. (Ed. S. Ağaoğlu ve M. Güler). T.O.K. Bakanlığı Orman Genel Müdürlüğü Yayını, s.7-17 Ankara.

Ağaoğlu, Y.S., İlbaý, M.E., Uzun, A., 1992. Değişik talaş + kepek karışımlarının *Pleurotus sajor-caju*'nun verimi üzerine etkileri. Türkiye IV. Yemeklik Mantar Kongresi, 2-4 Kasım 1992, Yalova, Bildiri Kitabı II. 111-119.

Athayde, M.B., Zied, D.C., Minihoni, M.T.A., Andrade, M.C.N. 2010. Temperature influence on the mycelial growth of *Lentinula edodes* strains. *Ambiência Guarapuava (PR)*, 6(3): 503-509.

Atila, F. 2015. Farklı *Hericium* izolatlarının en uygun yetiştirme koşulları ve ortamlarının belirlenmesi ve moleküler karakterizasyonu. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Doktora Tez. 253 sayfa. Bornova-İzmir.

Beelman, R.B., Royse, D.J., Chikthimmah, N. 2004. Bioactive components in *Agaricus bisporus* of nutritional, medicinal or biological importance. *Proceedings of The Xvith International Congress on The Science and Cultivation of Edible and Medicinal Fungi*, 14-17 March 2004, Miami.

Boztok, K., Erkip, N. 2002. Plastik torbalarda meşe mantarı (*Lentinula edodes*) yetiştiriciliği. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 39(3): 145-152.

Chang, H.Y., Roh, M.G. 1999. Physiological characteristics of *Hericium erinaceus* in sawdust media. *Korean Journal of Mycology*, 27: 252-255.

Ciesla, W.M. 2002. Non-Wood forest products from temperate broad-leaved trees. *Non-Wood Forest Products 15*, FAO, Rome. Web sayfası: www.fao.org/3/y4351e/y4351e00.htm (Erişim Tarihi: 28.12.2020).

Düzkale Sözbir, G. 2014. Farklı besin ortamlarının *Lentinus edodes* (Shiitake) mantarında verim, lentinan ve kimyasal bileşimine etkileri. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Orman Endüstri Mühendisliği Anabilim Dalı. Doktora Tezi, Kahramanmaraş, ss:175.

Eren, E., Pekşen, A. 2016. Türkiye’de kültür mantarı sektörünün durumu ve geleceğine bakış. *Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 4(3): 189-196.

Günay, A. 1995. Mantar Yetiştiriciliği İlke Kitapevi Yayınları:2, Kültür Dizisi:1, s:469 Ankara.

Günay, A., Abak, K., Koçyiğit, A.E. 1984. Mantar yetiştirme. Çağ Matbaası, 272 s. Ankara.

İlbay, M.E., Günay, A. 1992. Yeni bir misel üretim materyali bulunabilir mi? Türkiye 4. Yemeklik Mantar Kongresi Cilt I., 66-67.

Kalmıs, E, Kalyoncu, F. 2007. *Lentinula edodes*’in misel gelişim hızı üzerine meşe odunu parça büyüklüğünün etkisi. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 7(2): 45-52.

Kalyoncu, F., Kalmıs, E., Solak, M.H. 2008. Bazı makrofungus türlerine ait misellerin farklı kültür ortamlarındaki gelişim hızlarının belirlenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 12(2): 109–114.

Kayahan, F., Kaşık, G., Kayahan, N. 2020. *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler 1976’in misel gelişmesine humik maddeler ve giberellik asidin etkisinin araştırılması. *Mantar Dergisi*, 11(1): 40-49.

Khan, M.S., Mirza, J.H., Khan, M.A. 1991. Studies on shiitake mushroom (*Lentinula edodes*). *Science and Cultivation of Edible Fungi*, 232-237.

Lee, S., Bea, H., Kim, N., Hwang, S. 2008. Optimization of growth conditions of *Lentinus edodes* mycelium on corn processing waste using response surface analysis. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 105(2): 161-163.

Manzi, P., Guzzi, A., Pizzoferrato, L. 2001. Nutritional value of mushrooms widely consumed in Italy. *Food Chemistry*, 73: 321-325.

Miles, P.G., Chang, S.T. 1997. *Mushroom Biology: Concise Basics and Current Developments*. World Scientific, Singapore, pp:216.

Mush World, 2005. *Shiitake Cultivation-Mushroom Growers Handbook 2*. MushWorld Publication, Korea, pp:280.

Oluklu, Ş., Kibar, B. 2016. *Pleurotus eryngii* mantarının optimum misel gelişim koşullarının belirlenmesi. *Iğdır Üni. Fen Bilimleri Enst. Der.*, 6(2): 17-25.

Önay, A.O., Kaşık, G., Alkan, S., Öztürk, C. 2018. *Pleurotus ostreatus*'un misel gelişmesine humik maddelerin etkisinin araştırılması. II. International Eurasian Agriculture and Natural Sciences Congress, 11-15 Ekim 2018, Azerbaycan/Bakü. 22-29 p.

Öztekin, G.B., Kurt, H. 2020. Besi Ortamına Eklenen Deniz Yosunu Özüütünün Kayın Mantarında Misel Gelişimine Etkisi. Ege üniversitesi Bilimsel Araştırma (BAP) Projesi, Proje No: FLP-2019-21266. Bornova-İzmir.

Pokhrel, C.P., Yadav, R.K.P, Ohga, S. 2009. Effects of physical factors and

synthetic media on mycelial growth of *Lyophyllum decastes*. Jour Ecobiotech, 1: 046-050.

Stamets, P. 1993. Growing gourmet and medicinal mushroom. teen speed press, Berkeley, California, pp:555.

TUIK, 2020. Türkiye İstatistik Kurumu, Merkezi Dağıtım Sistemi, Dış Ticaret İstatistikleri. <https://biruni.tuik.gov.tr/me-das/?locale=tr> (Erişim tarihi: 07.07.2020).

Wasser, S.P. 2002. Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. Applied Microbiology and Biotechnology, 60: 258-274.