



***Polyporus squamosus* (Huds.) Fr. OBCC 5003 Suşu ile Biyokütle Üretimi Üzerine Çalışmalar**

**Cem ÖZKAN¹, Ayşenur BAHADIR¹, Ayşe Betül KARADUMAN¹
Necla ÖZBULUT², Mustafa YAMAÇ^{3*}**

¹ Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir

² Eskibağlar Mahallesi Balkan Caddesi No: 9/25 Eskişehir

³ Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Eskişehir

Özet

Bu çalışmada, Fındıksuyu Köyü'nden (Geyve-Sakarya) toplanarak dikaryotik misel formunda izole edilen *Polyporus squamosus* OBCC 5003 suşunun misel gelişimi üzerine farklı sıcaklık ve pH değerleri ile besiyeri içeriğinin etkileri incelenmiştir. Araştırma sonucunda 8 farklı inkübasyon sıcaklığı (10–45 °C) ve 9 farklı pH derecesi (4.0-8.0) arasından en iyi misel gelişimi gözlenen sıcaklık ve pH değerleri 30 °C ve 5 olarak belirlenmiştir. Besin tercihinin belirlenmesi amacı ile *P. squamosus* OBCC 5003 suşu 14 farklı besiyerinde büyütülerek günlük misel gelişim değerleri (koloni çapı ve büyüme hızı) belirlenmiştir. En yüksek gelişim hızı, 35,48 mm/gün değeri ile glukoz malt yeast agar besin ortamında belirlenmiştir. Elde edilen veriler *P. squamosus* OBCC 5003 suşunun biyoreaktör sisteminde derin kültür yöntemi ile büyütülmesi amacı ile kullanılmış ve organizmanın büyüme parametreleri (biyokütle üretimi ve substrat tüketimi) belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Polyporus squamosus*, Biyokütle, Biyoreaktör, Optimizasyon.

Studies on Biomass Production by *Polyporus squamosus* (Huds.) Fr. OBCC 5003 Strain

Abstract

In this study, the effects of different temperature, pH and media on mycelium development of *Polyporus squamosus* OBCC 5003 strain was investigated. Temperature of 30 °C and pH 5 were selected among 8 incubation temperature(10-45 °C) and 9 pH (4.0-8.0) values for maximum mycelial growth of the strain. The colony diameter and mycelial growth rate of *Polyporus squamosus* OBCC 5003 strain were determined on 14 different growth media, daily. The highest mycelial growth rate was recorded as 35.48 mm/day on glucose malt yeast medium. The obtained data were used for bioreactor scale production and for calculation of growth parameters (biomass production and substrate consumption) of *P. squamosus* OBCC 5003 strain.

Keywords: *Polyporus squamosus*, Biomass, Bioreactor, Optimization

*e mail: myamac@ogu.edu.tr



GİRİŞ

Her yıl meydana gelen 12 milyon çocuk ölümünün % 55 'inin yetersiz beslenmeden kaynaklandığı bilinmektedir. Günümüzde 6.8 milyar kadar olan toplam dünya nüfusunun 2050 yılında Birleşmiş Milletler Topluluğu' na ait iyimser ve kötümser tahminlere göre 7.4 ile 10.6 milyar arasında olacağı öngörülmektedir (Anonymous, 2011). Dünyadaki enerji krizleri ve nüfus artışı dikkate alındığında gıda üretim miktarının yanında önemli diğer konular da ürün çeşitliliği ve kalitesidir.

Beslenme sorununun temelinde protein eksikliği bulunmaktadır. Günümüzde dünya hayvansal protein üretimi yılda yaklaşık 25 milyon ton kadardır. Bu yüksek nitelikli protein miktarının 2/3 sinden fazlası gelişmiş ülkelerce tüketilmektedir. Gelişmiş ülkelerde kişi başına günlük protein tüketimi 102 gram olup, bunun 70 gramı hayvansal kaynaklı proteinlerden oluşmaktadır (Örücü ve Kanıbir, 2005). Gelişmekte olan ülkelerde ise hayvansal protein tüketimi günde 12 gramı geçmemektedir. Türkiye'de 84 gram olan kişi başına protein tüketiminin ancak 17 gramı hayvansal kaynaklı proteinlerden karşılanmaktadır (Örücü ve Kanıbir, 2005). Arslan ve arkadaşları (2006) 2003-2004 yıllarına ait çalışmada 787 bireyde (394 erkek, 393 kadın) beslenme örüntüsünü ve alışkanlıklarını saptamış ve yıllar içerisindeki değişimi incelemişler ve günlük enerjinin %37 kadarının tahıllardan sağlandığını belirlemişlerdir. Bireylerin günlük protein alımının %43' ünün hayvansal %57' sinin ise bitkisel kaynaklı olduğu belirlenmiştir. (Yağmur ve Güneş, 2010). Nüfus artışının bir sonucu olarak günümüzdeki protein açlığı sorununun gelecek yıllarda da artmaya devam edeceği düşünülmektedir.

Dünyadaki protein açlığının önlenmesi için düşünülen alternatiflerden birisi, alışılmışın dışında yeni besin kaynakları yaratmaktır.

Mikroorganizma hücreleri, önemli oranda protein, esansiyel aminoasit, karbonhidrat ve vitamin içermeleri nedeniyle, alternatif besin kaynağı olarak kullanım potansiyeline sahiptir. Bu kapsamda makrofunguslar, nispeten yüksek protein ve düşük lipid içerikleri nedeni ile ideal besin kaynakları olarak bilinmektedir. Günümüzde birçok makrofungus türü besin olarak kullanımlarının yanı sıra tıbbi amaçlı olarak ta ilgi çekmektedir. Özellikle son yıllarda birçok makrofungus türü antibiyotik, antitümör, antiviral vb. özelliklerinden dolayı çok sayıda çalışmaya konu olmuştur (Tamer ve ark., 1990; Wang ve ark., 1997; Yang ve ark., 2002; Lindequist ve ark., 2005; Yamaç ve ark., 2010). Kültüre alınan fungus formlarının yanı sıra, sıvı kültürde üretilen mantar misellerinin direk insan beslenmesinde kullanılabilmesi dikkati çeken diğer bir konu olarak karşımıza çıkmaktadır. Günümüze dek *Agaricus bisporus* (Kurbanoglu ve ark., 2004), *Pleurotus florida* (Gbolagade ve ark., 2006), *Lentinus subnudus*, *Schizophyllum commune* (Jonathan and Fasidi, 2001), *Tricholoma matsutake* (Kawagishive ark., 2004), *Coprinus cinereus*, *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus ostreatus*, *Lentinus edodes* (Hanai ve ark., 2005), *Pleurotus sajor-caju* (Mukhopadhyay ve ark., 2005), *Coprinus comatus* (Lelley, 1983), *Auricularia polytricha* (Kiran ve ark., 1993), *Hericium spp.* (Ko ve ark., 2005), *Grifola spp* (Hanai ve ark., 2005; Postemsky ve ark., 2006) gibi birçok makrofungus türü biyoprotein üretim denemelerine konu olmuştur. Benzer yaklaşım ile sunulan bu çalışma farklı ortam koşullarının, *Polyporus squamosus* OBCC 5003 suşunun misel gelişimine etkilerini belirlemek, biyoprotein üretimi açısından en uygun besinsel bileşimi seçmek ve reaktör çapında tek hücre proteini üretiminin incelenmesi amaçları ile gerçekleştirilmiştir.



MATERYAL ve METOT

Çalışmanın materyalini oluşturan *Polyporus squamosus* (Huds.) Fr. basidiomata örnekleri Fındıksuyu Köyü'nden (Geyve-Sakarya) toplanarak geçerli literatürler aracılığı ile tanımlanmış (Moser, 1978; Breitenbach and Kranzlin, 1986; Phillips 2006) ve dikaryotik misel formunda büyütülerek OBCC 5003 kodu ile Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümünde oluşturulan "Basidiomycetes Kültür Koleksiyonu" bünyesinde stoklanmıştır. İzolat, 4 °C' de yatık kültür halinde saklanmış ve her 6-8 ayda rutin olarak taze besiyerine aktarılmıştır.

İnokülant Hazırlanması

Bu çalışmada, *P. squamosus* OBCC 5003 suşu Malt Agar besiyerine aşılansak 27 °C de 7 gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Gelişen miseller PMP besiyerine (Malt Extract 10 g, Pepton 1 g, Potato Dextrose Broth 24 g, Distile su 1000 ml) 6 mm çapında diskler halinde inoküle edilerek 27 °C de 4 gün boyunca 100 rpm de inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda hasat edilen miseller homojenize edilerek (Heidolph, Silent Crusher M) inokülant olarak kullanılmıştır.

Sıcaklık ve pH Tercihinin Belirlenmesi

Hazırlanan inokülant, gelişim ortamı olan 50 ml basal medium' a (Glukoz 20 g, Pepton 2 g, KH₂PO₄ 1 g, MgSO₄ 0.5 g, Distile su 1000 ml) % 4 oranında aktarılmıştır. *P. squamosus* OBCC 5003 suşunun sıcaklık tercihi, izolatın basal mediumda 8 farklı sıcaklıkta (15–45 °C) 10 gün boyunca inkübasyona bırakılması sırasında oluşan biyokütlenin kuru ağırlık tayini esasına göre belirlenmiştir. İzolatın pH tercihi ise, basal mediumum pH ı otoklavlanmadan önce 8 farklı pH derecesine (4-8) ayarlanarak inkübasyon sonucu oluşan biyokütlenin kuru ağırlık tayini esasına göre belirlenmiştir. Her sıcaklık ve pH

değeri için 3 paralel çalışma gerçekleştirilmiş olup sonuçlar elde edilen değerlerin ortalaması biçiminde sunulmuştur. Böylece *P. squamosus* OBCC 5003 suşunun gelişimi için en uygun sıcaklık ve pH değerleri belirlenmiştir.

Besin Tercihinin Belirlenmesi

P. squamosus OBCC 5003 suşunun besin tercihi, organizmanın 15 farklı besiyerinde oluşturduğu koloni çapı ve günlük gelişim hızı değerleri kullanılarak belirlenmiştir. Test besiyerleri olarak; buğday agar, arpa agar, pirinç agar, mısır agar, fasulye agar, nohut agar, malt extract agar, potato dextrose agar, GPPA (Glukoz 25 g, KH₂PO₄ 2,5 g, corn steep liquor 2 ml, agar 20 g, distile su 1000 ml), Yang ortamı (malt extract 30 g, pepton 1 g, soya unu 5 g, mısır unu 10 g, CaCO₃ 2 g, soya yağı 2 ml, agar 20 g, distile su 1000 ml), Glukoz malt yeast agar (glukoz 10 g, malt extract 10 g, yeast extract 4 g, agar 20 g, distile su 1000 ml), oat meal agar (Yulaf unu 80 g, maltoz 10 g, yeast extract 2 g, agar 20 g, distile su 1000 ml), dog food agar (köpek yemi 20 g, agar 20 g, distile su 1000 ml) ve malt extract yeast agar (malt extract 20 g, yeast extract 2 g, soya pepton 1 g, agar 20 g, distile su 1000 ml) kullanılmıştır. Buğday agar, arpa agar, fasulye agar ve nohut agar besiyerinin hazırlanması için 125 g materyal 4 litre distile suda 2 saat kaynatılmış, takiben 24 saat bekletilmiş, süzülerek kalan sıvı 4 litreye tamamlanmış ve % 2 agar ilave edilerek sterilize edilmiştir. Pirinç agar ve mısır agar' ın hazırlanması için farklı olarak kaynatılmadan distile suda bekletilmiştir. Diğer besiyerleri, toz haldeki ticari besiyerlerinin tartılması ya da ticari kimyasalların uygun miktardaki karışımları ile hazırlanmıştır. Kullanılan tüm besiyerleri 121 °C' de 15 dakika sterilize edilerek 15 cm çapındaki cam petrilere dökülmüştür.



İzolatın büyüme oranlarının karşılaştırılması amacı ile makrofungus ana kültürleri 30 °C' de 7 gün büyütülmüş ve gelişen makrofungus kolonisinin aktif büyüyen uç kısımlarından 6 mm çapında diskler elde edilmiştir. Denemeye alınan farklı besiyerlerini içeren petrielerin merkez kısmına bir adet makrofungus diski aktararak petrieler 30 °C' de 10 gün boyunca izlenmiştir.

Çalışmada iki farklı inceleme parametresi kullanılmıştır. İlk olarak denenen besiyerindeki koloni çapları dijital kumpas ile günlük olarak ölçülmüş ve 10 günde ulaşılan toplam koloni çapı değerlendirilmiştir. Bu amaçla kolonilerin çapları farklı düzlemler dikkate alınarak günlük olarak ölçülmüştür. Diğer bir inceleme parametresi olarak izolatların günlük büyüme hızı belirlenmiştir. İzolatların günlük büyüme hızı (mm/gün), koloni çapındaki artış değerlerinin inkübasyon süresine göre grafiklenmesi ile elde edilen eğri kullanılarak hesaplanmıştır. Bu değer, doğrusal büyümenin gerçekleştiği zaman aralığı (t_2-t_1) ve bu zaman aralığında koloni çapındaki artış (R_2-R_1) değerleri dikkate alınarak hesaplanmıştır (Bilay ve ark. 2000). Her besiyeri

için 3 petri kutusu kullanılmış olup elde edilen sonuçların ortalaması alınmıştır.

Reaktör Çapında Biyoprotein Üretimi

Çevresel ve besinsel koşulların araştırılmasından elde edilen veriler, *P. squamosus* OBCC 5003 suşunun reaktör koşullarında büyütülmesi amacı ile kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan 7.5 litrelik karıştırılmalı tank reaktör (Bioflo 110, New Brunswick), içerisinde 3000 ml malt ekstrakt besiyeri ile beraber 121 °C' de 25 dakika otoklavlanmıştır. Reaktör soğutulduktan sonra % 4 inokülant ile aşılanmıştır. İnkübasyon süresince optimizasyon çalışmasından elde edilen sıcaklık ve pH değerleri kullanılmıştır. Her gün reaktörden örnek alınarak substrat tüketim (S) ve biyokütle üretim (X) değerleri belirlenmiştir. Bu verilerden yararlanılarak ve aşağıdaki formüller aracılığı ile izolatın karıştırılmalı tank reaktörde spesifik büyüme oranı (μ) ve substrata bağlı olarak üretilen biyokütle ($Y_{x/s}$) değerleri belirlenmiştir (Rodriguez-Leon et al., 2008)

$$\text{Spesifik büyüme oranı } (\mu) = \frac{d \ln X}{dt} \quad (1/d)$$

$$\text{Substrata bağlı olarak üretilen biyokütle } (Y_{x/s}) = \frac{dX}{dS} \quad (g/g)$$

BULGULAR

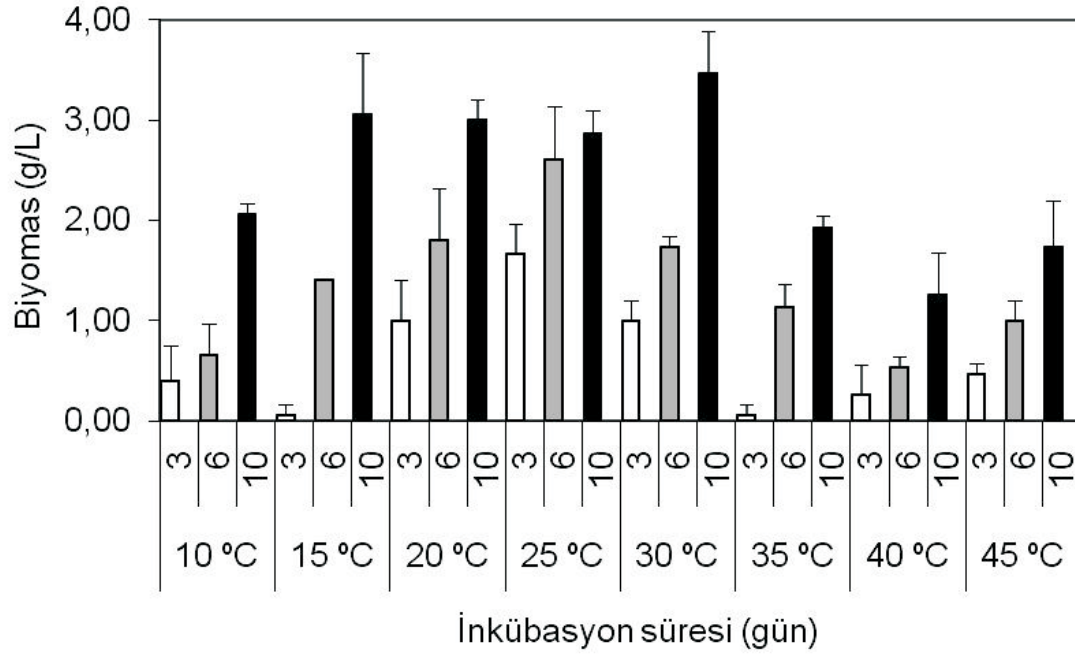
Sıcaklık ve pH Tercihinin Belirlenmesi

Çalışmada *Polyporus squamosus* OBCC 5003 suşunun farklı inkübasyon sıcaklığı değerlerinde 10 günlük inkübasyon süresi sırasında değişik periyotlarda elde edilen biyokütle değerleri Şekil 1 de ve farklı başlangıç pH değerlerindeki besiyerlerinde elde edilen

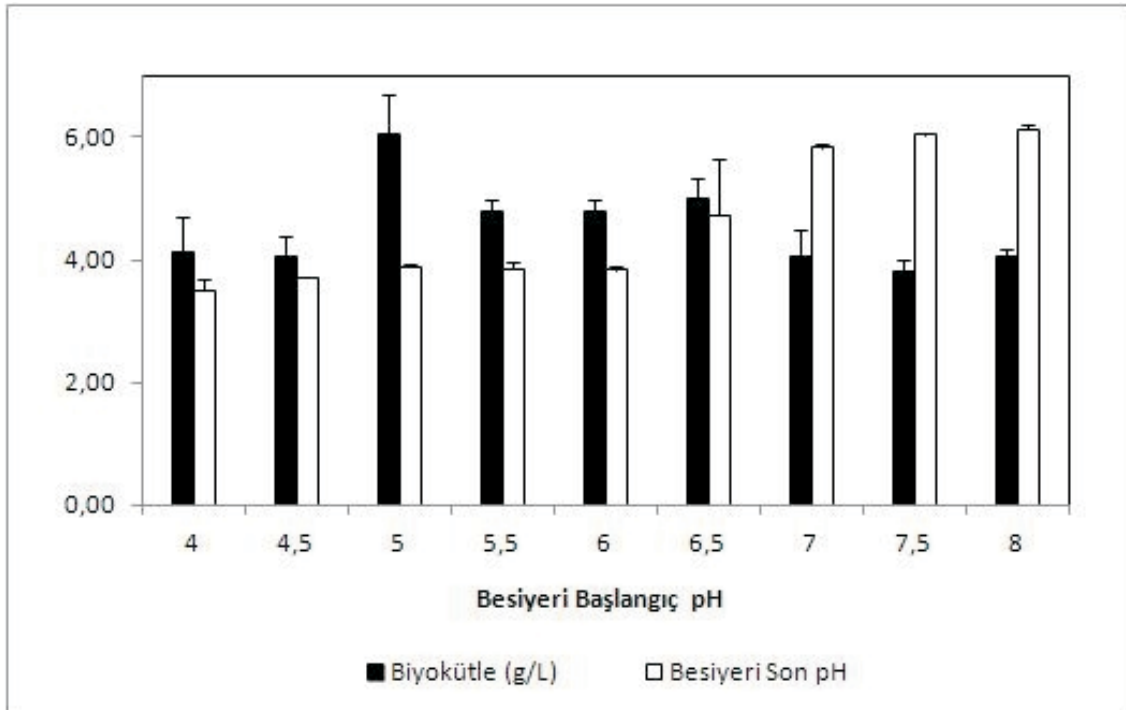
biyokütle değerleri Şekil 2 de sunulmuştur.

Besin Tercihinin Belirlenmesi

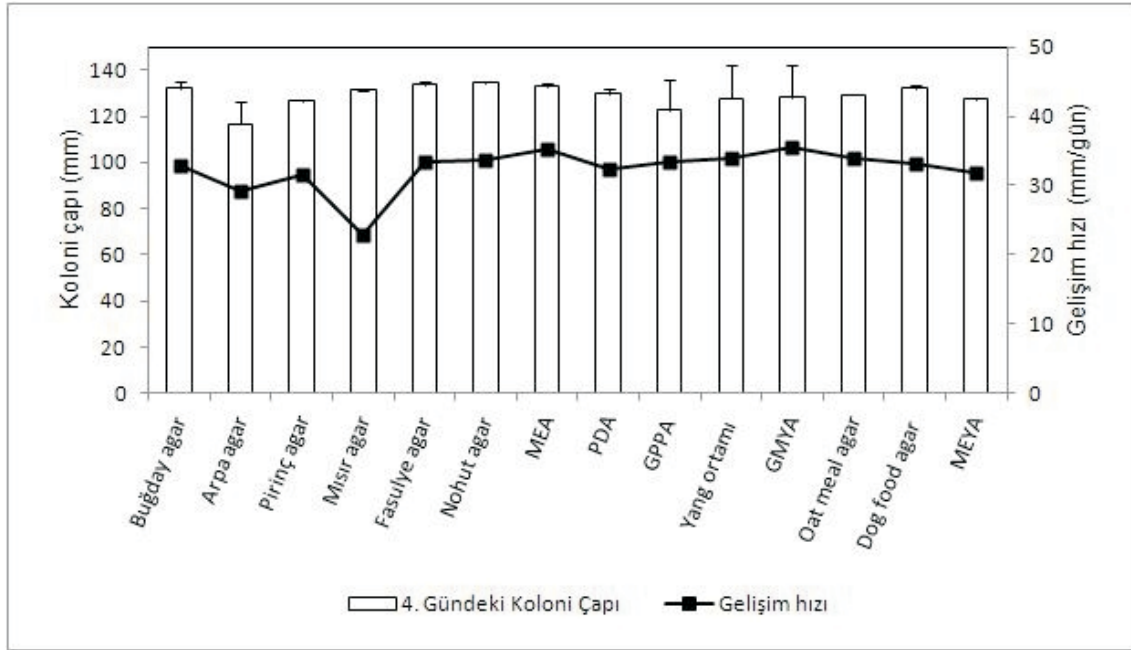
Polyporus squamosus OBCC 5003 suşu çalışmada kullanılan tüm besiyerlerinde nispeten iyi büyümüş olup, gerek koloni çapı gerekse büyüme hızı (mm/gün) değerleri açısından oldukça tatmin edici değerler sunmuştur (Şekil 3).



Şekil 1. *Polyporus squamosus* OBCC 5003 suşunun farklı inkübasyon sıcaklıklarında zamana bağlı biyokütle üretimi



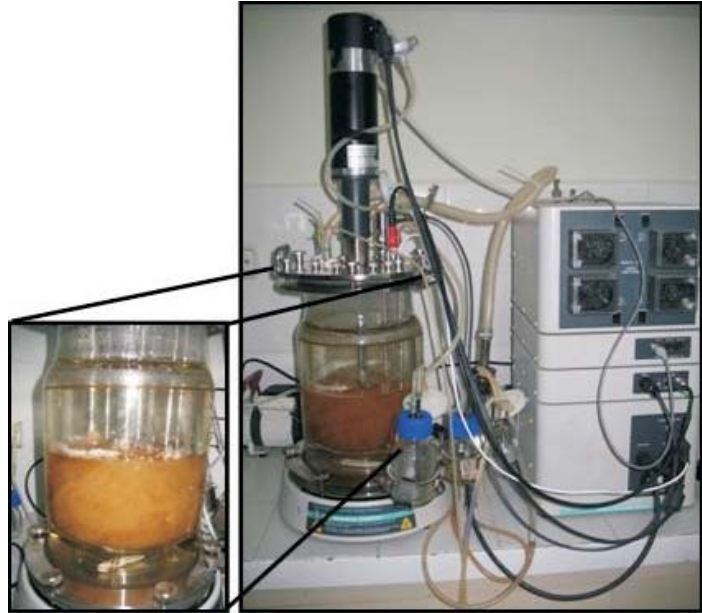
Şekil 2. *Polyporus squamosus* OBCC 5003 suşunun farklı başlangıç pH larında biyokütle üretimi ve besiyeri son pH sı



Şekil 3. *Polyporus squamosus* OBCC 5003 suşunun farklı besi ortamlarında 4 günlük inkübasyon sonunda büyüme değerleri

Reaktör Çapında Biyoprotein Üretimi

Çalışmanın bu aşamasında *P. squamosus* OBCC 5003 suşunun karıştırmalı tank reaktörde (Bioflo 110, New Brunswick) büyüme özellikleri ve kinetik parametreleri belirlenmiştir (Şekil 4). İzolatın spesifik büyüme oranı (μ) ve substrata bağlı olarak üretilen biyokütle ($Y_{x/s}$) değerleri hesaplanmıştır. *P. squamosus* OBCC 5003 suşunun; 7.5 litrelik karıştırmalı tank reaktörde, 3 litre çalışma hacminde malt ekstrakt besiyerinde, % 4 inokülasyon kullanımı ile, 30 °C de inkübasyonu sonucu elde edilen spesifik büyüme oranı (μ) değeri 3.74 (d^{-1}) olarak hesap edilmiştir. Substrata bağlı olarak üretilen biyokütle ($Y_{x/s}$) değeri ise 1 (g/g) olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4. *Polyporus squamosus* OBCC 5003 suşunun karıştırmalı tank reaktörde büyütülmesi



TARTIŞMA

Polyporus squamosus yaygın olarak karşılaşılan ve yaprak döken ağaçlarda parazit özellikte olan bir makrofungus türüdür (Phillips, 2006) Tür, birçok ülkede özellikle bahar aylarında doğadan toplanarak yenilen makrofungus türleri arasında yer almaktadır. Bu nedenle çalışmamızda *Polyporus squamosus* OBCC 5003 suşunun mevsime bağımlı karpofor toplanması yerine, mevsimden bağımsız biyokütle üretimi açısından optimizasyonu ve reaktör koşullarında derin kültür yöntemi ile üretimi konu alınmıştır.

Sıcaklık ve pH Tercihinin Belirlenmesi

Polyporus squamosus OBCC 5003 suşunun büyümesini destekleyen sıcaklık ve pH değerlerini belirlemek amacı ile izolat, farklı inkübasyon sıcaklığı (10–45 °C) ve başlangıç pH (4.0–8.0) değerlerinde büyütülmüştür. *P. squamosus* OBCC 5003 suşu denenilen tüm sıcaklık değerlerinde inkübasyon süresinin uzamasına bağlı olarak dereceli biçimde artan bir büyüme göstermektedir (Şekil 1). *P. squamosus* OBCC 5003 suşu değerlendirilen tüm sıcaklık değerlerinde, değişen oranlarda da olsa, büyümeye devam etmiş ve inhibe olmamıştır. Suş, inkübasyonun 3 ve 6. günlerinde 25 °C' de daha yüksek biyokütle değeri vermiştir. İnkübasyonun 10. günündeki en yüksek biyokütle değeri ise 30 °C sıcaklıkta elde edilmiştir.

Değişik makrofungus türlerinin büyüebildiği sıcaklık aralığına yönelik çalışmalar *Volvariella speciosa*'nın 20-35 °C (Fasola ve ark., 2007), *Lentinus subnudus* (Gbolagade ve ark., 2006b) ve *Volvariella esculenta* (Jonathan ve ark., 2004)'nin 15-40 °C, *Pleurotus florida* (Gbolagade ve ark., 2006a) ve *Psathyrella atroumbonata* (Jonathan ve Fasidi, 2003)'nin 15-45 °C, *Auricularia polytricha*'nın 10-40 °C (Jonathan ve ark., 2009)

aralıklarında büyümesini sürdürebildiğini göstermiştir. Bu durum 10-45 °C sıcaklık aralığında büyümeye devam eden *P. squamosus* OBCC 5003 suşunun geniş bir sıcaklık toleransına sahip olduğunu göstermekte olup suşun değişik iklim zonlarında extensif kültürüne yönelik çalışmalar açısından da ümit verici bir özelliktir.

Fungusun sıcaklığa benzer olarak deneme kapsamındaki tüm pH değerlerinde de büyüebildiği ve inhibe olmadığı görülmüştür. Vejetatif büyüme genelde pH: 5.0-6.5 aralığında daha iyi olmakta ve optimum büyüme pH: 5.0 değerinde gerçekleşmektedir (Şekil 2). Bu sonuç izolatanın nötrale yakın asidik pH değerlerinde daha iyi büyüdüğünün bir ifadesi olarak değerlendirilebilir. Değişik bazı makrofungus türlerinin nötrale yakın asidik pH değerlerinde daha iyi büyüebildiği *Lentinus subnudus* (Gbolagade ve ark., 2006b) *Volvariella speciosa* (Fasola ve ark., 2007), *Schizophyllum commune* (Adejoye ve ark., 2007), *Volvariella esculenta* (Jonathan ve ark., 2004) suşlarında vurgulanmış durumdadır.

Polyporus squamosus OBCC 5003 suşu 10 günlük inkübasyon süresi boyunca metabolik aktivitesi ile ortam pH sınırı daha asidik değerlere doğru değiştirmiştir (Şekil 2). Başlangıç pH sınırının 5.0-6.0 aralığında olduğu ve diğer pH değerlerine göre yüksek biyokütle değerleri sunan kültürlerin son pH değerleri (3.83-3.89 aralığında) yaklaşık olarak eşit görülmektedir. Daha yüksek başlangıç pH'larında fungus gelişimi daha yavaş biçimde gerçekleşmiş olup, ancak 10 günlük inkübasyon süresinin sonunda fungusun daha iyi gelişebildiği bir sıcaklık aralığına (5.84–6.13) ulaşmıştır.

Besin Tercihinin Belirlenmesi

Makrofungusların gıda, tıp ya da biyoteknoloji alanlarında önemli kullanım potansiyeline sahip olduğu bilinmektedir.



Kültüre alınmak istenen makrofungusların sporlarının çimlendirilmesi ya da doku kültürü yolu ile vejetatif miselinin elde edilmesi, makrofungus izolatlarının kültür koleksiyonlarında canlı ve gelişmiş biçimde saklanmaları, yenebilir olanların kültür koşullarının belirlenmesi, sıvı ve katı ortamlarda biyokütle üretim koşullarının belirlenmesi gibi nedenlerle makrofungus izolatlarının optimum gelişiminin sağlandığı besiyerinin seçimi bir çok araştırmaya konu edilmiştir. Bu gerekçelerle kullanılan besiyeri; mantarlardan elde edilen sporların çimlendirilmesi, misellerin gelişim hızı, morfolojisi ve kalitesi gibi kritik aşamalarda başarı sağlamanın anahtarı durumundadır (Pekşen ve ark., 1999).

Polyporus squamosus OBCC 5003 suşunun sıklıkla üretilen makrofungus kültürlerinin birçoğundan daha hızlı büyüme yeteneğine sahip olması oldukça dikkat çekici bir konudur. Çalışma kapsamında kullanılan 15 cm çapındaki cam petrilere inkübasyonun 4. gününde neredeyse tamamen fungal koloni ile kaplanmış olması oransal olarak agresif bir suş olduğunun bir ifadesi olarak değerlendirilmiştir (Şekil 3). İnkübasyonun 4. günündeki koloni çapları 116.66–134.38 mm olup izolatin tüm besiyerlerinde oldukça başarılı biçimde büyüdüğünü göstermektedir. Bu süreçte izolatin günlük büyüme hızı ise 22.77–35.48 mm/gün civarındadır ki oldukça yüksek bir değerdir.

Oldukça iyi tanınan yenebilir mantarlar arasında olan *P. squamosus* türüne ait OBCC 5003 kodlu suşumuzun fasulye agar, nohut agar ve malt ekstrakt agar besiyerlerinde yüksek gelişim kapasitesi gösterdiği anlaşılmaktadır. Hem koloni çapı hem de büyüme hızı açısından bu besiyerleri nispeten öne çıkmış görünmektedir. Sonuç olarak bu besiyerleri çalışılan izolat tarafından tüm amaçlar için ve özellikle biyoprotein üretimi amacı ile

kullanılabilir nitelikte görülmektedir.

Reaktör Çapında Biyoprotein Üretimi

Günümüzde fermentör boyutunda üretimi yapılan ve piyasada yer bulan tek fungal hücre proteini, *Fusarium venenatum* kaynaklı “Quorn” olarak bilinmektedir (Moore ve Chiu, 2001) Oysa filamentöz fungusların reaktör çapında üretimlerinin önünde ciddi bir engel görülmemektedir (Znidarsic ve Pavko, 2001; Fazenda ve ark., 2008). Bu durumun güzel bir örneği olarak *Polyporus squamosus* OBCC 5003 suşu karıştırılmalı tank reaktörde (Bioflo 110, New Brunswick) çok başarılı olarak büyütülmüş ve suş inkübasyonun 3. gününde tüm reaktör hacmini biyokütle ile doldurmuştur (Şekil 4). Nitekim spesifik büyüme oranı (μ) olan 3.74 (1/d) ve substrata bağlı olarak üretilen biyokütle ($Y_{x/s}$) değeri olan 1 (g/g) değerleri de bu durumu vurgulamaktadır. Bu nedenle gelecekte bu suş ile yapılacak biyoprotein üretim denemelerinde batch (kesikli) kültür yerine continuous (sürekli) kültür denemeleri yapmanın ekonomik açıdan da daha uygun ve yararlı olacağı düşünülmektedir.

Tablo 1, farklı makrofungus izolatları ile gerçekleştirilen bazı çalışmalarda elde edilen kinetik parametreleri içermektedir. Bu tablodan *Polyporus squamosus* OBCC 5003 izolatinın μ değerinin oldukça yüksek olduğu görülmektedir.

Sıvı ortamlarda üretilen yenebilir mantar misellerinin doğrudan insan besini olarak kullanılabilirliği, ektomikoriza ya da sklerot oluşturan yenebilir makrofunguslar gibi kültür yöntemi belirlenememiş olan fungusların besin olarak değerlendirilebilmesi için bir olanak yaratmıştır. Bu çalışma ile tek hücre proteini üretiminde kullanım potansiyeline sahip olan *Polyporus squamosus* OBCC 5003 suşunun çevresel ve besinsel tercihleri belirlenmiştir.



Konu hakkında sürekli kültür yönünde ilerleyecek çalışmalar ve elde edilen proteinin karakterizasyonu ile bu biyoprotein bir ürün haline getirilip getirilemeyeceğinin ortaya çıkması beklenmektedir.

TEŞEKKÜR

Çalışma materyali olan *Polyporus squamosus* basidiomata örneklerini temin eden Onur Koyuncu ve Koray Yaylacı' ya teşekkür ederiz.

Tablo 1. Çeşitli makrofungus suşları tarafından biyokütle üretimine ait verim parametreleri

Tür	μ (1/d)	$Y_{x/s}$ (g /g)	Referans
<i>Agaricus blazei</i>	0.11-0.16	0.73-0.75	Shu ve ark., 2004
<i>Antrodia camhorata</i>	0.20-0.51	0.14-0.30	Shu ve Lung, 2004
<i>Armillaria mellea</i>	0.17	0.67	Lung ve Huang, 2010
<i>Collybia maculata</i>	0.18-0.23	-	Lim ve ark., 2004
<i>Cordyceps militaris</i>	0.05	-	Kim ve ark., 2003
<i>Grifola frondosa</i>	0.49	-	Bae ve ark., 2005
<i>Polyporus squamosus</i>	3.74	1	Bu çalışma
<i>Trametes versicolor</i>	-	0.17-0.23	Tavares ve ark., 2005
<i>Tremella fuciformis</i>	0.19	-	Choa ve ark., 2006

KAYNAKLAR

- Anonymous, 2011, World population to 2300, United Nations, Department of Economic and Social Affairs, Population Division Reports, 240 pp.
- Adejoye O.D., Adebayo-Tayo B.C., Ogunjobi A.A., Afolabi O.O., *Physicochemical Studies on Schizophyllum commune (Fries) a Nigerian Edible Fungus*, W. Appl. Sci. J., 2(1), 73-76, (2007).
- Bae J.T., Sim G.S., Lee D.H., Lee B.C., Pyo H.B., Choe T.B., Yun J.W., *Production of exopolysaccharide from mycelial culture of Grifola frondosa and its inhibitory effect on matrix metalloproteinase-1 expression in UV-irradiated human dermal fibroblasts*, FEMS Microbiol. Lett., 251, 347–354, (2005).
- Bilay V.T., Solomko E.F., Buchalo A.S. *Growth of edible and medicinal mushrooms on commercial agar media.*, In: Van Griensven L.J.L.D., Balkema A.A. (Eds.), *Science and Cultivation of edible fungi*. Rotterdam, Brookfield, Netherlands, pp 779-780 (2000).
- Breitenbach, J. and Kranzlin, F., 1986, Fungi of Switzerland, Vol. II. Non Gilled Fungi, Verlag Mykologia, 412 pp.
- Choa E.J., Young J., Chang H.Y., Yun J.W., *Production of exopolysaccharides by submerged mycelial culture of a mushroom Tremella fuciformis*, J. Biotechnol., 127, 129–140, (2006).
- Fasola T.R., Gbolagade J.S., Fasidi I.O., *Nutritional requirements of Volvariella speciosa (Fr. Ex. Fr.) Singer, a Nigerian edible mushroom*, Food Chem., 100, 904–908, (2007).
- Fazenda M.L., Seviour R., McNeil B., Harvey L.M., *Submerged culture fermentation of "Higher Fungi": The Macrofungi*, In: Laskin A.I., Gadd G.M., Sariaslani S. (Eds.), *Advances in Applied Microbiology*, 63, pp. 33-103, (2008).



- Gbolagade, J., Sobowal, A., Adejoy, D., *Optimization of sub-merged culture conditions for biomass production in Pleurotus florida (Mont.) Singer, a Nigerian edible fungus*, African J. Biotechnol., 5 (16), 1464-1469, (2006a).
- Gbolagade J.S., Fasidi I.O., Ajayi E.J., Sobowale A.A., *Effect of physico-chemical factors and semi-synthetic media on vegetative growth of Lentinus subnudus (Berk.), an edible mushroom from Nigeria*, Food Chem., 99, 742–747, (2006b).
- Hanai H., Ishida S., Saito C., Maita T., Kusano M., Tamogami S., Noma M., *Stimulation of mycelia growth in several mushroom species by rice husks*, Biosci. Biotechnol. Biochem., 69 (1), 123-127, (2005).
- Jonathan S.G., Fasidi I.O., *Studies on phytohormones, vitamins and mineral element requirements of Lentinus subnudus (Berk) and Schizophyllum commune (Fr. Ex. Fr) from Nigeria*, Food Chem., 75, 303–307, (2001).
- Jonathan S.G., Fasidi I.O., *Studies on Psathyrella atroumbonata (Pegler), a Nigerian edible fungus*, Food Chem., 81, 481–484, (2003).
- Jonathan S.G. Fasidi I.O. Ajayi E.J., *Physico—Chemical studies on Volvariella esculenta (Mass) Singer, a Nigerian edible fungus*, Food Chem., 85, 339–342, (2004).
- Jonathan S.G., Bawo D.D.S., Adejoye D.O., Briyai O.F., *Studies on Biomass Production in Auricularia polytricha Collected from Wilberforce Island, Bayelsa State, Nigeria*, Am. J. Appl. Sci., 6 (1), 182-186, (2009).
- Kawagishi H., Hamajima K., Takanami R., Nakamura T., Sato Y., Akiyama Y., Sano M., Tanaka O., *Growth promotion of mycelia of the Matsutake mushroom Tricholoma matsutake by D-isoleucine*, Biosci. Biotechnol. Biochem., 68 (11), 2405-2407, (2004).
- Kim S.W., Hwang H.J., Xu C.P., Sung J.M., Choi J.W., Yun J.W., *Optimization of submerged culture process for the production of mycelial biomass and exo-polysaccharides by Cordyceps militaris C738*, J. Appl. Microbiol., 94, 120–126, (2003).
- Ko H.G., Park H.G., Park S.H., Choi C.W., Kim S.H., Park W.M., *Comparative study of mycelial growth and basidiomata formation in seven different species of the edible mushroom genus Hericium*, Biores. Technol. 96, 1439–1444, (2005).
- Kurbanoglu E.B. Algur O.F. Zulkadir A., *Submerged production of edible mushroom Agaricus bisporus mycelium in ram horn hydrolysate*, Ind. Crops Prod., 19, 225–230, (2004).
- Lim J.M., Kim S.W., Hwang H.J., Joo J.H., Kim H.O., Choi J.W., Yun J.W., *Optimization of medium by Orthogonal Matrix Method for submerged mycelial culture and exopolysaccharide production in Collybia maculata*, Appl. Biochem. Biotechnol., 119, 159-170, (2004).
- Lindequist U., Niedermeyer T.H.J., Julich W.D., *The pharmacological potential of mushrooms*, eCAM, 2, 285–299, (2005).
- Lung M.Y., Huang P.C., *Optimization of exopolysaccharide production from Armillaria mellea in submerged cultures*, Lett. Appl. Microbiol., 50, 198–204, (2010).
- Moore D., Chiu S. W., *Fungal products as food*. In: Pointing S. B., Hyde K. D. (Eds.), *Bio-Exploitation of filamentous fungi*, Fungal Diversity Press: Hong Kong. pp. 223-251, (2001).
- Moser, M., 1978, *Keys to Agarics and Boleti*, Roger Philipps, Stuttgart, 535 pp
- Mukhopadhyay R., Chatterjee S., Chatterjee B.P., Guha A.K., *Enhancement of biomass production of edible mushroom Pleurotus sajor-caju grown in whey by plant growth hormones*, Proc. Biochem., 40, 1241–1244, (2005).
- Örücü E., Kanıbir H., *Yumurta Pazarındaki Sorunlara Pazarlama Anlayışı Perspektifinden Bir Bakış Ve Çözüm Önerisi*, Balıkesir Üniversitesi SBE dergisi, cilt: 8, s: 13, Mayıs (2005), 145 – 164.



- Pekşen A.U., Hatat G., Erper İ. *Bazı doğa mantarları ve Pleurotus sajor-caju (Lev.) Sing.' nun misel gelişimine farklı ortam ve uygulamaların etkisi.* OMU Ziraat Fak. Derg., 14(3), 44-53, (1999).
- Phillips, R., 2006, Mushrooms, 1st Ed., Mac Millan, 384 pp.
- Postemsky P., Gonzalez Matute R., Figlas D., Curvetto N., *Optimizing Grifola sordulenta and Grifola gargal growth in agar and liquid nutrient media,* Micol. Aplic. Intern., 18(1), 7-12, (2006).
- Rodriguez-Leon, J.A., Soccol, C.R., Pandey, A., Rodriguez, D.E., *Kinetics in Solid-state Fermentation,* In: Current Developments in Solid-state Fermentation, Pandey, A., Soccol, C.R., Larroche, C. (Eds.), 48-74, Springer, New Delhi. (2008).
- Shu C.H., Lin K.J., Wen B.J., *Effects of culture pH on the production of bioactive polysaccharides by Agaricus blazei in batch cultures,* J. Chem. Technol. Biotechnol., 79, 998-1002, (2004).
- Shu C.H., Lung M.Y., *Effect of pH on the production and molecular weight distribution of exopolysaccharide by Antrodia camphorata in batch cultures,* Proc. Biochem., 39(8), 931-937, (2004).
- Tamer A.Ü., Gücin F., Solak M.H., *Ganoderma lucidum (Leys. Ex Fr.) Karst. Makrofungusunun Antimikrobiyal Aktivitesi,* X. Ulusal Biyoloji kongresi, 18-20 Temmuz 1990, Bildiriler Kitabı, s. 51-57, Erzurum (1990).
- Tavares A.P.M. Agapito M.S.M. Coelho M.A.Z. Lopes da Silva J.A. Barros-Timmons A. Coutinho J.A.P., Xavier A.M.R.B., *Selection and optimization of culture medium for exopolysaccharide production by Coriolus (Trametes) versicolor,* W. J. Microbiol. Biotechnol., 21, 1499-1507, (2005).
- Wang S.Y., Hsu M.L., Hsu H.C., Tzeng C.H., Lee S.S., Shiao M.S., Ho C.K., *The Anti-Tumor Effect of Ganoderma lucidum is Mediated by Cytokines Released From Activated Macrophages and T Lymphocytes,* Intern. J. Cancer, 70, 699-705, (1997).
- Yağmur C., Güneş E., *Dengeli Beslenme Açısından Türkiye'de Gıda Üretimi ve Tüketiminin İrdelenmesi,* TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi, Cilt 2, 1139-1159, Ankara, (2010).
- Yang B.K., Ha S.Y., Jeong S.C., Jeon Y.J., Ra K.S., Das S., Yung J.W., Sang C.H., *Hypolipidemic Effect of an Exo-Biopolymer Produced from Submerged Mycelial Culture of Auricularia polytricha in Rats,* Biotechnol. Lett., 24, 1319-1325, (2002).
- Yamaç M., Kanbak G., Zeytinoglu M., Senturk H., Bayramoglu G., Dokumacıoğlu A., Van Griensven L., *Pancreas protective effect of Agaricus bisporus extract on rats with streptozotocin induced diabetes,* Intern. J. Med. Mushroom, 12 (4), 379-389, (2010).
- Znidarsic P., Pavko A., *Morphology of filamentous fungi in submerged cultivations as a bioprocess parameter,* Food Technol. Biotechnol., 39 (3,) 237-252, (2001).