

## Malt Ekstrakt ve Mısır Nişastasının *Pleurotus florida* Fovose Misellerinin Vegetatif Gelişmesi ve Morfolojisi Üzerine Etkileri

Abdunnasır YILDIZ

Dicle Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 21280 Diyarbakır-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 23.02.1998

**Özet:** Misellerin vegetatif gelişmesi üzerine mısır nişastası (MN) ve malt ekstrakt (ME) dozlarının etkileri arasında istatistiksel olarak ( $P>0.05$ ) herhangi bir fark belirlenmemiştir. Bütün deneme gruplarında 9.0 cm çaplı petri kutularındaki besi - agar yüzeyini yaklaşık olarak dokuz günde sardıği gözlenen misellerin gelişme şekilleri (yatay ve dikey), küme oluşturmaları, kalınlaşmaları ve dokulaşmaları gibi özellikler bakımından birbirlerinden farklı sonuçlar gözlenmiştir.

Yalnız %2.0 oranında MN içeren deneme grubunda misellerin, besin-agar yüzeyinde yatay ve merkezde çok seyrek bir şekilde gelişme gösterdiği, kümeleşmesi, kalınlaşması ve dokulaşması ise petri kutularının kenarında kalın bir zon şeklinde olduğu gözlenmiştir. %1.5 MN ve %0.5 ME'da, miseller yatay ve çok sık bir şekilde geliştiği, misel kümeleşmesine, kalınlaşmasına ve dokulaşmasına ise çok seyrek olarak rastlanmıştır. %1.0 MN ve %1.0 ME'da misellerin, petri kutusu merkezinde seyrek, kenarlara doğru daha sık bir şekilde dikey bir konumda geliştiği, kümeleşmesi ve kalınlaşması ise çok az gözlenmiştir. %0.5 MN ve %1.5 ME'de misellerin, çok sık ve dikey olarak geliştiği, kalınlaşması ve dokulaşması ise petri kutularının kenarından merkeze doğru geniş bir alanda olduğu saptanmıştır. Sadece %2.0 malt ekstakt içeren bein ortamında ise misellerin, orta sıklıkta dikey olarak geliştiği, kalınlaşmasına ve dokulaşmasına ise çok seyrek olarak rastlanmıştır.

**Anahtar Sözcükler:** *Pleurotus florida*, misel, vegetatif gelişme.

### The Effects of Malt Extract and Corn Strach on the Vegetative Development and Morphology of the *Pleurotus florida* Fovose Mycelia

**Abstract:** No statistical differences were determined in the effects of malt extract (ME) and corn strach (CS) doses on the vegetative development of mycelia ( $P>0.05$ ). The mycelia in all gropus covered 9.0 cm agar plates in 9.0 days and some characteristic differences, development from (vertical or horizontal), cluster formation, thickening and tissue formations, were observed.

In the group containing 2% CS, the mycelia formed a sparse development horizontally on the surface and center of the agar plate, whereas clustering, thickening and tissue formation were observed in the form of a thick zone on the edges of the petri dishes. In 1.5% CS and 0.5% ME, mycelia developed densely, but mycelia clustering, thickening and tissue formation was rather sparse. In 1.0% CS and 1.0% ME, mycelia developed sparsely in the center, and more densely and vertically towards the edges of the petri dishes, whereas thickening and tissue formation were rare. With 0.5% CS and 1.5% ME, mycelia developed densely and vertically, whereas thickening and tissue formation were observed over

a wide area from the edges to center of the dishes.

On agar media containing 2.0% ME, mycelia developed vertically with medium density, but thickening and tissue formation were found to be very sparse.

**Key Words:** *Pleurotus florida*, Mycelia, Vegetative Development.

## Giriş

Kültür mantarı üretiminde "tohumluk" olarak vegetatif miseller kullanılmaktadır. Misel elde etmede sporlar yanında doku parçalarından da yararlanılır. Sporun ya da doku parçasının besin-agar ortamına aşılmasıyla elde edilen misellerine anakültür adı verilmektedir. Hububat taneleri gibi materyaller üzerinde geliştirilen ve kompost ortamına inoküle edilen misellere ise tohumluk (spawn) adı verilmektedir (1). Kompost ortamında gelişen miseller kalınlaşarak ve kümeleşerek daha sonra yenen kısım olan karpoforu veren primordiumları oluştururlar.

Besin ortamında glikoz fazlalığı, fruktifikasyonun oluşumunu engellediği *Agaricus bisporus*'da Couvy (2) ve *Coprinus congregatus*'da da Manachère (3, 4) tarafından saptanmıştır. Glikozdan kaynaklanan inhibasyon, asparagin'in uygun bir dozda ortama ilavesiyle engelenemediği belirtilmiştir (5). Yine Manachère (5) aynı çalışmada fruktifikasyon, asparagin'in belli bir dozuna kadar stimule edildiğini, fakat yüksek dozlarla ise inhibe edildiğini gözlemiştir. Hayes (6)'e göre asetat, misel büyümesinden ziyade primordium oluşumunu ve gelişimini sağlamaktadır. Turner (7) lakaz aktivitesinin vegetatif fazı karakterize ettiğini, tirozinaz enziminin de karpofor oluşumu ve gelişimi döneminde arttığını tespit etmiştir.

C/N oranı 100'den yüksek olan kültür ortamlarında karpofor oluşmadığı belirtilmiştir (8). Karbon kaynağı olarak kullanılan farklı materyallerin etkisi ile *Pleurotus*'un misel gelişim hızı değişmektedir (9, 10). *Pleurotus cornucopiae* misellerinin vegetatif büyümesini hızlandıran asparagin, fruktifikasyonun oluşmasını da hızlandırdığı Delmas ve Mamou (11) tarafından belirtilmiştir. *Pleurotus pulmonarius* misel büyümesi, glikoz ve amonyum içeren besin ortamında devam ettiği, fakat amonyumun tükenmesiyle birlikte durduğu ve aromatik sekonder metabolitlerin sentezlendiği görülmüştür (12). Azot, Olivier (13)'e göre misellerin çoğalmasına doping yapmakta, Yıldız (10)'a göre de besin ortamındaki misel yoğunluğunu artırmaktadır. Misellerin vegetatif çoğaltılması için besin ortamı olarak, %1.0'lik malt-ekstrakt ile birlikte buğday unu ve arpa kırmalarının %1.0, 1.5 ve 2.0'lik dozları kullanılarak, en hızlı misel büyümesi *Pleurotus ostreatus* var. *salignus*'da arpa kırmalarının %1.5 dozunda 7.8 günde (9), *Pleurotus florida*'da ise %1.5 buğday unu dozunda 8.6 günde (10) elde edilmiştir.

Besin maddelerinin mantar misellerinin vegetatif gelişmesi ve morfolojisi üzerindeki etkilerinin belirlenmesi, kaliteli tohumluk misel eldesinde olduğu kadar, bir besin maddesi olarak tüketilen karpoforun oluşumu ve gelişimi evresinde bilinmeyen bazı olguların aydınlatılması için de önemlidir.

Çalışmamızda, mısır nişastası (MN) ve malt ekstrakt (ME)'in bazı dozlarının *P. florida* misellerinin vegetatif büyümesi ve morfolojisi üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Böylece mantarın büyüme fizyolojisine katkı sağlanacaktır.

## Materyal ve Metod

Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde sağlanan *P. florida* ana kültürü, Dicle Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Mantar Kültür Laboratuvarı'nda Literatüre (10) göre çoğaltılarak deneysel çalışmada kullanılmıştır.

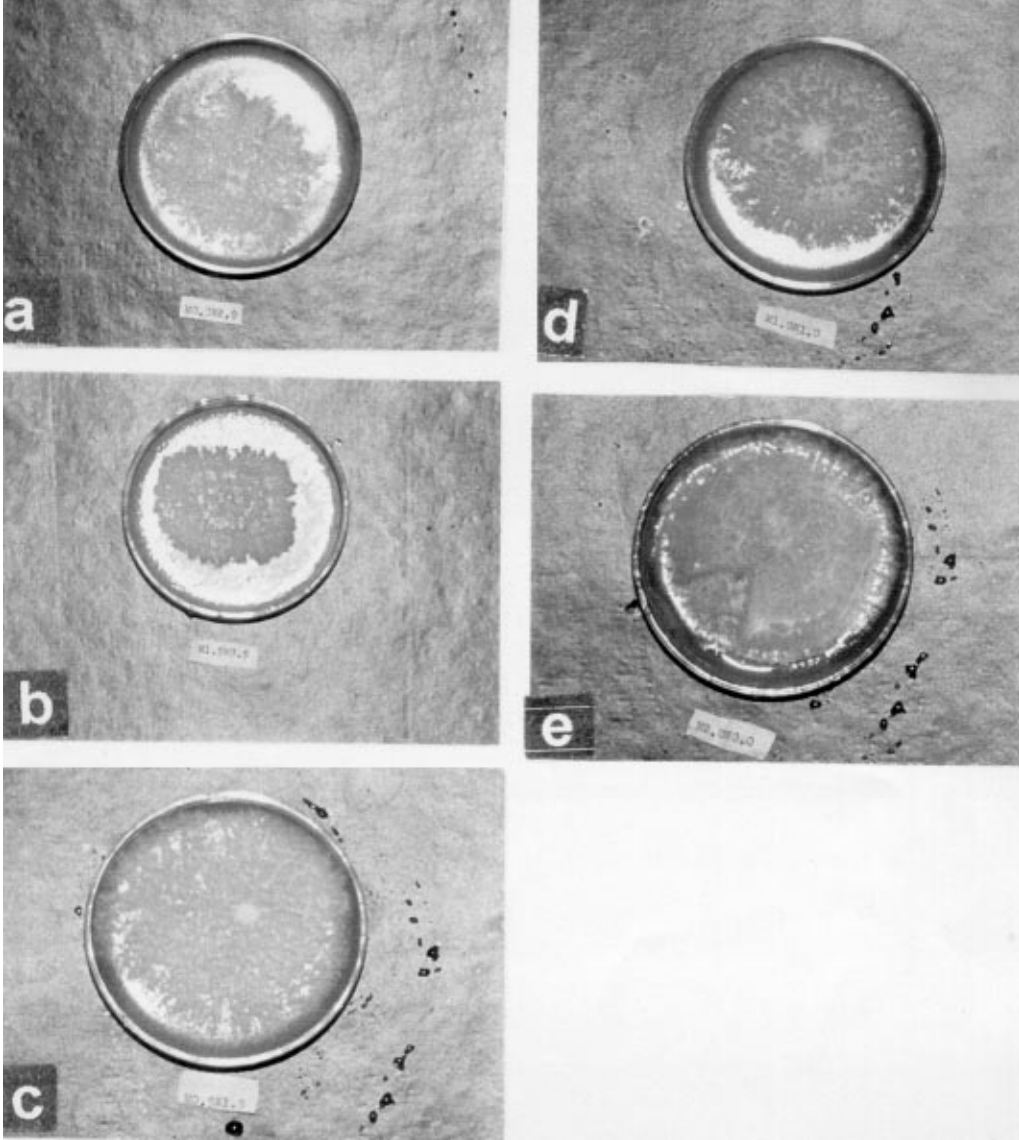
Deneysel çalışmada besiyeri olarak, mısır nişastası (MN) ve malt ekstaktın (ME) birlikte %2.0 olacak şekildeki dozları kullanılmıştır. Sadece %2.0 oranında ME ve MN içeren denemeler kontrol grubu olarak ele alınmıştır. 1. deneme grubu için %1.0 ME ve %1.0 MN, 2. Deneme grubu için %1.5 ME ve %0.5 MN ve 3. Deneme grubu için ise %0.5 ME ve %1.5 MN içeren besin ortamları hazırlanmıştır.

10 g besin maddesi (ME ve MN) ve 7.5 g agar 1 litre'lik erlenlere bırakılmış ve bunun üzerine saf su ilave edilerek 500 ml'ye tamamlanmıştır. Besiyeri, 100°C'de çalışan Benmarî'de agar eriyinceye kadar bekletilmiştir. Besin ortamında 5.5-6.5 pH değerlerini elde edebilmek (14) için 1 N NaOH ve seyreltik HCl kullanılmıştır. Ağızları pamukla kapatılmış ve pelür kağıdıyla sarılmış olan erlenler, otoklavda 1.5 atmosfer basınç altında 20 dakika bekletilerek, besiyeri steril hale getirilmiştir. Otoklavdan çıkarılan erlenler, daha önce dezenfekte edilmiş ekim odasına taşınmış ve burada 9.0 cm çaplı petri kutuların her birine yaklaşık olarak 25 ml besin-agar dökülmüştür. Agar katılaştıktan sonra aşılama işlemlerine başlanmıştır. Aşılama, bir iğne öze yardımıyla ana kültürden alınan bir misel parçasının petri kutusunun tam ortasına bırakılması şeklinde yapılmıştır. Kültürler 25±1°C sıcaklıktaki inkübasyon odasına taşınmış ve burada misel gelişmeleri günlük kontrol edilerek sonuçlar not alınmıştır.

Misellerin, petri kutusundaki besin-agar ortamını sardığı süre, misel büyüme hızı; besin-agar ortamına paralel (yünsü) veya dikey (ışınsal) olarak gelişmesi, misel gelişme şekli; besin-agar yüzeyindeki yoğunluğu ise, misel sıklığı olarak belirtilmiştir. Ayrıca misellerin daha sonra kümeleşmesi ve kalınlaşması sonucu, kumaşa benzer bir yapı oluşturup oluşturmadığı gibi özelliklere de dikkat edilmiştir. Büyüme sonucu misel, petri kutusunun kenara yettiği süre gün olarak belirtilmiştir. Besin-agar yüzeyinde misel sıklığı ise (+) işareti konmak suretiyle derecelendirilmiştir. Deneysel çalışma 5 defa tekrar edilmiştir. Misel büyüme süresine ait veriler, çok yakın değerlerde elde edilmesi sonucu istatistiksel testlere gerek duyulmamıştır.

Tablo 1. Mısır nişastası ve malt ekstraktın *P. florida* misel büyümesi ve morfolojisine etkisi

Besin ortamı	Büyüme süresi	Misel sıklığı	Misel şekli
	Ort.±SD		
ME0.0MN2.0	9.8±0.8	+	Yünsü
ME0.5MN1.5	9.0±0.7	++++	Yünsü
ME1.0MN1.0	9.0±0.0	+++	Işınsal-Yünsü
ME1.5MN0.5	8.8±0.4	++++	Işınsal
ME2.0MN0.0	9.0±0.7	+++	Işınsal



Şekil 1. *P. florida* misellerinin besin agar yüzeyinde kümeleşme ve kalınlaşma şekilleri: a) MEO.OMN2.0, b) ME1.5MN0.5, c) ME0.5MN1.5, d) ME1.0MN1.0, e) ME2.0MN0.0

### Tartışma ve Sonuç

Tablo 1'de görüldüğü gibi, ME ve MN'nin kullanılan farklı dozlarının misel büyüme süresi üzerindeki etkisi birbirine çok yakındır. Fakat farklı oranda ME ve MN içeren ortamlarda

misellerin sıklığı, gelişme şekilleri birbirinden farklı olduğu gözlenmiştir. Misel gelişim süresi ile ilgili olarak elde edilen sonuçlar, diğer araştırmacıların (9, 10) buldukları değerlere yakındır.

%2.0 oranında mısır nişastası içeren deneme grubunda miseller seyrek ve yünsü bir formda geliştiği görülmüştür. Miseller petri kutularının merkezinde yer yer, kenarlarında ise geniş bir alanda kalınlaştığı ve kümeleştiği gözlenmiştir (Resim 1a).

Miseller uç hücrelerden ve septumlardan bölünerek çoğalırlar. Uç hücrelerdeki bölünmeler misellerin uzanmasını, septumlardaki bölünmeler ise misellerin dalanmasını sağlamaktadır.

%2.0 MN ortamında miseller seyrek ve yünsü formda gelişme göstermesi ortamdaki azot noksanlığının sonucu olarak, daha çok uç hücrelerin bölünerek çoğalmasında kaynaklanmış olabilir. Burada petri kutuların kenarında merkeze doğru misellerin kümeleşmesi ve kalınlaşmasının nedeni, ortamda azotun tükenmesi sonucu misellerin vegetatif büyümesinin durması ve böylece olumsuz koşullara karşı daha dayanıklı olan sklerotium formunun oluşması olabilir. Resim 1b'de görüldüğü gibi MNO.5ME1.5 ortamında miseller, diğer gruplara göre daha yoğun bir şekilde gelişme göstermiştir. Özellikle miseller ışınsal formunda ve besin-agar yüzeyinde çok yoğun bir şekilde geliştiği gözlenmiştir. Bu gelişme besin ortamında C/N oranının bir sonucu olabilir (2-5, 11-13).

Resim 1b'de görüldüğü gibi misellerin geniş bir alanda kalınlaşması ve kümeleşmesi ise, hücrelerin hızlı çoğalmasıyla ortamda besin dengesinin bozulması ve metabolik artıkların birikmesi sonucu meydana gelmiş olabilir.

ME0.5MN1.5'de misellerin %2.0 oranında mısır nişastası içeren deneme grubuna benzer yünsü formda bir gelişme göstermesi (Resim 1c), fakat misel yoğunluğunun daha sık olması, malt ekstraktın septumlardan bölünmeyi sağlamış olmasından kaynaklanabilir. 1:1 oranında ME ve MN içeren deneme grubunda ışınsal-yünsü formda ve iyi sıklıkta bir misel büyümesi gözlenmiştir. Misel kümeleşmesi ve kalınlaşması petri kutuların kenarında çok az bir alanda oluşmuştur (Resim 1d). Sadece %2.0 oranında ME içeren deneme grubunda misellerin ışınsal formda ve iyi sayılabilecek sıklıkta gelişme gösterdikleri gözlenmiştir. Misel kalınlaşmasına ve kümeleşmesine ise çok az rastlanmıştır (Resim 1e).

Sonuç olarak ME vegetatif çoğalmayı, MN ise kümeleşmeyi ve kalınlaşmayı sağladığını söyleyebiliriz. Misel çoğalması ile ilgili olarak ME'nin yaptığı etki diğer araştırmacıların azot kaynakları konusunda belirttiği sonuçlarla (2-5, 9-13) paralellik göstermektedir. Bu nedenle elde ettiğimiz bu bulgular C/N oranının bir sonucu olabilir. Ayrıca diğer araştırmacıların (2-5, 11-13) bulgularına ilave olarak malt ekstrakt ve mısır nişastasının değişik dozlarının etkisiyle, *P. florida* misellerinin besin-agar yüzeyindeki yoğunluğu, şekli ile kümeleşmesi ve kalınlaşması düzeyi değiştiği tespit edilmiştir.

Bu konunun daha da aydınlatılması için fizyolojik ve biyokimyasal bir çok çalışmanın yapılmasına ihtiyaç duyulduğu görüşündeyiz.

## Kaynaklar

1. Güney, A., Mantar Yetiştiriciliği, Ilke Yayınları, Ankara 1995.
2. Couvy, J. Étude de l'induction de la fructification chez *Agaricus bisporus*, (Lange) Sing. (= *Psolliota hortensis* CKE): action du glucose. C.R. Acad. Sci., 274, 2475-2477, 1972.
3. Manachère G., Recherches physiologiques sur la fructification de *Coprinus congregatus* Bull. Ex FR.: action de la lumiere; rythme de production de carpophores. Ann. Sci. Nat. Bot., 11, 1-196, 1970.
4. Manachère, G., *Coprinus congregatus*, un modele biologique pour l'étude de quelques problemes genènèraux posés par la fructification des champignons superieurs, Mushroom Science, 9, 783-797, 1974.
5. Manachère, G., Morpogenese des Carpophores de *Basidiomycetes* Superieurs, Revue de Mycologie, 42, 191-252, 1978.
6. Hayes, W.A., An apparisal of the methods used in studying mushroom nutrition, Mushroom News, 20(9): 14-20, 1972.
7. Turner, E.M., Phenoloxidase activity in relation to substrate and development stage in the mushroom, *Agaricus bisporus*, Trans. Brit. Mycol. Soc., 63, 541-547, 1974.
8. Horriere, F., Influence sur la fructification de *Coprinus conregatus* Bull. Ex Fr. des concentrations en glucose et an asparagine, et de l'equilibre carbone-azote du milieu, Mycopatologia, 58, 81-89, 1976.
9. Yıldız, A., Saya, Ö., Diyarbakır ili ve çevresinde doğal olarak yetişen *Pleurotus* türlerinin saptanması ve kültüre alma çalışmaları üzerine bir araştırma, Tr.J. of Biology, 20, 65-71, 1986.
10. Yıldız, A., Farklı katkı maddelerinin değişik oranlarının *Pleurotus florida* Fovose'nin misel gelişimi, bazidiokarplarının oluşum ve gelişim süreleri ile verim miktarı üzerine etkileri, Tr.J. of Biology (Baskıda).
11. Delmas, M., Mamuon, M., Étude de quelques facteurs de croissance et de fructification du pleurote en corne d'abondance, *Pleurotus cornucopiae* Fr. ex P., Cr.R. Acad. Fr., 294-301, 1980.
12. Gutierrez, A., Caramelo, L., Prieto, A., Martinez, M.J., Martinez, A.T., Anisaldehyde production and aryl-alcohol oxidase and dehydrogenase activities in ligninolytic fungi of the genus *Pleurotus*, Applied and Environmental Microbiology, 60(6), 1783-1788, 1994.
13. Olivier, J., Les besoins des pleurotes cultives, Bull. Fnsacc., 45, 33-51, 1990.
14. Zadrazil, F., Cultivation of *Pleurotus*, In the Biology and Cultivation of Edible Mushrooms (eds. S.T. Chang and W.A. Hayes) 521-557, Academic press, New York, 1978.