

KÜLTÜR MANTARLARI SPORLARININ ÇİMLENDİRİLMESİNDE PETRİ KAPLARI VE ECZA ŞİŞELERİNİN KULLANILMASI ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA

Refik ALAN (X)

I. Ö Z E T

Bu araştırma 1975 yılında Yalova Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü Mantar Laboratuvarında yürütülmüştür.

Yenen mantar sporlarının biomalt agar besi ortamı kullanılarak petri kaplarında mı, yoksa ecza şişelerinde mi daha iyi çimlendiğini saptayabilmek için bu araştırma yapılmıştır. Araştırmadan aşağıdaki sonuçlar alınmıştır :

1. Biomalt Agar besi ortamı kullanılarak petri kaplarına ve renksiz ecza şişelerine ekilen mantar sporları (*Agaricus bisporus*)'nın çimlenme nisbetleri petri kaplarında yüksek olmuştur.

2. Sporların ekilmesinden, çimlenmeye kadar geçen süre değişik bulunmuştur. Petri kaplarına ekilen sporlar, spor ekiminden 9-10 gün sonra çimlenmeye başladığı halde, ecza şişelerinde bu süre 21-22 gün olarak tespit edilmiştir. Spor çimlenmesinde 30 günlük süre esas alınmıştır. Petri kaplarında, spor ekiminden 9-10 gün sonra başlayan spor çimlenmesi 12-15 gün sonra maksimum seviyeye ulaşmıştır. Ecza şişelerinde ise spor çimlenmesi, spor ekiminden 23-26 gün sonra en yüksek seviyeye varmıştır.

3. Aynı besi ortamı kullanıldığı halde spor çimlenmesinin petri kaplarında daha erken başlamasının ve çimlenme nisbetinin daha yüksek olmasının nedeni çevre şartlarından meydana geldiği sanılmaktadır.

4. Enfeksiyon, petri kaplarında daha fazla olmuştur. Ecza şişelerinde enfeksiyon ya çok az olmuş veya hiç olmamıştır.

5. Tüm çalışmaların zincirleme olarak tamamen steril şartlarda yapma olanağına sahip olan yerlerde, spor çimlendirilmesinin petri kaplarında yapılmasının daha faydalı olacağı; aksi olan şartlarda ecza şişelerini kullanma mecburiyetinin bulunduğu anlaşılmıştır.

II. G İ R İ Ő

Mantar yetiştiriciliği, bildiğimiz bitki yetiştiriciliğinden çok farklıdır. Yetiştirme tekniği, yetiştirme ortamı ve evre istekleri bakımından değişiklikler gösterir. Mantar yetiştiriciliğinde iki ana safha vardır. Bunlardan birincisi, sporlardan misel elde edilmesi; ikincisi miselden yenilen kısmın üretilmesidir. Bu iki safha birbirinden tamamen ayrıdır.

Mantar yetiştiriciliğinde, misel elde etmek önemli ve özel bir sahadır. Bu sahadaki çalışmalar her ülkede büyük bir gizlilik içerisinde yürütülmekte, dışarıya sır verilmemekte, çalışma odalarına kim olursa olsun hiçbir yabancı sokulmamaktadır. Bu nedenle dünyada misel retimi Somycel, Hauser ve benzeri dev kuruluşların tekeline geçmiş durumdadır.

Memleketimizde son senelerde mantar yetiştiriciliğine karşı büyük bir ilgi başlamıştır. Misel ithali ile mantar üretimi başarılı olmayacağından veya en azından rantab olmayacağından misel üretiminin memleketimizde yapılması gereklidir. Misel elde etmek için ilk önce sporların imlendirilmesi gerekir. Spor imlendirilmesinde değişik çimlendirme ortamları, farklı metot ve vasıtalar kullanılmaktadır.

Çimlenen her spordan misel elde edilmesi beklenilmez. İlk imlenen spor-

ların miselleri daha verimli olacağından, çimlendirme kabında imlenen ilk 1-3 çimlenme noktası, besi ortamı ile birlikte alınıp başka bir kaba transfer edilir. Spawan bundan elde edilen misellerden yapılır. Mantar sporlarının çimlenme nisbetleri genellikle düşüktür. Sporların ortalama çimlenme nisbetinin % 30-35 olduğu söylenir. Çimlenen sporların hepsi koloni meydana getirmeyip; ancak % 2-2.5 kadarı koloni meydana getirmektedir. Bu nedenle mantar sporlarının çimlendirilmesinde fazla miktarda spor ekimi yapmak gerekmektedir. Ayrıca alışma materyalinin büyük bir kısmı; çalışma şartlarının durumuna, çalışanın titizliğine ve aşılama kaplarına bağlı olarak enfeksiyon sebebiyle kullanılmaz hale gelir.

Ekilen mantar sporları genellikle aşılamadan 10-35 gün sonra imlenirler. Yeni hatların elde edilebilmesi için fazla materyalle çalışmak gerekir. Fakat çoğu kez zaman ve laboratuvar şartları geniş kapsamlı çalışmayı kısıtlar.

Bu çalışmanın gayesi Kültür mantarları sporlarının Biomalt Agar besi ortamı kullanılarak, petri kaplarında mı, yoksa eskidenberi kullanılan ecza şişelerinde mi daha iyi çimlendiğini ortaya koymaktır.

A. LİTERATÜR ÖZETİ

Birçok mantar sporlarının çimlendirilmesinde değişik sürelerle soğuk veya soğuk (+) sıcak muameleye tabi tutulan sporlar farklı kültür ortamlarına ekilmiştir. *Agaricus campestris*'in

sporları extrem sıcaklık derecelerinde tutulduğu zaman hiç çimlenme göstermemiştir. Diğer mantarların sporları soğukta uzun süre tutulduğu zaman daha az tutulanlara nisbetle çimlenme nis-

beti yüksek olmuştur. *Agaricus campestris*'in sporunun çimlenmesine asitlerin etkisini tespit etmek için malik, laktik ve hippurik asit kullanılmıştır. Malik asitle muamele edilende hiç çimlenme olmamış; laktik asitle muamele edilende % 0-20; hippurik asitle muamele edilende % 0-10 kadar çimlenme olmuştur. Asitle muameleden sonra amonyum hidroksit, sodyum karbonat ve potasyum hidratla muamele edilmiştir. Fakat alkalilerle muamele negatif etki etmiştir. Önce asitle sonra alkalilerle veya yalnız alkalilerle muamele edilen her iki halde de negatif etki değişmemiştir. Miselyum parçalarının spor çimlenmesine etkisi olup olmadığı da incelenmiştir. Misel parçaları bulunmayan bazı kültürlerde spor ekiminden 10 gün sonra birkaç spor çimlenmesi gözükmele beraber, tam spor çimlenmesi spor ekiminden 16 gün sonra olmuştur. Misel parçası bulunan kültürlerde ise spor ekiminden 6 gün sonra tam çimlenme meydana gelmiştir. Miselyum parçalarının hem çimlenmeyi hızlandırdığı ve hem de içlenme nisbetini artırdığı dikkati çekmiştir (Ferguson, 1902).

Flack (1924), Psalliota sporlarının çimlenmesi üzerine bir seri deneme yapmıştır. Sporları organik, inorganik asitlerle ve alkalilerle muamele etmiş, en iyi neticeyi % 0.25 succinic asit ve %10 malt ekstrakt ile muamele edilenden almıştır.

Kültür ve yabani mantar sporlarının çimlendirilmesi üzerinde araştırmalar yapan Cayley (1936) çimlendirmede knop çözetisi kullanmış; solusyona spor ekiminde veya ekimden 7-10 gün sonra misel parçaları koymuştur. Ekimden 7-10 gün sonra solusyona misel parçaları koymanın daha etkin oldu-

ğu saptanmıştır. Misel parçaları ekimden 10 gün sonra ilave edildiğinde spor çimlenmesi 24-48 saat içinde başlamıştır. Misel parçaları çimlenmeyi uyarmakta ve hızlandırmaktadır.

Sporlar 0-35 dakika süre ile ultraviole ışınlanmasına tabi tutulmuştur. Sporlar ışınlanmadan bir ve iki ay sonra malt ekstrakt ve agar ortamına ekilmişlerdir. Işınlanmadan bir ve iki ay sonra ekilen sporlar, ekilinceye kadar + 7 ve + 8 °C de muhafaza edilmiştir. Işınlanmadan hemen sonra ekilen sporlarda sadece birkaç koloni meydana gelmiştir. 5 dakika ışına tabi tutulup bir ay bekletilende koloni teşkili % 3; 10 dakika ışınlanan da % 4 olmuştur. Işınlama müddeti fazla olanlarda koloni meydana getirme nisbeti çok düşük (20-35 dakika ışınlananlardan % 0.25) olmuştur (Stoller ve Stauffer, 1945).

Spor çimlendirmesinde birçok antiseptik maddenin kullanıldığı, ancak etkili olanının kloroform olduğu ileri sürülmektedir. Spor çimlenme müddeti bir ay veya daha uzun süre devam etmekte, ilk çimlenen sporların koloni meydana getirmesiyle sonraki çimlenen sporları örtmektedir. Bu nedenle doğru bir sayımın mümkün olmadığı ancak tahmini olarak çimlenme nisbeti 25 gün sonra % 73; 35 gün sonra «% 95 olmaktadır (Stoller, 1954).

Çimlenen sporların hepsi koloni meydana getirmemektedir. Stoller (1945) malt Agar + K H₂ PO₄ besisi ortamında çimlenip koloni meydana getiren sporları Levy haemocytometer ile saydığını ve koloni meydana getiren sporların maksimum % 4 olduğunu ileri sürmektedir. Misel elde edilmesinde çimlenen spordan daha çok koloni meydana getiren sporların nisbetinin önemli ol-

duğu aynı araştırıcı tarafından bildirilmektedir.

Mantar hatlarının elde edilmesi ve çoğaltılmasında çoklu spor kültürünün uygun olup olmayacağı araştırılmıştır. Çoklu spor kültürlerinden geniş manada misel üretimi yapılmadan önce verim testlerine tabi tutulması ve orijinal hatlarla mukayese edilmesi tavsiye edilmektedir. Aynı mantar gövdesinden elde edilen çok spor ile doku kültürü mukayese edilmiş; çok spor kültürünün daha üstün olduğu görölmüştür (Fritsche, 1967.) Bu sonuç diğer araştırıcıların elde ettikleri neticelere benzer. Mantar hatlarını basit misel transferi metodu ile birçok seneler muhafaza etmek mümkündür. Fakat miselyumun gelişme durumunu

devamlı ve dikkatli bir şekilde kontrol etmek gereklidir. Çok spor kültürü ile hatların muhafaza edilmesi mümkündür. Spawn yapımından önce orijinal hatlarla mukayese yapılmalıdır. Doku kültürleri ile hatların muhafaza edilmesi tavsiye edilmemektedir (Fritsche, 1967).

Agaricus macrosporus sporlarının çimlendirilmesi üzerine araştırma yapan Uzonyi (1967), *Agaricus macrosporus* sporlarının diğer iki sporlu mantarlardan daha düşük sıcaklıklarda çimlendiğini tespit etmiştir. Çok sporlu aşılamalarda çimlenme nisbeti, tek sporlu aşılamalara nazaran daha yüksek ve daha başarılı olmuştur. Sporlar bal ve klo-rofrm ile muamele edildiğinde çimlenme periyodu 3-8 gün kadar kısalımıştır.

III. MATERYAL ve METOD

A. Materyal

Bu çalışmamızda Somycel firmasının selekte etmiş olduğu ve piyasada tutulan Somycel 53 (*Agaricus bisporus*) mantarından alınan sporlar kullanılmıştır. Besi ortamı olarak Biomalt Agar; çimlendirme kabı olarak 80 mm. çapında petri ve 125 ml. lik renksiz ecza şişleri kullanıldı.

B. Metod

1. Spor Printlerinin elde edilmesi:

Sağlam olgunlaşmış fakat lamelleri açılmamış mantarlar seçildi. Elle, dipten koparılarak hasat edildi. şapka üzerinde, gövde ve dip kısmında bulunan toprak ve benzeri maddeler tıraş fırçası ile fırçalanarak temizlendi. Önce-den dezenfekte edilerek hazırlanmış

fanus içerisine dik olark konuldu. Mantarın fanus içinde dik durmasını temin için (15x15x2 cm) tahta parçasının ortasına bir çivi çakıldı. Mantar gövde kısmından çiviye oturtuldu. 48 saat sonra spor printleri elde edildi (Şekil 1 ve 2).

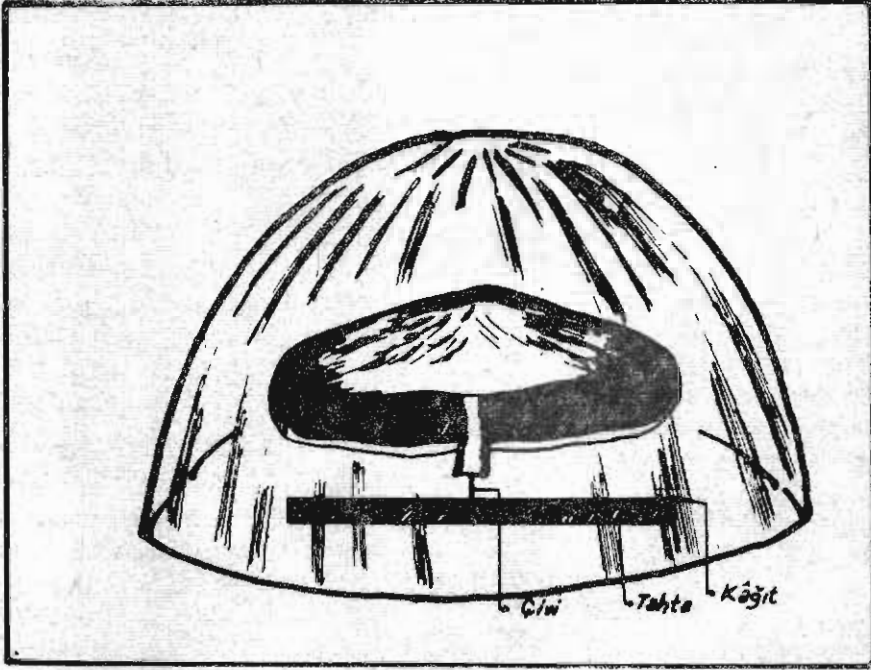
Spor printleri, petri kaplarına konularak +4 C° de spor ekimine kadar muhafaza edildi.

2. Biomalt Agar Besi Ortamının Hazırlanması:

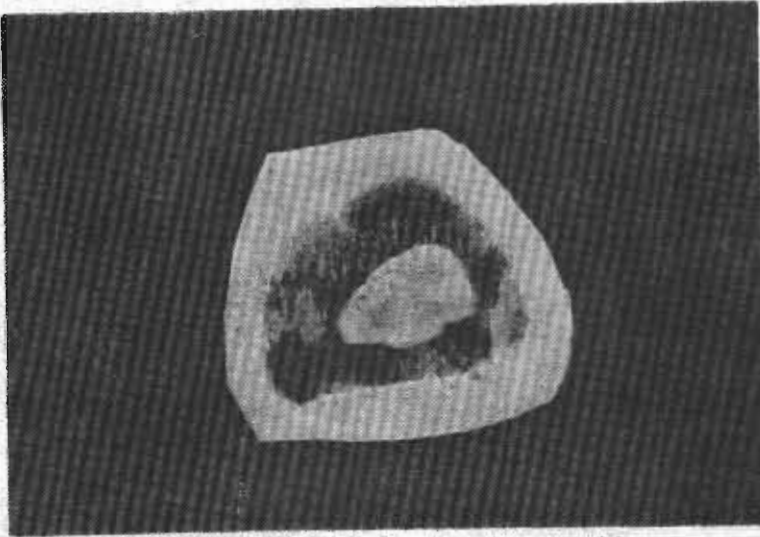
Sporların çimlendirilmesinde biomalt agar besisi ortamı kullanıldı. Fritsche (1967)'ye göre %1.5 biomalt (Maltzin/Diomalt -AG, München), % 2 agar, saf su ile hazırlandı. Hazırlanan biomalt agar sıcak olarak petri ve ecza şişlerine konuldu. Ecza şişlerinin ağız-

ları pamuk tapalarla petri kapları kendi kapakları ile kapatıldı. Hepsi 121 C° de 1/2 saat otoklavda siterilize edildi. Şişeler sıcak iken bir yanları üzerine meyilli olarak yatırılarak ortamın yü-

zeyeye mütecanis bir şekilde yayılıp katılaşması temin edildi. Otoklavdan sonra ortamın pH sının 6.20-6.30 olduğu saptandı.



Şekil: 1. Siteril Şartlarda fanus içerisinde sporların elde edilmesi.



Şekil: 2. Şekil: 2. 53 den elde edilen spor izi

3. Sporların ortama aşılması :

Çoklu spor metoduna göre aşılama yapıldı. Önce 50 cc lik iki adet erlen alındı. Ağızları pamukla tıkandı. Birisi boş bırakılıp diğerine 25 cc lik saf su konuldu. Su konulan erlen 15 dakika kaynatılarak, boş olan erlen ise kurutma dolabında 150°C de iki saat tutularak siterilize edildi. Sporlar

erlende saf su ile seyretildi. Her petriye 13, şişeye 25 şer nokta halinde aşılama yapıldı. Aşılanan petri kapları ve ecza şişeleri 26 c° ye ayarlanmış inkubator içerisine konuldu. 30 gün inkubatorde kaldı.

Deneme tesadüf blokları esasına göre kuruldu (Düzgüneş 1963). Her tekrür de 40 petri veya 20 ecza şişesi vardı. Deneme iki defa tekrarlandı.

IV. ARAŞTIRMA SONUÇLARI

A. Petri ve ecza şişelerinin sporların erken çimlenmesine etkisi :

Yapılan bu araştırma sonunda petri ve ecza şişelerine aşılanan sporların, çimlenmeye başlama tarihleri değişik olmuştur. Spor ekiminden sporların çimlenmeye başlamasına kadar geçen süre petri kaplarında daha kısa olmuştur. Spor ekiminden 9-10 gün sonra petri kaplarında spor çimlenmesi başladığı halde, ecza şişelerinde bu süre 21-22 gün olmuştur. Her iki ortamda da çimlenmenin başladığı ilk 3-7 günde çimlenme nisbeti en yüksek düzeye ulaşmış; sonra bu nisbet azalmıştır. Yine her iki ortamda sporların çimlenmeye başladığı günden 10 gün sonra yeni spor çimlenmelerine rastlanılmamıştır (Tablo 1, Grafik 1).

B. Petri ve ecza şişelerinin enfeksiyon oranına etkisi :

Aşılama 2-3 gün sonra bazı petrilerin hemen enfekte oldukları tespit edilmiştir. Enfeksiyon deneme sonuna kadar zaman zaman görülmüştür. Petri kaplarında yüksek nisbette enfeksiyon tespit edildiği halde, ecza şişelerinde ya hiç enfeksiyon olmamış veya çok az

nisbette olduğu saptanmıştır. Tablo 2 nin incelenmesiyle görülebileceği gibi petri kaplarında spor çimlenmesinden önce ve sonra yüksek nisbette enfeksiyon tespit edilmiştir. Ortalama toplam enfeksiyon % 46.3 olmuştur. Ecza şişelerinde enfeksiyon ya hiç olmamış veya çok az nisbette olmuştur. 1. tekrarda toplam enfeksiyonun % 15 olduğu, 2. ci tekrarda hiç enfeksiyon olmadığı tespit edilmiştir. Buna karşılık hiç enfekte olmadığı halde petrinin % 21.3 de hiç spor çimlenmesi olmazken, bu nisbet ecza şişelerinde ortalama % 62.5 olmuştur.

Şekil 5 de çimlenmeden sonra enfekte olan ve olmayan iki adet petri görülmektedir.

C. Spor çimlenme nisbetine petri ve ecza şişelerinin etkisi :

Spor çimlenme nisbetine petri ve ecza şişelerinin etkisini tespit edebilmek için spor Ekiminden itibaren 30 günlük zaman periyodu esas alınmıştır. Bu süre içinde her gün bütün petri ve ecza şişeleri gözden geçirilerek kontrolleri yapılmış; enfekte olanlar kaydedilmiş ve ortamdan hemen uzaklaştırılmış; çimlenenler kaydedilmiştir. 30 günün so-

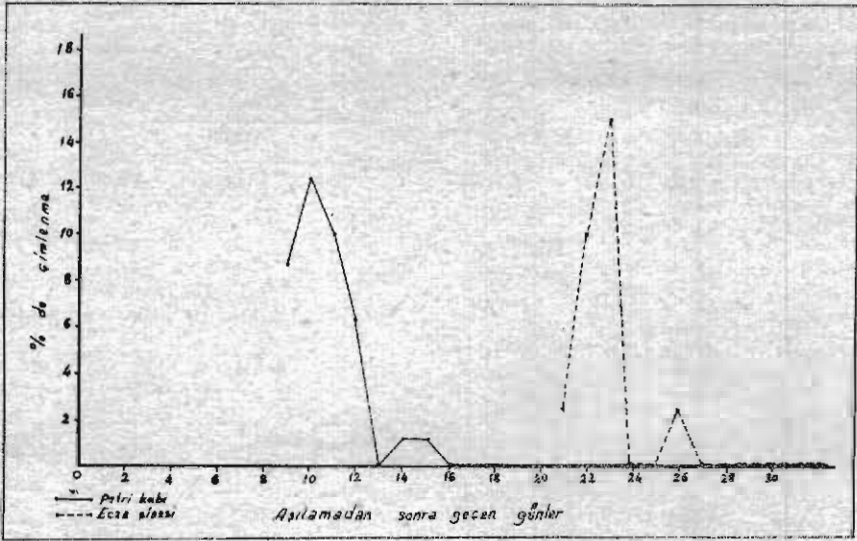
Tablo 1. Petri kaplarında ve ecza şişelerinde sporların çimlenmesi

| Ekimden Sonraki günler | Petri kabında | | Çimlenme nisbetleri | | | | | |
|------------------------------|---------------|-----|---------------------|-------|------------------|-----|----|-----|
| | Adet | | % | | Ecza şişelerinde | | | |
| | I. | II. | I. | II. | Adet | | % | |
| Tekrar: | I. | II. | I. | II. | I. | II. | I. | II. |
| — | | | | | | | | |
| — | | | | | | | | |
| — | | | | | | | | |
| 9 | 6 | 1 | 15 | 2.50 | — | — | — | — |
| 10 | 12 | 5 | 30 | 12.50 | — | — | — | — |
| 11 | 16 | 9 | 40 | 22.50 | — | — | — | — |
| 12 | 18 | 12 | 45 | 30.00 | — | — | — | — |
| 13 | 18 | 12 | 45 | 30.00 | — | — | — | — |
| 14 | 18 | 13 | 45 | 32.50 | — | — | — | — |
| 15 | 18 | 14 | 45 | 35.00 | — | — | — | — |
| 16 | 18 | 14 | 45 | 35.00 | — | — | — | — |
| 17 | 18 | 14 | 45 | 35.00 | — | — | — | — |
| 18 | 18 | 14 | 45 | 35.00 | — | — | — | — |
| 19 | 18 | 14 | 45 | 35.00 | — | — | — | — |
| 20 | 18 | 14 | 45 | 35.00 | — | — | — | — |
| 21 | 18 | 14 | 45 | 35.00 | 1 | — | 5 | — |
| 22 | 18 | 14 | 45 | 35.00 | 2 | 3 | 10 | 15 |
| 23 | 18 | 14 | 45 | 35.00 | 5 | 6 | 25 | 30 |
| 24 | 18 | 14 | 45 | 35.00 | 5 | 6 | 25 | 30 |
| 25 | 18 | 14 | 45 | 35.00 | 5 | 6 | 25 | 30 |
| 26 | 18 | 14 | 45 | 35.00 | 5 | 7 | 25 | 35 |
| 27 | 18 | 14 | 45 | 35.00 | 5 | 7 | 25 | 35 |
| 28 | 18 | 14 | 45 | 35.00 | 5 | 7 | 25 | 35 |
| 29 | 18 | 14 | 45 | 35.00 | 5 | 7 | 25 | 35 |
| 30 | 18 | 14 | 45 | 35.00 | 5 | 7 | 25 | 35 |
| Toplam | 18 | 14 | 45 | 35.00 | 5 | 7 | 25 | 35 |

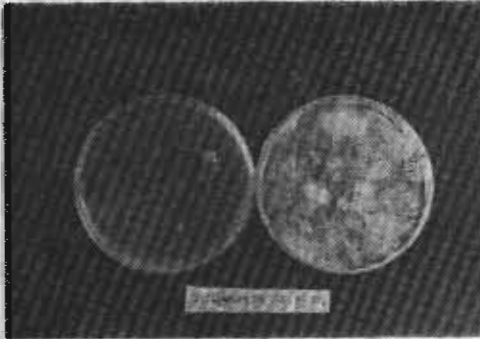
nuçları değerlendirilmiştir. Petri kaplarının bazılarından spor ekilmesinden 9-10 gün sonra çimlenme başlamış; 2 gün sonra maksimum seviyeye ulaşmıştır. Petrilerin bazıları çimlenme gösterdikten sonra enfekte olmuşlardır. Misal çoğaltılmasında ilk çimlenen sporlar hemen kullanıldığı için çimlenmeden birkaç gün sonra meydana gelen enfeksiyonlar analizde dikkate alınmıştır.

Ecza şişelerinde spor çimlenmesi daha geç başlamıştır. Spor çimlenmesi tespit edilen ecza şişelerinde enfeksiyona tesadüf edilmemiştir.

Petri ve ecza şişelerinin spor çimlenme nisbetine etkisi olup olmadığını tespit edebilmek için her iki ortamda meydana gelen ilk 5 er günlük çimlenme nisbetleri analiz edilmiştir. Buna ait



Grafik 1. Petri ve ecza şişelerinde spor çimlenme durumları.

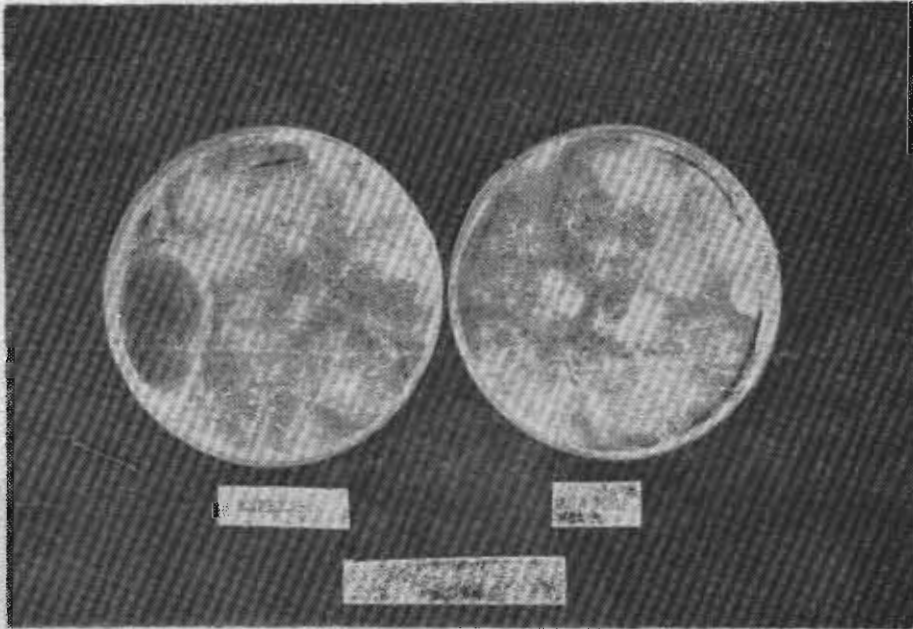


Şekil: 3 ve 4. Petri kabında ve ecza şişesinde spor çimlenmesi ve misel gelişmesi. Spor aşılmasından 30 gün geçtiği halde soldaki petride (şekil3), ve soldaki ecza şişesinde (şekil 4.) hiç spor çimlenmemiştir.

Tablo 2. Petri ve ecza şişelerinde enfeksiyon nisbeti

| Çimlendirme ortamı | Çimlenmeden önce görülen enfeksiyon (%) | Çimlenmeden sonra görülen enfeksiyon (%) | Toplam enfeksiyon (%) | Enfekte olmadığı halde çimlenmeyenler (%) | İyi netice alınan (%) |
|--------------------|-----------------------------------------|------------------------------------------|-----------------------|-------------------------------------------|-----------------------|
| Petri: I.Tekrar | 20.0 | 22.5 | 42.5 | 22.5 | 35(1) |
| II.tekrar | 32.5 | 17.5 | 50.0 | 20.0 | 30(2) |
| Ortalama | 26.3 | 20.0 | 46.3 | 21.3 | 32.5 |
| I.Tekrar | 10 | 5 | 15 | 60 | 25.0 |
| 2.Ecza şişesi | | | | | |
| II.Tekrar | 0 | 0 | 0 | 65.0 | 35.0 |
| Ortalama | 5 | 2.5 | 7.5 | 62.5 | 30.0 |

- (1) (1) Çimlenme nisbeti % 45 olduğu halde, bu nisbetin % 10 nunda çimlenmeden sonra enfeksiyon tespit edilmiştir.
- (2) Çimlenme nisbeti % 35 olduğu halde, bu nisbetin % 5 inde çimlenmeden sonra enfeksiyon tespit edilmiştir.



Şekil: 5. Aşılardan 20 gün sonra enfekteli olan ve olmayan iki petri.

değerler tablo 3, de varyans analizi tablo 4 de verilmiştir.

Tablo 3. Petri ve ecza şişelerinde sporların çimlenmeye başladığı ilk 5 gündeki çimlenme nisbetleri.

| Çimlen- meden sonraki günler | Çimlenme nisbetleri (%) | | | | | | | | |
|---------------------------------------|-------------------------|------|--------|----------|----------------|------|------|-------|--------|
| | Petri kabında | | | | Ecza şişesinde | | | | |
| | I | II | toplam | ortalama | I | II | top. | orta. | G.Ort. |
| ilkgün | 15.0 | 2.5 | 17.5 | 8.8 | 5.0 | 0.0 | 5.0 | 2.5 | 5.6 c |
| 2.gün | 30.0 | 12.5 | 42.5 | 21.3 | 10.0 | 15.0 | 25.0 | 12.5 | 16.9 b |
| 3.gün | 40.0 | 22.5 | 62.5 | 31.3 | 25.0 | 30.0 | 55.0 | 27.5 | 29.4 a |
| 4.gün | 45.0 | 30.0 | 75.0 | 37.5 | 25.0 | 30.0 | 55.0 | 27.5 | 32.5 a |
| 5.gün | 45.0 | 30.0 | 75.0 | 37.5 | 25.0 | 35.0 | 60.0 | 30.0 | 33.7 a |

(1) Aynı harflerle işaretlenen çimlenme nisbetler arasındaki fark % 5 ihtimal soruna göre önemli değildir.

Tablo 4. Petri ve ecza şişelerinde sporların çimlenmeye başladığı ilk 5 gündeki çimlenme nisbetlerini gösterir Varyans analiz tablosu

| Varyasyon kaynağı | SD. | K.T. | K.O. | F. |
|-------------------|-----|---------|---------|----------|
| Ortam | 1 | 163.53 | 163.53 | 15.92 x |
| Gün | 4 | 1678.92 | 417.73 | 40.67 xx |
| Blok | 1 | 129.18 | 129.18 | 12.58 x |
| Ortam x gün | 4 | 28.685 | 7.17 | 0.70 |
| Ortam x Blok | 1 | 174.470 | 174.470 | 16.99 x |
| Gün x Blok | 4 | 89.215 | 22.30 | 2.17 |
| Hata | 4 | 41.06 | 10.27 | |

(x) İşlemler arasındaki farklar % 5 ihtimal sınırına göre;

(xx) % 1 ihtimal sınırına göre önemlidir.

Petri ve ecza şişelerinde sporların çimlenme nisbetleri arasındaki fark % 5 ihtimal sınırına göre önemlidir. Çimlenmenin başladığı ilk günden sonraki 5 gün de çimlenme nisbetleri arasındaki fark % 1 ihtimal sınırına göre önemlidir

(Tablo 4). Ortam x Blok etkileşiminin önemli çıkmasının nedeni petri kaplarının enfeksiyona çok elverişli olması ve çalışma yerinin yeteri kadar sterilize edilmemiş olmasından ileri geldiği sanılmaktadır.

Günler arasındaki farklılık Duncan çoklu karşılaştırma testine göre % 5 ihtimal seviyesinde guruplandırılmıştır. Yapılan guruplandırmada çimlenmenin ilk iki günündeki çimlenme nisbeti son 3 günden farklı neticeler vermiştir.

V. ARAŞTIRMA SONUÇLARININ TARTIŞILMASI VE KARAR

A. Petri ve ecza şişelerinin sporların erken çimlenmesine etkisi:

Petri kaplarında sporlar 10 gün kadar daha erken çimlenmiştir. Bu süre sürekli çalışmalar için önemlidir. Erken çimlenmenin nedeninin çevre şartlarından ileri geldiği sanılmaktadır. Zira petrilerde kapak kısmı ile alt kısmı birbirine tam oturmamakta, yanlarda ve kapak ile alt kısmın temas ettiği üst yüzeyde açıklıklar kalmaktadır. Burarlardan hava alışverişi olmaktadır. Ecza şişeleri pamuk tıparlarla kapatılmıştır. Pamuk tıparlar iyice sıkıştırılarak yapılmıştır. Pamukları iyi sarmak için kısmen rutubetlendirildiğinden, hava alışverişi iyice azalmıştır. Bu nedenle taze hava spor çimlenmesini teşvik, karbondioksit gazı ise yavaşlatmış olabilir.

Spor çimlendirilmesinde ecza şişeleri kullanılmak istenirse pamuk tıparlar daha gevşek yapılmalı ve pamuğu rutubetlendirmekten sakınımalıdır. Pamuk tıpa yerine enfeksiyonu önleyebilecek kadar küçük delikli, mikrometrik gözenekli kapaklar kullanılabilir.

B. Petri ve ecza şişelerinin enfeksiyon oranına etkisi:

Petri kaplarında enfeksiyon nisbeti daha yüksek bulunmuştur. Mantardan

tir. Son üç gündeki çimlenme nisbetleri arasındaki farklılık önemli değildir (Tablo 3). Bu hale göre en ekonomik çimlenme günü çimlenmenin başlamasından sonraki 3 cü gündür. Daha fazla beklemeye gerek yoktur.

spor alınmasından; spawn yapılması sonuna kadar bütün safhaları zincirleme olarak siteril odalarda yapabilmek olanağına sahip olan yerlerde, mantar sporlarının çimlendirilmesinde petri kaplarının kullanılması tavsiye edilebilir. Fakat tamamen siteril şartlarda çalışma olanağına sahip bulunmayan yerlerde ecza şişeleri petri kaplarına tercih edilmelidir. Zira petri kaplarında ortalama enfeksiyon oranı % 53.75 olduğu halde; bu nisbet ecza şişelerinde % 7.5 olarak tespit edilmiştir (Tablo 2). Petri kaplarında enfeksiyon nisbetinin yüksek olmasının sebebi petri kaplarının iyice oturmaması ve buradan hava ile birlikte enfeksiyon amillerinin de girmesidir. Ecza şişelerinde kullanılan pamuk tıparlar havayı iyice süzdüğü için ve daha az hava geçirdiği için enfeksiyon oranı az olmuştur.

C. Petri ve ecza şişelerinin spor çimlenme nisbetine etkisi:

Petri ve ecza şişelerinde spor çimlenme nisbetleri farklı olmuştur ve bu farklılık önemli bulunmuştur (Tablo 4). Petri kaplarında çevre şartları daha iyi olduğundan (hava alışverişi kolay olduğundan) çimlenme oranının daha yüksek olmasını sağladığı sanılmaktadır. Çalışma odalarında siterilinenin sağlanabildiği nisbette petrilerde yüksek oran-

da olan enfeksiyon azaltılabilir ve böylece petriyelerdeki çimlenme nisbeti daha da yükseltilebilir. Ecza şişelerinin kapa-

tilmasında kullanılan pamuk tıplalar daha gevşek kalırsa, ecza şişelerinde de spor çimlenme nisbeti yükseltilebilir.

Investigation on the Spore Germination of Cultivated Mushroom (*Agaricus bis porus*) in the Petri Dishes and Bottles.

The research was carried out at Yalova in the Mushroom laboratory of Horticultural Research and Training Centre in 1975.

The aim from the investigation is to determine whether petri dishes or bottles are suitable for the germination of the cultivated mushroom spores on malt agar medium. The following results were obtained:

1. The percentage of spore germination were found to be higher in the petri dishes than bottles.

2. In the petri dishes, the spores started to germinate 9-10 days after but in the bottles 21-22 days from the inoculation. The maximum percentage of the spore germination was recorded in

the petri dishes after 12-15 days from the inoculation while after 23-26 days in the bottles.

3. The germination of the spores started earlier and the percentage of the germination is higher in the petri dishes than bottles. The reason of that should be environmental factors.

4. The ratio of the infection in the petri dishes is higher than the bottles.

5. If the sterile conditions could be obtained the petri dishes were much more suitable than bottles for the germination of spores. But under uncontrolled conditions the bottles must be used.

Literatür Listesi

1. CAYLEY, D.M. 1936 Spores and spore germination in wild and cultivated mushrooms (*Psalliota* spp). Trans-British Mycol. Soc. 20: 225-241.
2. DÜZGÜNEŞ, O. 1963. Bilimsel Araştırmalarda İstatistik Prensipleri ve Metodları. A.Ü. Ziraat Fakültesi Ege Üni. Matbaası İzmir.
3. FERGUSON, M.C. 1902. Germination of the spores of *Agaricus campestris* and other Basidiomycetous Fungi. U.S. Department of Agriculture Bureau of plant industry Bulletin No. 16.
4. FLACK, R. 1924. Über die Sporenkeimung des Champignons. Mykol. Untersuchungen und Berichte, Beiheft, I.
5. FRITSCH, G. 1967. Versuche zur Frage der Erhaltungszucht beim Kulturchampignon, 111. Verrundung vielversprechend. züchter, 1967, 29- 109-19 (bil. 20 illus).
6. STOLLER, B.B. 1945. Experiment in mushroom culture. Uni. of Wisconsin Madison.
7. ———— 1954. Principles and practice of Mushroom Culture. Econ. Bot. 8: 48 - 95.

8. STOLLER, B.B. ve J. F. STAUF-
FER. 1954. Studies on naturally oc-
curring and ultraviolet radiationin du-
ced starins of cultivated mushroom
Ag. Cap. C. Mushroom Sci. 11:
51-64.
9. UZONYI, A.L. 1967. İvestigati-
on in to Some Conditions for Spo-
re germination and data on the es-
tablishment of growing conditions
for *Agaricus macrosprours*. Mush-
room Sci. VI: 65-75.