

Pleurotus ostreatus'un Misel Gelişmesine Sitokinlerin Etkisi

Zeynep AY¹, Gıyasettin KAŞIK^{2*}, Sinan ALKAN²

¹Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji ABD, KONYA

²Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, KONYA

*giyasettinkasik@hotmail.com

Öz: Bu çalışmada *Pleurotus ostreatus*'un misel gelişimi üzerine sitokin olarak 6N-benzil adenin (BA) ve kinetin (Kin)'in etkisi araştırılmıştır. Besi yeri olarak malt ekstrakt agar (MEA) ve agar agar (AA) kullanılmıştır. Malt ekstrakt agar ve agar agara sitokinlerin %0.1, 0.3 ve 0.5 konsantrasyonları ilave edilerek otoklavda steril hale getirilmiştir. Ortamlar biyogüvenlik kabini içerisinde steril edilmiş petrilere dökülerek katılaşmaları sağlanmıştır. Besi yerlerine misel ihtiva eden 1 cm çapında kültür ilavesi yapılmış ve etüve alınmıştır. Belli zaman aralıklarıyla miselyum gelişmeleri alansal olarak çizilmiştir. Çalışma, miselyumun petrinin toplam alanını dolduruncaya kadar devam ettirilmiştir. Çalışma sonucunda her iki besiyerindeki kontrol gruplarına göre, MEA+%0.5 Kin ile AA+%0.5 BA içeren petrilere diğer kombinasyonlara göre daha erken bir gelişme tespit edilmiştir. MEA besiyerinde gelişme sık-yoğun iken AA besiyerinde zayıf-seyrek bir gelişme gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Pleurotus ostreatus*, Kinetin, Benzil adenin, Misel gelişmesi

The Effect of Cytokines on Mycelium Growth of *Pleurotus ostreatus*

Abstract: In this study, the effect of 6-benzyl adenine (BA) and kinetin (Kin), known as cytokinin, on the development of micelle of *Pleurotus ostreatus* was investigated. Malt extract agar (MEA) and agar agar (AA) were used as a feedstock. By adding 0.1%, 0.3% ve 0.5% doses of cytokinins to MEA and AA were sterilized in the autoclave. The nutrients were poured into the pre-sterilized petri dishes in the biosafety cabinet and solidified. 1 cm diameter mushroom culture was added to the feedstock and petri dishes were taken to the incubator. The development of mycelium at certain time intervals has been drawn. Work continued until the mycelium had filled the total surface area of the feedstock. According to the experimental results, it was found that the earlier development has been detected from the petri dishes containing with MEA added with 0.5% Kin and AA added with 0.5% BA, compared to the control groups on both feedstock. While growth in MEA medium was frequent-dense, weak-sparse development was observed in AA medium.

Keywords: *Pleurotus ostreatus*, Kinetin, Benzyl adenin, Mycelium development

1. Giriş

Son yıllarda kültür mantarı olarak üretim ve tüketimi hızlı bir şekilde artan *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. 1871 türü ile ekonomik açıdan kültür mantarcılığının önemli bir unsuru haline gelmiştir. *Agaricus bisporus* (JE Lange)

Imbach'tan sonra ülkemizde yer edinmeye çalışan bu mantar türü üretim miktarı bakımından ikinci sıradadır (Eren ve Pekşen, 2016). *Pleurotus ostreatus* ticari olarak "istiridye mantarı" olarak bilinmekle birlikte halk arasında "kayın mantarı, kavak mantarı, ceviz mantarı, köknar mantarı" gibi isimlerle

de bilinmektedir. *Pleurotus ostreatus* türü doğal olarak yapraklı ağaçların odunları ve diğer bitkisel artıklar üzerinde gelişebilmekte olup, bu da kültüründe birçok hammaddenin kullanılabilmesine imkân sağlamaktadır (Evciman ve ark., 2018).

İstiridye mantarı gibi diğer pek çok kültür mantarlarının da çeşitli kompostlarda yetiştirilebilmesi için öncelikle mantarların tohumluk misellerinin elde edilmesi gerekmektedir. Tohumluk misellerin elde edilmesi için farklı besi yerlerinde steril ortamlarda doku kültürü yapılmalıdır (Önay ve ark., 2018).

Kültür mantarcılığında misel gelişmesi önemli bir aşama olup, bu sanayi kolunun gelişmesi ve ilerlemesi için yapılan çalışmaların önemli bir katkı sağlayacağı açıktır.

Sitokininler hücre bölünmesini başlatan hormonlardır. Aktif hücre bölünmesine sahip tüm dokular yüksek miktarda sitokinin içermektedir (Çetin, 2002). Sitokininler adından da anlaşılacağı (cytokinensis = hücre bölünmesi) gibi hücre bölünmesinde etkili olarak doku ve organ farklılaşmasında görev yaparlar (Algül ve ark., 2016). İlk bitkisel kökenli sitokinin mısır tohumlarından izole edilen zeatindir. Zeatin, dihidrozeatin, izopentenil adenin (2İP) ve dimetilaliladenin doğal olarak sentezlenen sitokininler olup, bunların yanında kinetin (N6 furfurilamino purin), benziladenin (BA) ve tetrahidropiranilbenzil

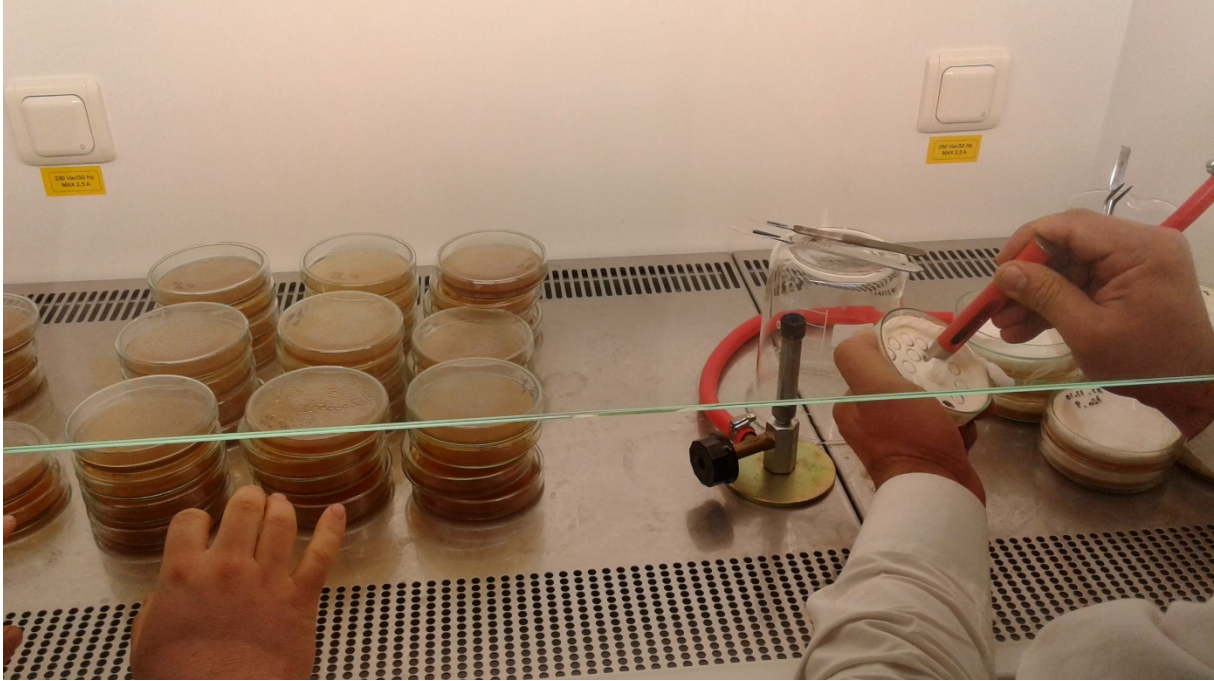
adenin (PBA) sentetik sitokininlerdir (Ünsal, 1993).

Sitokininler bitkisel büyüme hormonları olup, hücre bölünmesini teşvik etmesi mantarlarda da etkisinin olabileceği olasılığı çalışmanın yapılmasında önemli rol oynamıştır. Bu çalışmada *Pleurotus ostreatus*'un misel gelişimi üzerine sitokininlerden 6N-benzil adenin (BA) ve kinetin (Kin)'in etkisi araştırılmıştır.

2. Materyal ve Yöntem

Çalışma materyalini Selçuk Üniversitesi Mantarcılık Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğü Misel Üretim Laboratuvarında doku kültüründen elde edilen miselyum oluşturmaktadır. Besiyeri olarak MEA ve AA besi yerleri kullanılmıştır. Çalışmada sitokinin olarak kinetin ve 6N-benziladeninin %0.1, 0.3 ve 0.5 konsantrasyonları kullanılmıştır. Otoklavda 1 atm basınçta 121 °C' de 15 dk steril edilmiş besi yerleri ve pastör fırınında steril edilmiş petrilere biyogüvenlik kabineye yerleştirilmiş ve 15 dk UV ışığına maruz bırakılmıştır. Ardından besi yerleri bunzen beki alevi yanında petrilere eşit olarak dökülmüştür. Besiyerlerinin biyogüvenlik kabineye katılmasının ardından misel aktarılma işlemi yapılmıştır. Daha önceden elde edilen *Pleurotus ostreatus* miselyumundan 1 cm çapındaki mantar delici kullanılmak suretiyle tüm petrilere

aktarılan miktarın eşit olması sağlanmıştır (Şekil 1).



Şekil 1. Biyogüvenlik kabininde misel aktarımı

Aktarımı yapılan besi yerleri misel gelişimi için ortalama 20-22 °C'de inkubasyona bırakılmıştır. Petrilere aktarılan miselyum içeren besiyeri parçasının ve 48 saat arayla meydana gelen misel gelişmesinin özel olarak diyazn edilmiş düzenekte alansal çizimi yapılmıştır. Miselyum gelişmesi petri alanını dolduruncaya kadar alan çizimlerine devam edilmiştir. Alan çizimlerinin ardından alan hesaplaması yapılarak gelişme süreleri ve alansal değerler çıkarılmıştır. Denemeler her kombinasyon için en az 9, en fazla 12 petri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. MEA besiyerinde toplamda 82 petri, AA besiyerinde ise 81 petri kullanılarak denemeler yapılmıştır.

3. Bulgular

Petrilerde tespit edilen tamamlama süreleri Çizelge 1'de verilmiştir.

Petrilerdeki miselyum gelişmelerinin tamamlandığı süreler incelendiğinde BA ilave edilen MEA besiyerinde en erken 10. günde en geç ise 12. günde gelişmenin tamamlandığı görülmüştür. Genel olarak miselyum gelişmesinin 12. günde tamamlandığı belirlenmiştir.

Kinetin ilave edilen MEA besiyerinde ise yine en erken gelişmenin 10. günde en geç ise %0.3 Kin ilave edilen petride 14. ve 16. günlerde tamamlandığı görülmüştür.

BA ilave edilen AA besiyerinde en erken 8. günde en geç ise 10. günde tamamlanmanın gerçekleştiği görülmektedir.

Çizelge 1. Miselyumun petri alanlarını tamamen kapladığı süreler

		8.gün	10.gün	12. gün	14.gün	16.gün
BA	MEA Kontrol		4	7		
	MEA %0.1		1	11		
	MEA %0.3		2	10		
	MEA %0.5		1	11		
Kin	MEA %0.1		3	7	1	
	MEA %0.3		1	8	2	1
	MEA %0.5		6	6		
	AA Kontrol	2	10			
BA	AA %0.1	3	6			
	AA %0.3	6	6			
	AA %0.5	7	5			
Kin	AA %0.1	2	10			
	AA %0.3	5	7			
	AA %0.5	1	10	1		

MEA-Malt Ekstrakt Agar, AA-Agar agar

Petrilerdeki miselyum gelişmelerinin tamamlandığı süreler incelendiğinde BA ilave edilen MEA besiyerinde en erken 10. günde en geç ise 12. günde gelişmenin tamamlandığı görülmüştür. Genel olarak miselyum gelişmesinin 12. günde tamamlandığı belirlenmiştir.

Kinetin ilave edilen MEA besiyerinde ise yine en erken gelişmenin 10. günde en geç ise %0.3 Kin ilave edilen petride 14. ve 16. günlerde tamamlandığı görülmüştür.

BA ilave edilen AA besiyerinde en erken 8. günde en geç ise 10. günde tamamlanmanın gerçekleştiği görülmektedir.

Petrilerin çoğunluğunda 10. günde gelişmenin tamamlandığı görülmüştür.

Kinetin ilave edilen AA besiyerinde ise yine en erken gelişmenin 8. günde tamamlandığı, en geç ise %0.5 kinetin ilave edilen petride 12. günde görülmüştür.

Bu çalışmada petrilerde meydana gelen günlere bağlı alansal gelişmelerin ortalamaları Çizelge 2'de verilmiştir. Ortalamalar alınırken ilk tamamlanan petri süresi dikkate alınmış, sonraki gelişmeler dikkate alınmamıştır.

Çizelge 2. Petirlerde zamana bağlı olarak meydana gelen gelişme miktarları (cm²)

		0.gün	2.gün	4.gün	6.gün	8.gün	10.gün
BA	MEA Kontrol	0.785	0.463	1.955	12.065	17.432	24.906
	MEA %0.1	0.785	0.280	1.784	9.286	15.451	21.521
	MEA %0.3	0.785	0.502	1.969	11.045	18.561	22.417
Kin	MEA %0.5	0.785	0.288	2.482	10.056	18.546	20.672
	MEA %0.1	0.785	0.690	2.959	11.133	17.578	22.719
	MEA %0.3	0.785	0.412	1.969	9.398	14.442	21.656
BA	MEA %0.5	0.785	0.564	2.117	12.543	18.718	24.346
	AA Kontrol	0.785	0.619	7.241	19.100	26.833	
	AA %0.1	0.785	0.526	8.474	20.215	27.096	
BA	AA %0.3	0.785	0.602	8.608	20.349	25.913	
	AA %0.5	0.785	0.640	9.583	20.854	29.432	
	AA %0.1	0.785	0.687	8.986	21.600	24.523	
Kin	AA %0.3	0.785	0.652	8.687	20.443	29.018	
	AA %0.5	0.785	0.371	6.027	16.870	24.820	

En yüksek ve en düşük gelişme gösteren miktarlar kırmızı renkte gösterilmiştir.

Petrilerde günlere bağlı olarak meydana gelen gelişme miktarları incelendiğinde bütün denemelerde 2, 4, 6, 8 ve 10. günlere doğru artış olduğu gözlemlenmiştir.

Petrilerde tespit edilen tamamlama sürelerinin yüzde olarak değerleri Çizelge 3'de verilmiştir.

Çizelge 3. Miselyumun petri alanlarını tamamen kapladığı sürelerin yüzde oranları

		8.gün	10.gün	12. gün	14.gün	16.gün
BA	MEA Kontrol		36.36	63.64		
	MEA %0.1		8.33	91.67		
	MEA %0.3		12.66	87.34		
	MEA %0.5		8.33	91.67		
Kin	MEA %0.1		27.27	63.63	9.10	
	MEA %0.3		8.33	66.67	16.67	8.33
	MEA %0.5		50.00	50.00		
BA	AA Kontrol	16.67	83.33			
	AA %0.1	33.33	66.67			
	AA %0.3	50.00	50.00			
	AA %0.5	58.33	41.67			
Kin	AA %0.1	16.67	83.33			
	AA %0.3	41.67	58.33			
	AA %0.5	8.33	83.34	8.33		

Petrilerdeki gelişmenin tamamlandığı süreler dikkate alınarak toplam denemelere

göre yüzde oranları incelendiğinde; MEA besiyerine benziladenin ve kinetin ilavesi

yapılan ve kontrol denemelerinde en fazla gelişmenin tamamlandığı sürenin 12. gün olduğu, AA besiyerine ilave edilen benziladenin ve kinetin ilavesi yapılan denemelerde en fazla gelişmenin tamamlandığı sürelerin kontrol grubunda ve % 0.1 ve % 0.5 kinetin ilave edilen petrielerde 10. gün olduğu gözlemlenmiştir.

4. TARTIŞMA

Ülkemizde kültür mantarcılığı önce beyaz kültür mantarı açısından gelişme gösterirken, son yıllarda da *Pleurotus ostreatus* yetiştiriciliği yaygınlaşmaya başlamıştır. Son yıllarda *Pleurotus* cinsi ile yapılan çalışmalar misel gelişmesi, tohumluk misel elde edilmesi ve mantarın üretilmesinde verimlilik üzerine yapılmıştır.

Yapılan bu çalışmada misel gelişmesi ile ilgili verilerin değerlendirilmesine bakıldığında besi ortamına ilave edilen başlangıçtaki 1 cm²'lik miselyum içeren besi ortamının arkasından yapılan takip ve elde edilen alansal gelişme verileri miselyumun sürekli artan bir gelişme gösterdiği tespit edilmiştir.

En erken tamamlanan misel gelişmesi agar agar besiyerine ilave edilen denemelerde 8. gün olarak tespit edilmiştir. Ancak tüm deneme konsantrasyonlarında aynı gelişme gerçekleşmemiştir. Denemeler sonucunda %58.33'nün 8. günde petrilerin tamamını saran agar agara ilave edilen

%0.5'lik benziladenin de gerçekleştiği görülmüştür. Malt ekstrakt agar ve agar agar besiyerleri petrilerin yüzeyini kaplama açısından diğer besiyerlere göre daha erkencilik sağlamıştır. MEA besiyerine ilave edilen benziladenin içeren petrilerin tüm denemeleri değerlendirildiğinde 4 denemede 10. gün, 32 denemede ise 12. gün sarmayı tamamlamıştır. MEA besiyerine ilave edilen kinetin içeren petrilerin tümü değerlendirildiğinde 10 denemede 10. gün, 21 denemede ise 12. gün, 3 denemede 14. gün, 1 denemede 16. gün sarmayı tamamlamıştır. MEA kontrol grubunda ise 4 denemede 10 gün, 7 denemede ise 12. gün sarmayı tamamlamıştır. AA besiyerine ilave edilen benziladenin içeren petrilerin tüm denemeleri değerlendirildiğinde 16 denemede 8. gün, 17 denemede ise 10. gün sarımı tamamlamıştır. AA besiyerine ilave edilen kinetin içeren petrilerin tümü değerlendirildiğinde 8 denemede 8. gün, 27 denemede ise 10. gün, 1 denemede 12. gün sarımı tamamlamıştır. AA kontrol grubunda ise 2 denemede 8. gün, 10 denemede ise 10. gün sarmayı tamamlamıştır. Çalışma sonuçlarında en iyi zaman açısından en iyi sonuçlar AA besiyerine ilave edilen benziladenin ve kinetin içeren denemelerde elde edilmiştir.

Çalışmada MEA besiyerinde miselyumun sık ve yoğun, AA besiyerinde

içe seyrek ve yüzeysel olduğu tespit edilmiştir.

Yıldız (1998) yapmış olduğu çalışmada, misellerin vejetatif çoğaltımı için hazırlanan ve 1 lt saf suda, 10 g malt-ekstrakt ve 15 g agar içeren besin ortamına, arpa kırması ve buğday unundan 10, 15 ve 20 gr'lık dozlar katkı maddesi olarak ilave ederek hazırladığı besi yerlerine *Pleurotus florida* aşılama ve gelişimlerini gözlemlemiştir. Yine Yıldız (2000) yapmış olduğu çalışmada *Pleurotus florida*'nın mısır nişastası ve malt ekstrakt besi yerlerinde gelişim hızlarını karşılaştırmış ve anlamlı bir farklılık bulamamışlardır. Kalmış ve Kalyoncu (2007) *Pleurotus ostreatus*'un misel gelişim hızına meşe odunu parça büyüklüğünün etkisi üzerinde bir çalışma yapmışlardır. Çalışma sonucunda tüm ölçüm değerleri incelendiğinde meşe talaşı kullanımının farklı boyutlardaki meşe odunu parçası kullanımına göre yaklaşık olarak % 50 oranında daha hızlı misel ilerlemesine yol açtığını tespit etmişlerdir. Kalyoncu ve ark. (2008)'nin yapmış oldukları çalışmada 8 farklı makrofungus türüne ait misellerin farklı içerikteki besi yerlerinde sergiledikleri büyüme değerlerini araştırmışlardır. Besi yeri olarak; Patates Dekstroz Agar (PDA),

Hagem ortamı (HO), Minimal ortam (MO) ve Malt Ekstrakt Agar (MEA) kullanılmıştır. Çalışma sonucunda her bir makromantar türü için gelişme değerleri tespit edilmiştir.

Önay ve ark. (2018) yapmış oldukları çalışmada *Pleurotus ostreatus* mantarının misel gelişmesine MEA ve patates dekstroz agar (PDA) besiyerlerine humik maddelerin ilavesinin misel gelişmesine etkilerini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda en hızlı gelişimin PDA'da %1 hüyük madde, MEA'da ise %0.5 ve %1 hüyük madde eklenen besi yerlerinde 8. gün olarak tespit edilmiş olduğunu bildirmişlerdir.

Sonuç olarak, çalışmamızda yoğun miselyum gelişimi için MEA+Kin %0.5 besiyeri, yüzeysel gelişim için ise AA+BA %0.5 besiyeri tercih edilebileceği, ayrıca benzer çalışmaların sonuçlarına bakıldığında besiyerlerine ilave edilen mantarın kullanabileceği maddelerin bulunması durumunda misel gelişmesini olumlu yönde teşvik edeceği anlaşılmıştır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmayı 18201156 nolu proje ile destekleyen Selçuk Üniversitesi BAP Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Algül BE, Tekintaş FE, Dalkılıç GG (2016). Bitki büyüme düzenleyicilerinin kullanımı ve içsel hormonların biyosentezini artırıcı uygulamalar. *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 13(2): 87–95.
- Çetin V (2002). Meyve ve sebzelerde kullanılan bitki gelişmeyi düzenleyiciler. *Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi* (2): 40–50.
- Eren E, Pekşen A (2016). Türkiye’de kültür mantarı sektörünün durumu ve geleceğine bakış. *Tür Tarım Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi* 4(3): 189–196.
- Evciman A, Alkan S, Kaşık G (2018). *Pleurotus ostreatus* kültüründe *Populus* türlerinin kabuklarının kompost ana ham maddesi olarak kullanma imkanlarının araştırılması. II. *International Eurasian Agriculture and Natural Sciences Congress*, 75–79, 11-15/09/2018-Azerbaycan-Bakü.
- Kalmış E, Kalyoncu F (2007). *Lentinula edodes*’in misel gelişim hızı üzerine meşe odunu parça büyüklüğünün etkisi. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi* 7(2): 45–52.
- Kalyoncu F, Kalmış E, Solak MH (2008). Bazı makrofungus türlerine ait misellerin farklı kültür ortamlarındaki gelişim hızlarının belirlenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 12(2): 109–114.
- Önay AO, Kaşık G, Alkan S, Öztürk C (2018). *Pleurotus ostreatus*’un misel gelişmesine humik maddelerin etkisinin araştırılması. II. *International Eurasian Agriculture and Natural Sciences Congress*, 22–29, 11-15/09/2018-Azerbaycan-Bakü.
- Ünsal PN (1993). *Bitki büyüme maddeleri*. İstanbul Üniversitesi, Enstitü yayın no:4 İstanbul.
- Yıldız A (1998). Farklı katkı maddelerinin değişik oranlarının *Pleurotus florida* Fovose’nin misel gelişimi, basidiokarplarının oluşum ve gelişim süreleri ile verim miktarı üzerine etkileri. *Tr J of Biology* 22: 127–142.
- Yıldız A (2000). Malt Ekstrakt ve mısır nişastasının *Pleurotus florida* Fovose misellerinin vegetatif gelişmesi ve morfolojisi üzerine etkileri. *Tr J of Biology* 24:113–118.