

YENİLEBİLİR EKTOMİKORİZAL MANTARLARIN YETİŞTİRİCİLİĞİ VE BU KONUDA YAPILAN ÇALIŞMALAR

Aysun PEKŞEN

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, Samsun

Beyhan KİBAR

Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Samsun

Sorumlu yazar: aysunp@omu.edu.tr

Geliş Tarihi: 06.03.2007

Kabul Tarihi: 15.06.2007

ÖZET: Yenilebilir ektomikorizal mantarlar, mantar türleri içerisinde ekonomik olarak en önemli mantar gruplarından birini oluştururlar ve aynı zamanda büyük pazar payına sahiptirler. Dünyadaki yenilebilir mantar türlerinin yaklaşık yarısı ektomikorizal gruba aittir. Bununla birlikte, bu mantar türlerinin kültüre alınmasıyla ilgili dünyada sınırlı sayıda çalışma bulunmakta ve çok azı başarılı bir şekilde yetiştirilebilmektedir. Bu makalede ektomikorizal mantarların yetiştiriciliğinde kullanılan yöntemler ve kültüre alınması konusunda yapılan çalışmalar hakkında bilgi verilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Ektomikorizal mantarlar, kültüre alma, inokulasyon, inokulum

CULTIVATION OF EDIBLE ECTOMYCORRHIZAL MUSHROOMS AND RELATED STUDIES

ABSTRACT: Edible ectomycorrhizal mushrooms are one of the most economically important groups among mushroom species and they have also important market rate. Approximately, half of the total edible mushroom species are belong to ectomycorrhizal groups. However, there are a very limited number of studies on the cultivation of ectomycorrhizal mushrooms and also a few of them could be able to cultivated successfully. In this review, methods used in the cultivation of ectomycorrhizal mushrooms and studies on their cultivation are presented.

Key words: Ectomycorrhizal fungi, cultivation, inoculation, inoculum

1. GİRİŞ

Dünyada yaklaşık 2500 yenilebilir mantar türünün bulunduğu kaydedilmiştir. Dünyadaki yenilebilir mantar türlerinin yaklaşık yarısı ektomikorizal gruba aittir. Ektomikorizal mantar türleri içerisinde en aranan ve en pahalı olan türler *Tuber melanosporum*, *T. magnatum*, *Tricholoma matsutake*, *Boletus edulis*, *Cantharellus cibarius*, *Lactarius deliciosus* ve *Amanita caesarea* türleridir. Bunların toplam pazarı milyarlarca Amerikan doları olarak ölçülmektedir (Wang ve Hall, 2004).

Son yüzyılda dünyada bazı yenilebilir ektomikorizal mantar türlerinin doğadan toplanan miktarlarında önemli derecede azalmalar meydana gelmiştir. Örneğin, Avrupa'da doğadan toplanan *Tuber melanosporum* miktarı 20. yy'ın başlarında 2000 ton iken, günümüzde 150 tona düşmüştür (Olivier, 2000; Lefevre ve Hall, 2001). Japonya'da *Tricholoma matsutake* (Wang ve ark., 1997) ve Kuzey yarımkürede yetişen diğer önemli yenilebilir ektomikorizal mantar türlerinin (Cherfas, 1991) hasatları sırasındaki mantar miktarları da önemli derecede azalmıştır. Bu azalmaların başlıca sebepleri arasında ormanların tahrip edilmesi, hastalık ve zararlılar yüzünden ormanlardaki konukçu bitkilerin kaybı, doğal ormanlarda bulunandan daha sık olarak ağaç dikimi yapılması gibi değişen ormancılık uygulamaları, zayıf konukçu bitki türleri ile yapılan plantasyonların doğal ormanların yerini alması, global ısınma, kalabalık toplayıcılar tarafından toprağın sıkıştırılması, asit yağmurları ve II. Dünya Savaşı sırasında özellikle truffle gibi mantar türlerinin nerede bulunduğu ve nasıl hasat edileceği konusundaki bilginin kaybı yer almaktadır (Cherfas, 1991; Wang ve ark., 1997; Olivier, 2000; Lefevre ve Hall, 2001).

Doğadaki mantar miktarındaki azalma mikorizal mantarların yetiştiriciliği konusunda araştırmaların yapılmasına neden olmasına rağmen, bu konudaki bilimsel literatür mikorizal araştırmanın diğer alanları ile karşılaştırıldığında yetersiz kalmıştır. *Cantharellus cibarius*, *Lyophyllum shimeji* ve *Lactarius deliciosus* gibi türlerin yetiştiriciliği konusunda metotlar geliştirilmekle birlikte, kontrollü koşullarda yalnızca birkaç yenilebilir ektomikorizal mantar türü yetiştirilebilmektedir (Godbout ve Fortin, 1990; Hall ve Wang, 1998a). Diğer taraftan, *Lyophyllum shimeji*, *Cantharellus cibarius* ve *Tuber melanosporum* türlerinin sporokarpları sırasıyla laboratuvar, sera ve ekzotik plantasyon koşullarında üretilmektedir (Ohta, 1994a; Danell ve Camacho, 1997; Hall ve Wang, 1998b). Spor süspansiyonları veya basidiokarplardan (mantarlardan) ya da mikorizal kök uçlarından hazırlanan saf kültürlerle inokulasyonun ardından enfekte olan bitkilerle *Lactarius deliciosus*, *Lyophyllum shimeji*, *Rhizopogon rubescens*, *Suillus granulatus*, *Terfezia* türleri ve *Tuber borchii*, *T. melanosporum*, *T. uncinatum*'un da içinde bulunduğu değişik *Tuber* türleri gibi yenilebilir mikorizal mantarların arazide basidiokarplarının elde edildiği bildirilmiştir (Sisti ve ark., 1998; Morte ve ark., 2000; Hall ve ark., 2002; Wang ve ark., 2002). Ayrıca Danell ve Camacho (1997) serada torbalarda (kavanoz, kap) *Cantharellus cibarius* üretmeyi başarmışlardır. Bu başarılarla rağmen *Tuber magnatum*, *Tricholoma matsutake* ve *Boletus edulis* gibi ticari açıdan önemli ve dünyanın en pahalı ektomikorizal mantar türlerinin çoğu yetiştirilememektedir (Hall ve ark., 1998; Wang ve Hall, 2004).

Ektomikorizal mantarların yetiştiriciliğinde en önemli engeller başarılı bir şekilde gelişip mantar oluşturabilmeleri için konukçu bir bitkiye ihtiyaç duymaları, besin ortamında miselyumun yavaş gelişim hızı, plantasyonların oluşturulmasından hem önce hem de sonra diğer ektomikorizal mantarlar ile kontaminasyona ihtiyaç duymaları, konukçu bir bitki ile mikorizal ilişkinin sürdürülme zorluğu ve mantar oluşum mekanizmaları konusundaki bilgi eksikliği olarak sayılabilir (Hall ve Wang 1998a; Hall ve ark., 2003). Bu mantarların çoğu kültürde gelişmesine rağmen, genellikle çok yavaş gelişirler ve kompleks besin gereksinimlerine sahiptirler (Isaac, 1992). Yapılan *in vitro* çalışmalar ektomikorizal mantarların selüloz ve lignin gibi kompleks karbon bileşiklerini parçalayamadıklarını, bu nedenle yaprak ve ibre artıkları gibi maddeler üzerinde gelişemeyeceklerini göstermiştir. Ayrıca ektomikorizal mantarların kültüre alınmalarının zor olduğu belirtilmiştir (Hutchison, 1999).

Yenilebilir bir ektomikorizal mantarın yetiştiriciliği ilk kez Joseph Talon tarafından 18. yy'ın ilk yarısında başarılmıştır. Joseph Talon siyah *Tuber* mantarlarını üreten konukçu ağaçların kök bölgelerinden meşe fidanları şaşırtılırsa, bunlardan meydana gelecek yeni ağaçların da *Tuber* üretebileceğini düşünmüştür. Çok gelişmiş bir yöntem olmamasına rağmen Talon'un tekniği 150 yıl boyunca dünyada geniş çapta kullanılmıştır. *Tuber uncinatum* ve *Lyophyllum shimeji* türlerini yetiştirmek için de benzer teknikler kullanılmıştır (Fujita ve ark., 1990). Bununla birlikte 1970'li yılların başında seralarda ya sporlarla ya da bulaşık kök parçaları kullanarak *Tuber* türleri ile bitkileri enfekte etmek (bulaştırmak) için daha güvenilir metotlar bulunmuştur (Chevalier ve Dupre, 1990; Kagan-Zur, 2002). Günümüzde dünyada düzinelerce fidanlıkta *Tuber melanosporum* ve *T. uncinatum* ile inokule olmuş fidan üretilmesine rağmen (Olivier, 2000; Lefevre ve Hall, 2001), hem sulama, gübreleme, sıcaklık, ışık seviyesi, yetiştirme ortamının formülasyonu ve pH hem de inokulumun miktarı, kalitesi ve uygulanması gibi başarıyı sağlayacak çoğu ayrıntı meslek sırrı olarak kalmaktadır (Hall ve Wang, 1998a; Pacioni ve Comandini, 2000). Yenilebilir bir mikorizal mantarın genç veya yaşlı ağaçların yanında bulunup bulunmayacağını belirlemek, mantarın tolere ettiği optimum iklim ve toprak koşullarını tespit etmek, mikorizal topluluk yapıları üzerinde değişen çevresel koşulların etkisini izlemek, diğer toprak altı organizmalarıyla onların ilişkilerini belirlemek ve mantar oluşumunu başlatmak için gerekli faktörleri belirlemek amacıyla bu alanda önemli çalışmalara ihtiyaç vardır (Visser, 1995; Redecker ve ark., 2001; Duplessis ve ark., 2002; Lilleskov ve ark., 2002).

2. EKTOMİKORİZAL MANTARLARIN KÜLTÜRE ALINMASI

2.1. Mantar Örneklerinin Toplanması

Ektomikorizal mantarlar en yaygın olarak

sporokarp dokusundan izole edilirler. Bununla birlikte ayrıca sterilize edilen ektomikoriza, sklerat veya rizomorfların yüzeyinden ve bazı durumlarda eşeyssel sporlardan da izole edilebilir. Mantarlar iyi durumda iken ve değişik gelişme safhalarında toplanmalıdır. İzolasyonlar için genç mantarlar tercih edilmekle birlikte, türün güvenilir bir şekilde tespit edilebilmesi için tamamen olgunlaşmış örneklerde toplanmalıdır. Küçük bir bıçak kullanılarak sapın tabanı dahil tüm mantar topraktan çıkarılır. Mantar temizlenir ve mumlanmış kağıt torbalara konulur. Aşırı nem bakteri ve küf gelişimine sebep olduğu mantarlar hızla bozulduğu için plastik torbalar mantarların depolanması için uygun değildir. Toplama esnasında mantarların doğal ortamı (buldukları alanın yüksekliği, bitki örtüsü, iklim özellikleri) ve makroskopik özellikleri (renk, şekil, büyüklük, vs.) ile ilgili bilgiler kaydedilerek, fotoğrafları çekilmelidir.

Mantarlar toplandıktan sonra izolasyonlar mümkün olan en kısa sürede yapılmalıdır. İzolasyon hemen arazide yapıldığı zaman ise genellikle en iyi sonuçlar alınır. Eğer toplandıktan sonra birkaç gün içerisinde izolasyon yapılacaksa örnekler buzdolabında (3-5°C) saklanmalıdır.

2.2. Saf Kültürlerin Elde Edilmesi

Dünyada ektomikorizal mantar türlerinin saf kültürlerinin elde edilmesinde değişik besi ortamları kullanılmaktadır. Genellikle MMN (Modifiye edilen Melin-Norkrans Ortamı), BAF (Biotin-Aneurin-Folic Acid Agar), PDA (Patates Dekstroz Agar), MEA (Malt Ekstrakt Agar), M40, PACH, FDA ve Gamborg ortamı daha yoğun olarak kullanılmaktadır. Bu besi ortamlarının içerikleri Çizelge 1'de verilmiştir. Besi ortamları 121°C'de 20 dakika steril edildikten sonra kullanılmaktadır.

Fungal inokulasyonlar bulaşmanın minimize edildiği laminar akışlı (steril) bir kabinde yapılmalıdır. Steril kabinde her kullanımdan önce yüzey sterilizasyonu yapılmalı ve hava akışının yeterli olduğu rutin olarak denetlenmelidir. Laboratuvara getirilen mantar örnekleri öncelikle alkol ile steril hale getirilmelidir. Mantar iyice temizlendikten sonra, sapın alt ucundaki toprak kalıntısının olduğu kısım kesilmelidir. Steril edilen iyi uçlu bir bıçak yardımıyla mantar dokusu 2-5 mm³ parçalar halinde kesilip, steril bir transfer iğnesi yardımıyla deney tüpü veya petri kaplarında bulunan steril edilmiş değişik besi ortamlarına aşılmalıdır. İyi bir sonuç için mantarların şapka ve sap gibi 2-3 farklı yerinden izolasyon yapılmalıdır. Lameller üzerinden alınan dokunun çoğunlukla en iyi sonucu verdiği belirlenmiştir. Aşılardan sonra kültürler 20-25°C'de inkübe edilmektedir. Başarılı bir izolasyondan 4-7 gün sonra, petri kaplarında gözle görülebilir bir misel büyümesi başlar ve yaklaşık olarak birkaç hafta sonra misel tüm agar yüzeyini sarar. Misel tüm petriyi sardıktan sonra elde edilen saf kültürler kullanılıncaya kadar buzdolabında (+4°C) saklanmalıdır. Aktif misel gelişimlerini sağlamak için rutin olarak izolatların alt

Çizelge 1. Ektomikorizal mantarların saf kültürlerinin elde edilmesinde yaygın olarak kullanılan besin ortamları ve içerikleri

Ortam	İçerikleri
PDA	200 g patates, 20 g agar, 20 g dekstroz, 1 lt destile su
M40	66.8 mg CaCl ₂ . 2H ₂ O, 500 mg KH ₂ PO ₄ , 25 mg NaCl, 250 mg (NH ₄) ₂ HPO ₄ , 150 mg MgSO ₄ .7H ₂ O, 10 mg Thiamine-HCl, 10 g glukoz, 5 g malt ekstrakt, 10 g agar, 0.5 ml %1'lik FeCl ₃ , 1 lt destile su
BAF	30.0 g glukoz, 2.0 g pepton, 0.2 g maya ekstrakt, 0.5 g KH ₂ PO ₄ , 0.5 g MgSO ₄ . 7 H ₂ O, 10.0 mg FeCl ₃ . 6 H ₂ O, 1.0 mg ZnSO ₄ . 7 H ₂ O, 5.0 mg MnSO ₄ , 100.0 mg CaCl ₂ . 2 H ₂ O, 50.0 µg Thiamin HCl, 1.0 µg Biotin, 100.0 µg folik asit, 50.0 µg inositol, 15.0 g agar, 1 lt destile su, pH 5.8-6.3
MMN	0.025 g NaCl, 0.5 g KH ₂ PO ₄ , 0.25 g (NH ₄) ₂ HPO ₄ , 0.05 g CaCl ₂ , 0.15 g MgSO ₄ .7H ₂ O 0.001 g FeCl ₃ , 6H ₂ O, 100 µg Thiamine, 2.5 g glukoz, 5 g malt ekstrakt, 15 g agar, 1 lt destile su, pH 5.5-7
PACH	500 mg C ₄ H ₁₂ N ₂ O ₆ , 1000 mg KH ₂ PO ₄ , 500 mg MgSO ₄ .7H ₂ O, 50 mg CaCl ₂ , 20 mg Fe EDTA, 2.8 mg H ₃ BO ₃ , 3 mg MnCl ₂ . 2H ₂ O, 2.3 mg ZnSO ₄ . 7 H ₂ O, 0.63 mg CuCl ₂ .2H ₂ O, 0.27 mg Na ₂ Mo ₄ . 2H ₂ O, 5 g maltoz, 20 g glukoz, 0.1 µg Thiamine HCl, 8 g agar, 1 lt destile su, pH 5.4
FDA	500 mg NH ₄ Cl, 500 mg KH ₂ PO ₄ , 500 mg MgSO ₄ .7 H ₂ O, 20 g glukoz, 5 g malt ekstrakt, 8 g agar, 1 lt destile su, pH 5.0
Gamborg	1652 mg (NH ₄) ₂ SO ₄ , 163 mg KH ₂ PO ₄ , 246 mg MgSO ₄ .7 H ₂ O, 147 mg CaCl ₂ .2 H ₂ O, 28 mg FeSO ₄ .7H ₂ O, 3.1 mg H ₃ BO ₃ , 10.1 mg MnSO ₄ . 7 H ₂ O, 2 mg ZnSO ₄ . 7 H ₂ O, 3 mg Cu SO ₄ , 2 mg Na ₂ Mo ₄ . 2H ₂ O, 0.025 mg CoCl ₂ .6 H ₂ O, 0.75 mg KI, 5 g dekstroz, 1 lt destile su, pH 5.5
MEA	20 g malt ekstrakt, 15 g agar, 1 lt destile su

kültürlere alınması gerekmektedir. Alt kültürü hazırlamak için koloninin kenarından alınan bir parça, deney tüplerindeki yeni besin agarının üzerine steril bir transfer iğnesi yardımıyla aseptik olarak doğrudan doğruya taşınmalıdır. Hazırlanan stok kültürleri 3-5°C'de muhafaza edilmektedir (Palmer, 1971).

2.3. Ektomikorizal Mantar İnokulumunun Üretimi

Laboratuvar, fidanlık ve arazi uygulamalarında kullanım için inokulum üretmek amacıyla ilk olarak organizmayı izole etmek, onu aksenik kültürde geliştirmek ve yeterli miktarda fungus üretmek gerekmektedir (Harvey, 1991). Fidanları ektomikorizal mantarlarla aşılama için doğal plantasyonlardan alınan toprak karışımından oluşan inokulum, mikorizal fidanlar ve kökler, mantarlar, sporlar ve ektomikorizal mantarların saf kültürleri kullanılmaktadır (Harris ve Jurgensen, 1977; Molina, 1979; Fries, 1987).

a) Toprak inokulumu: Toprak inokulumu en yaygın olarak kullanılan doğal inokulum kaynağıdır (Marx ve Kenny, 1982). Özellikle gelişmekte olan ülkelerde çam ağacı plantasyonlarından alınan toprak veya humus tabakası doğal inokulum olarak kullanılmaktadır (Marx, 1991). Toprak inokulumu ya toprak üzerine 0.5-1 cm yüksekliğinde serilerek köklenme ortamına karıştırılmakta ve genç fidanların etrafındaki toprak sulanmakta ya da suda süspansiyon haline getirilerek (20 lt suya 1 kg toprak olacak şekilde) fidanlar üzerine dökülmektedir. Genellikle bu işlem mevsim boyunca 3-4 kez yapılabilir. Taze olarak toplanan toprak ile birkaç ayda toplanan ve stok yapılan topraktan daha iyi sonuçlar elde edilmektedir. Toprak inokulumu kullanmanın bir avantajı, toprağın azot fikse eden bakterileri içerme olasılığının olmasıdır. Ayrıca spor, bitki kökleri ve hiflerden oluşan toprak inokulumu fidanları inokule edebilmektedir. Toprak inokulumunun toplanması ve uygulanması diğer inokulum tiplerine göre daha kolaydır (Helm ve Carling, 1990). Dezavantajları ise toprak içerisinde bulunan diğer mantar türlerinin

kontrol edilememesidir. Toprağın istenen mantar türlerini içermesinin hiçbir garantisi yoktur. Fazla miktarlarda toprağın taşınması zor ve pahalıdır (Marx ve Kenny, 1982). Ayrıca toprak inokulumu ektomikorizal mantarlara ilaveten zararlı mikroorganizmaları ve yabancı otları da içerebilmektedir. Toprak inokulumu bazen kil, hayvan gübresi ve diğer katkı maddeleriyle karıştırılarak kullanılabilir.

b) Spor inokulumu: İnokulum olarak sporların kullanılması 18. yüzyıla dayanmaktadır (Marx ve Kenny, 1982). Çoğu ektomikorizal mantar toprak üzerinde sporoforlar meydana getirir. Bu sporoforlarda üretilen sporlar rüzgar, yağmur, böcekler ve küçük hayvanlar tarafından uzak mesafelere yayılabilir. Sporlar toplandıktan kısa bir süre sonra geniş bir yüzey alanına sahip 1-2 cm derinliğindeki tepsilere serilir, %40-50 nispi nemde ve 22-26°C'de hava ile kurutulur. Kurutma sırasında tepsideki spor tabakası her 3-4 saatte bir dikkatli bir şekilde karıştırılmalıdır. *Pisolithus tinctorius*, *Rhizopogon vinicolor* ve *R. colossus*'un basidiospor inokulantı dünyada son zamanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Sporlar değişik şekillerde kullanılabilir. 1) Toprağa karıştırılmadan önce kum, kil veya vermikülit gibi bir taşıyıcıyla karıştırılabilir. 2) Süspansiyon haline getirilebilir. 3) Serpilerek veya püskürtülerek kullanılabilir. 4) Küçük topraklar haline getirilip, tohum gibi saçılabilir. 5) İnokulant tohumlar üzerine kaplanarak da kullanılabilir (Marx ve Bell, 1985; Castellano ve Molina, 1989; Marx ve ark., 1989). İnokulasyon için ektomikorizal mantar sporlarının kullanılmasının en önemli avantajı, vejetatif inokulum gibi aseptik koşullar altında hiç yayılmayan sporları gerektirmesidir. Diğer bir avantajı sporların bir mevsimden diğerine kadar hayatta kalma yeteneğinin sürmesidir. Sporlar uzun bir gelişim safhası gerektirmez ve hafiftir. Spor inokulumunun en büyük dezavantajlarından bir tanesi sporların uzun süre canlı kalabilmesine rağmen, sporların canlılığını tespit

etmek için standart laboratuvar testlerinin olmayışıdır (Norland, 1993). Spor canlılığını tespit etmenin en güvenilir yolu doğrudan ektomikorizal sentez testleridir. Diğer bir dezavantajı ise fidanlıkları aşılama için gereken çok sayıda mantarın yeterli miktarda sporokarpı her yıl mevcut olmayabilir. Ektomikorizal mantarların sporları küçüktür ve kök bölgesinde yıkanabilir. Basidiosporlar ile ektomikoriza oluşumu genellikle aynı mantarın vejetatif inokulumundan 3-4 hafta kadar daha uzun bir zaman alır. Spor inokulumunun kullanılmasında belki de en önemli problem genetik tanımlamanın olmayışıdır.

c) Vejetatif inokulum: Ektomikorizal mantarların saf misel veya vejetatif inokulumu biyolojik olarak en güvenilir inokulum tipi olarak tavsiye edilmektedir (Marx ve Kenny, 1982). İnokulasyon programında birinci ve en önemli adım mantarların seçimidir. Konukçu özgülüğü (ne kadar çok konukçu olursa o kadar iyi olur), mantarın saf kültürde gelişebilme ve elle muameleye dayanma yeteneği aday mantarların seçiminde dikkate alınan kriterlerdir (Norland, 1993). Eğer mantar fiziksel işlem (karıştırma, kurutma) veya toprak nemi ve sıcaklığındaki dalgalanmalara karşı canlı kalamıyorsa bu mantarın vejetatif inokulumunun büyük miktarlarda üretimi çok az öneme sahiptir. Diğer bir husus seçilen mantarın fidanların dikildiği yere adaptasyonudur. Ayrıca aday mantarda hif ve sklerat üretimi de önemli ayırt edici özelliklerdir.

Dünyanın değişik kısımlarındaki birçok araştırmacı vejetatif inokulum üretim yöntemleri geliştirmişlerdir. Küçük kaplarda, saksılarda, parsellerde ve hatta küçük fidanlık arazilerinde yürütülen çalışmalar için yeterli miktarda vejetatif inokulum üretmek kolaydır. Fakat geniş ölçekli bir fidanlık inokulasyonu için yeterli miktarda, pratik ve ekonomik olarak vejetatif inokulum üretmek zordur (Marx ve ark., 1992).

Ektomikorizal mantarların saf kültürde geliştirilmesi için MMN (Modifiye edilen Melin-Norkrans Ortamı) besi ortamının diğer çoğu ortamdan daha üstün olduğu kanıtlanmıştır. Vejetatif inokulum hazırlamak amacıyla kum, torf, vermikulit ve toprak karışımlarından hazırlanan ortamlar şişelere doldurularak 121°C'de 2 saat steril edilmektedir. Elde edilen saf kültürler MMN sıvı ortamı ile nemlendirilen kum, torf, vermikulit ve toprak karışımlarından hazırlanan ortamlara sardırılarak vejetatif inokulum elde edilmektedir. Misel sardırma materyali olarak kullanılan perlit, kum ve talaş gibi birçok ortam, vermikulit-turba yosunu kadar etkili değildir.

Elde edilen mantar inokulumları sera veya doğal plantasyonlardaki mikorizal ortaklarının bulunduğu alanlara inokulasyon yöntemleri ile ekilmektedir.

2.4. Ektomikorizal Mantarların İnokulasyonu

Yapılan araştırmaların sonucuna göre hiçbir ektomikorizal mantar doğal bir çevrede mikorizal ilişkinin olmaması durumunda yaşam döngüsünün tamamını gösterememiştir. Bu nedenle inokulasyon programlarında üretilen inokulum, fidanların kök

bölgesine yerleştirilmelidir. Ektomikorizal fidanların başarılı bir şekilde üretimi kullanılan inokulumun yaşına ve tipine, inokulasyon zamanına, inokulum yoğunluğuna, mantar türüne, iklime, ekosisteme, büyüme ortamına inokulumun uygulanma şekline ve konukçu ile mantar arasındaki birtakım interaksiyonlara bağlıdır (Abbott ve Robson, 1981). Fidanların ektomikorizal inokulum ile a) tohumlar ekilmeden önce, b) tohumlar ekilirken ve c) tohumlar ekildikten sonra olmak üzere üç aşılama zamanı vardır. Bunlar arasında en etkili olanı tohumlar ekilmeden önce ve tohumların ekilmesi sırasında aşılamanın yapılmasıdır. Ektomikorizal mantarların inokulasyonunda değişik yöntemler kullanılabilir.

a) Serpme inokulasyon: Ektomikorizal mantarların inokulasyonunda yaygın olarak kullanılan bir inokulasyon yöntemidir. Serpme inokulasyon belirli bir miktar inokulumun toprak yüzeyine belirli bir alana serpilmesi ve daha sonra inokulumun tohum ekiminden önce toprağın 10-20 cm derinliğine karıştırılmasıdır (Riffle ve Maronek, 1982). Fazla miktarda inokulum gerektirmesi bu yöntemin dezavantajını oluşturmaktadır. Mikorizal kök parçaları, mantarlar ve sporlar ya da vejetatif misel kültürü şeklindeki inokulumlar bu amaçla kullanılabilir (Norland, 1993).

b) Bant halinde inokulasyon: İnokulumun toprağın altına bant veya tabaka halinde uygulanmasıdır. Böylece inokulum gelişmekte olan köklere yakın olarak yoğun bir şekilde gelişir (Riffle ve Maronek, 1982). Fidanlar küçük kaplarda geliştirilecekse, örneğin 65 ml'lik bir kap için 10 ml vejetatif inokulum kabın orta kısmına bant şeklinde uygulanabilir. Bu yöntemde serpme inokulasyonda kullanılan inokulum miktarının yalnızca 1/3'üne gereksinim duyulmaktadır (Norland, 1993). Tüplü fidanlar kullanıldığı zaman bant halinde inokulasyon serpme inokulasyon tekniğinden daha etkilidir (Riffle ve Maronek, 1982). Bant halinde inokulasyonun tohum kaplamaya (seed pelleting) göre daha etkili olduğu belirlenmiştir (Menge ve Timmer, 1982). Bant halinde inokulasyon diğer tekniklerle karşılaştırıldığında işgücü ve zaman bakımından kazanç sağlamakta, ancak makine kullanımını gerektirmektedir (Riffle ve Maronek, 1982). Çoğu inokulum tipi bant halinde inokulasyon yöntemiyle uygulanabilir.

c) Süspansiyon halinde inokulasyon: Fidanların dikimden önce mikorizal inokulumun suyla karıştırılarak hazırlandığı süspansiyona daldırılması ya da bu süspansiyonun toprağa dökülmesi şeklinde yapılmaktadır (Norland, 1993). Süspansiyon halinde inokulasyon spor inokulumunun kullanılması ile başarılı olunan bir inokulasyon tekniğidir (Marx ve Kenny, 1982).

d) Basidiospor inokulasyonu: Basidiosporlar su içinde süspansiyon edilerek toprağa verilebilir ya da kuru sporlar doğrudan doğruya toprağa veya sakı karışımına katılabilir. Ekimden önce tohumlar

sporlarla kaplanabilir veya sporlar fidanların köklerine toz halinde verilebilir. Bir başka yöntem ise sporları bir dolgu maddesine karıştırdıktan sonra tohumlara uygulamaktır. Dolgu maddesi olarak vermikülit, kaolin, kum veya su kullanılabilir (Norland, 1993).

e)Tohum kaplama yöntemi: Tohum kaplama, tohumların sporlar veya toprak inokulumu ile kaplanması şeklinde yapılmaktadır (Norland, 1993).

f)Ektomikorizal fidanların dikimi: Önceki uygulamaların başarılı sonuç vermediği durumlarda mikorizalı fidanlar, fidanlığa 1-2 m aralıklarla dikilerek diğer bitkilerin köklerine misel bulaşması sağlanabilir. Fidanlıktan bitkiler sökülürken bazıları orada bırakılarak inokulum görevi yapmaları sağlanır. Mikorizalı köklerin fidanlıklardaki tohum yataklarına karıştırılması da olumlu sonuç verebilir. Bol miktarda mikoriza içeren kökler seçilerek bunlar kurumadan hemen ekim öncesinde toprağa uygulanabilir.

g)Diğer yöntemler: Fidanlara vejetatif inokulumun uygulanmasıdır. Çıkış sonrasında uygulandığında daha etkili olur. Böylece canlı inokulum kısa köklerle etkileşime girerek etkin bir mikoriza oluşumu gerçekleştirebilmektedir (Riffle, 1977).

3.DÜNYADA YENİLEBİLİR EKTOMİKORİZAL MANTAR TÜRLERİNİN KÜLTÜRE ALINMASI KONUSUNDA YAPILAN BAZI ÇALIŞMALAR

Yenilebilir *Tuber* mantarının son 50 yılda Fransa, İtalya ve İspanya'daki doğal alanlardaki üretiminin azalması bu mantar türünün yetiştiriciliğini büyük ölçüde teşvik etmiştir. Ticari inokulasyon metotları Fransa ve İtalya'da 1970'lerden bu yana kullanılmaktadır (Chevalier ve Grente, 1978; Bencivenga ve ark., 1995). Fischer ve Colinas (1996) son yıllarda *Tuber* mantarı yetiştiriciliğinin İspanya'nın kireçli alanlarında arttığını, fidanlıklarda üretilen ticari olarak inokule edilmiş fidan sertifikasyonu için pratik ve ekonomik yöntemlere ihtiyaç duyulduğunu bildirmişlerdir.

Yenilebilir ektomikorizal mantar *Cantharellus cibarius* sporlarının çimlendirilmesi ilk kez Fries (1979) tarafından yapılan çalışmada başarılmıştır. Suzuki (1979) tarafından yapılan çalışmada *Hebeloma vinosophyllum*'un konukçu bir bitki olmadan gelişme ortamında primordium ve mantar oluşturduğu belirlenmiştir.

Lactarius türleri, *Laccaria laccata*, *Tricholoma terreum* ve *Cantharellus cibarius* gibi ektomikorizal mantarların kültüre alınmalarıyla ilgili olarak yapılan bir çalışmada bu mantarların mikorizal ortakları olan bitki kökleriyle birlikte geliştiği bildirilmiştir. *Boletus granulatus* ve *Lactarius deliciosus* türleri sera koşullarında çam köklerine inokule edilmişler, daha sonra bu bitkiler doğal ortama şaşırtılmak suretiyle mantarlar elde edilmiştir (Poitou ve ark., 1984).

Straatsma ve ark. (1985) yaptıkları çalışmada *Cantharellus cibarius* miseli elde etmeyi başarmışlar ve bu mantarın sporlarının çimlenme oranının çok düşük olduğunu tespit etmişlerdir. *C. cibarius*'un

misel üretiminde 5 mM süksinat veya 25 mM MES katılmış sıvı Fries ortamının (pH 5.5) en iyi sonucu verdiği bildirilmiştir (Straatsma ve Griensven, 1986).

Debaud ve Gay (1987) tarafından yapılan bir çalışmada ektomikorizal mantar *Hebeloma cylindrosporum* aksenik koşullarda sentetik bir ortam üzerinde konukçu bitkisi *Pinus pinaster* ile yetiştirildiğinde sporlu mantarlar üretilmiştir. Konukçu bitki olmadığında *H. cylindrosporum* yalnızca primordium ve olgunlaşmamış mantarlar oluşturmuştur. Toplam 9.5 aylık süre sonunda 144 mantar görülmüştür. *H. cylindrosporum*'un miseli ile 1 aylık *Pinus pinaster* bitkilerinin inokulasyonundan yaklaşık 15-30 gün sonra 1 l'lik erlenmayerlerde mantar oluşumu başlamıştır. 18°C'de her bir erlenmayerde gelişen ortalama basidiyom sayısı yaklaşık 3.5 olarak belirlenmiştir. 5 gün boyunca $\pm 6^\circ\text{C}$ 'lik bir termal şok her bir erlenmayerdeki ortalama basidiyom sayısını önemli derecede etkilememiş, fakat onların oluşum hızını biraz değiştirmiştir. Toplanan mantarlardan elde edilen sporların çimlenme yeteneğine sahip oldukları belirlenmiştir.

Yapılan başka bir çalışmada *Pisolithus tinctorius* basidiosporlarının steril toprağa bulaştırılmasında 5 farklı yöntem denenmiştir. Bu yöntemlerde sırasıyla sporlar sulu malça karıştırılıp ekimden sonra uygulanmış, ekimden sonra sporlar toprağa toz halinde karıştırılmış, ekimden önce sporlar toprağa enjekte edilmiş, ekimden 6 hafta sonra sporlar fidelerin dibine toz halinde uygulanmış ve yine ekimden 6 hafta sonra sporlar süspansiyon halinde fidelerin dibine verilmiştir. Çalışmanın sonucunda ilk iki yöntem en etkili bulunmuş, fidelerde birinci yöntemde %75, ikincisinde 1/3 oranında ektomikoriza oluştuğu belirlenmiştir (Riffle ve Maronek, 1991).

Danell (1994), *Cantharellus cibarius*'ta ektomikoriza oluşumu ve gelişimini araştırmıştır. *C. cibarius*'un miselleri spor ve dokudan elde edilmiştir. *C. cibarius*'un gelişimi ve mikoriza oluşumu için glukoz ve %0.2'lik CO₂ sahip filtre edilen hava akışı eklenen seyreltilmiş bir mineral solüsyonunun otomatik olarak ilave edilmesinin gerekli olduğu belirlenmiş ve 8 hafta sonra mikoriza gözlenmiştir. Fakat güçlü bir kolonizasyon ancak 10-12 hafta sonra meydana gelmiştir.

Araştırılan 35 *Lyophyllum shimeji* ırkıdan 3 tanesi konukçu bir bitki olmadan aksenik kültürde 15°C'de inkübe edildiğinde primordium oluşturmuştur (Ohta, 1994b). Ayrıca aynı koşullarda olgun mantarlar da geliştirilmiştir (Ohta, 1994a).

Araujo ve ark. (1998)'nin yaptıkları çalışmada patates dekstroz agar (PDA) ortamının *Pisolithus tinctorius*, *Lactarius deliciosus*, *Suillus collinitus* ve *Lactarius sanguifluus* türlerinin misel gelişimi için uygun olduğu sonucuna varılmıştır.

Guerin-Laguette (1998) Avrupa kırmızı çam fidanları ile ortak yaşayan *Lactarius deliciosus* türünde kaplarda mantar oluşumunu başarılı bir şekilde sağlamıştır.

Ohta (1998) saf kültürde iki ektomikorizal mantar türünün (*Hebeloma radicosum* ve *Hebeloma* sp. (Japonca'da *nagaenosugitakedamashi*) üretimi üzerine çalışmıştır. İlk olarak arpa daneleri ve talaş içeren ortama ilave edildiklerinde mantarların misel gelişimini teşvik eden besin maddeleri belirlenmiştir. Daha sonra her bir mantar türü için seçilen ilave besin maddelerini içeren daha geniş çaplı ortamda, 17°C'de 21-32 gün süren bir inkübasyonu takibeden 22°C'de 35-42 günlük bir inkübasyondan sonra basidiosporları taşıyan olgun mantarlar oluşmuştur.

Pekşen ve ark. (1999)'nın yaptıkları çalışmada *Tricholoma terreum*, *Lactarius semisanguifluus*, *Lactarius deliciosus*, *Cantharellus cibarius* ve *Polyporus squamosus*'un sporları 10 değişik besin ortamında (Buğday agar, Buğday maya agar, Malt agar, Malt maya agar, Patates dekstroza agar, Patates dekstroza maya agar, Yang ortamı, Lambert ortamı, Sentetik ortam ve Toprak ekstrakt agar) kültüre alınmıştır. Ancak çoklu spor metodu ile bu ortamların hiçbirisinde doğa mantarlarının misel üretimleri sağlanamamıştır.

Guerin-Laguette ve ark. (2000) *Pinus sylvestris* ve iki yenilebilir *Lactarius* türü arasındaki mikorizal ilişkiye deneysel koşulların etkilerini ve kontrollü topraksız koşullarda *Lactarius* türünün mantar oluşumunu araştırmışlardır. *Lactarius deliciosus* ve *L. sanguifluus*'un *in vitro* misel gelişimi, glukoz, aminoasitler ve vitaminler içeren bir buffered ortamında sağlanmıştır. İnokulasyondan sonraki birinci yılda *Pinus sylvestris* fidanları ile ilişkili olarak *L. deliciosus* primordiumları görülmüş ve 6 ay sonra 2 olgun mantar elde edilmiştir.

Saf kültürde bazı ektomikorizal mantar türlerinin kültürel özelliklerini araştırmak amacıyla yapılan çalışmada 21 adet ektomikorizal mantar türünün taksonomik kriterlere göre makroskopik ve mikroskopik özellikleri belirlenmiştir. Kültür ortamı olarak MMN ve BAF ortamları kullanılmıştır. Makroskopik olarak misel rengi, havalı misel miktarı ve mikroskopik olarak dalgalı, girintili çıkıntılı ve düzensiz hücrelerin varlığı türler içerisinde en değişken özellikler olarak belirlenmiştir (Sanchez ve ark., 2000).

Wang (2000) yaptığı çalışmada yenilebilir mikorizal mantarların *in vitro*da yetiştirilebilmesi için kullanılabilir bir metod geliştirmiştir. Yetiştiricilik için taze veya genç mantarlardan elde edilen dokunun daha yüksek hayatta kalabilirlik oranına sahip olduğu, fakat olgun mantarlardan alınan veya toplandıktan sonra belli bir zaman geçen mantarlardan alınan dokularda hayatta kalabilirliğin azaldığı belirlenmiştir. Lamellerden alınan dokuların hayatta kalma oranları %95 olmuştur. Yetiştiricilik için kültür ortamı olarak EGA ve modifiye edilmiş EGA en uygun ortamlar olarak belirlenmiştir. Kültür ortamına bazı organik asitlerin ilave edilmesi ile çimlenme oranı artmıştır.

Sanchez ve ark. (2001) 8 farklı ektomikorizal mantar türünün (*Hebeloma edurum*, *Lactarius deliciosus*, *Rhizopogon roseolus*, *Suillus collinitus*,

Suillus granulatus, *Suillus luteus*, *Tricholoma focale*, *Tricholoma striatum*) saf kültürde gelişimleri üzerine farklı sıcaklık, pH ve su potansiyellerinin etkisini araştırmışlardır. Her bir türün kuru madde üretimi ve misel gelişimi belirlenmiş ve morfolojik olarak tanımlanmıştır. *H. edurum* ve *L. deliciosus* nötr veya hafif bazik ortamda daha iyi gelişim göstermiştir. Mantar türlerinin çoğu en düşük koloni çapı ve kuru madde üretimini 2.5 pH'da göstermiştir. Yüksek su stresi seviyelerinde (-13.85 ve -15.45 bar) sadece *H. edurum*, *R. roseolus* ve *S. collinitus* türleri gelişim göstermiştir. İncelenen ektomikorizal mantar türleri içinde yalnızca *R. roseolus* ve *S. collinitus* 30°C'de gelişirken, diğer türler düşük sıcaklık seviyelerinde gelişmişlerdir.

Tüplü *Pinus pinea* fidanları ile ektomikorizal mantar türlerinin etkinliğini belirlemek için 7 ektomikorizal mantar türü test edilmiştir. *Melanogaster ambiguus*, *Pisolithus tinctorius*, *Rhizopogon luteolus*, *Rhizopogon roseolus* ve *Scleroderma verrucosum* spor inokulum, *Hebeloma crustuliniforme*, *Laccaria laccata* ve *Pisolithus tinctorius* vejetatif inokulum olarak uygulanmıştır. Vejetatif inokulum olarak denenen mantarlar arasında en yüksek ektomikoriza yüzdesi *H. crustuliniforme*'den elde edilmiştir. Spor inokulumu olarak uygulanan *Pisolithus tinctorius* etkili inokulum oranlarında yaklaşık %50 oranında ektomikoriza oluşturmuştur (Rincón ve ark., 2001).

Wang ve ark. (2001) yaptıkları çalışmada Yeni Zelanda'da *Lactarius deliciosus*'un yetiştiricilik potansiyelini araştırmışlardır. *L. deliciosus* izolatları Avrupa'dan getirilmiş ve laboratuvarında bir dizi inokulasyon deneyi yürütülmüştür. *Pinus radiata*, *P. densiflora* ve *Picea abies* fidanları izolatlarla iyi bir ektomikoriza oluşturmuştur. Gençken portakal renkli olan mikoriza yaşlanmayla birlikte koyu yeşil renk almıştır. *L. deliciosus* ile bulaştırılan *Pinus radiata* fidanlarının üretimi için teknoloji geliştirilmiş ve 2000 yılı ilkbaharında iki adet deneysel plantasyon kurulmuştur. Çam ormanlarında ikincil bir ürün olarak *L. deliciosus* mantarının üretimini amaçlayan plantasyonların daha sonra planlanacağı bildirilmiştir.

Yamada ve ark. (2001) *in vitro*da *Lyophyllum*, *Tricholoma*, *Leucopaxillus*, *Suillus*, *Rhizopogon*, *Lactarius* ve *Morchella* cinsine ait yenilebilir mantarların *Pinus densiflora* ile mikoriza oluşumunu incelemişlerdir. *Lyophyllum*, *Tricholoma*, *Suillus*, *Rhizopogon* ve *Lactarius* cinsine ait test edilen mantarların çoğu mantar inokulasyonundan 2-4 ay sonra ektomikoriza oluşturmuştur. İncelenen türlerin yarısından fazlası primordium ve *Tricholoma flavovirens*, *Rhizopogon rubescens* ile *Lactarius akahatsu* gibi türler ise genç konukçu bitkilerle mantar oluşturmuştur.

Araujo ve Roussos (2002) ektomikorizal mantarlarda agar ortamı üzerinde misel gelişimini araştırmak için bir teknik geliştirmişlerdir. Bu amaçla bir selofan disk ile örtülü 10 ml kültür ortamı içeren 60 mm çapında petri kapları kullanılmıştır. Fungal

biomass üretimi analizi için ortamın yüzeyi üzerine steril edilen bir selofan levha (örtü) yerleştirilmiştir. İnokulasyon selofan levhanın merkezi üzerine bir misel bloğunun yerleştirilmesi ve daha sonra da karanlıkta 25°C'de inkübasyonu ile yapılmıştır. Koloninin ışınal gelişimi ölçülmüş ve biomass kuru ağırlığı tespit edilmiştir. *Suillus collinitus*, *Pisolithus arrhizus* ve *Hebeloma cylindrosporum* PDA veya Pintro'nun ortamı olmak üzere iki farklı kültür ortamında geliştirilmiştir. Glukoz konsantrasyonu, fosfat aktivitesi, biomass ve pH gibi parametreler ölçülmüştür.

González-Ochoa ve ark. (2003) İspanya'da iki Akdeniz çam türü (*Pinus halepensis* ve *Pinus pinaster*) ve 7 ektomikorizal mantar türü (*Pisolithus tinctorius*, *Lactarius deliciosus*, *L. sanguifluus*, *Suillus mediterraneensis*, *S. collinitus*, *S. bellinii* ve *Rhizopogon roseolus*) ile yaptıkları mikoriza çalışmasında sonbahar-kış döneminde toplanan mantar türlerinden izolatlar elde etmişler, bazılarını spor süspansiyonu oluşturmak için saklamışlardır. Çalışmada kültür ortamı olarak *Suillus* ve *Rhizopogon* türleri için MMN ve *Lactarius* türleri için BAF ortamı kullanılmıştır. Miseller önceden steril edilmiş sıvı ortamın bulunduğu 1 l'lik şişelerde geliştirilmiş ve 3 ay boyunca 23°C'de inkübe edilmiştir. Spor süspansiyonu ve misel inokulumu olmak üzere 2 farklı inokulum tipi kullanılmıştır. Fidan başına *Lactarius*, *Rhizopogon* ve *Suillus* türlerinden hazırlanan 10 ml misel inokulumu uygulanmıştır. Hem mikoriza oluşum hızı hem de fidan yüksekliği mantar türüne ve kullanılan inokulum tipine göre değişmekle birlikte genellikle en iyi sonuçlar besin takviyesi yapılan turba-vermikülit ortamından elde edilmiştir.

Santiago-Martinez ve ark. (2003) *Laccaria bicolor*'un misel gelişimini patates dekstroza agar (PDA), malt extract agar (MAE), Sabouraud's agar (SAB), Ingestad's agar (ING), modifiye edilen Melin-Norkrans agar (MMN), Hagem's agar (HG) ve Biotin-aneurin-folik asit agar (BAF) besin ortamlarında araştırmışlardır. En yüksek gelişim hızı ve koloni çapı MAE ve BAF ortamında gözlenirken, en yüksek biomass üretimi BAF ve SAB ortamında tespit edilmiştir. Bu mantarın *Pinus montezumae* ile *in vitro*daki mikoriza sentezi vermikülit, turba yosunu ve BAF sıvı ortamı karışımı içeren 1 litrelik şişelerde incelenmiştir.

Sundari ve Adholeya (2003) yaptıkları çalışmada ektomikorizal mantar izolatlarının optimal gelişim pH'larını belirlemeye çalışmışlardır. İncelenen izolatlardan Agaricales (*Laccaria laccata* hariç) ve Aphyllophorales üyeleri nötr ve nötre yakın pH'yı tercih ederken, Sclerodermatales takımının üyeleri asidik pH'yı tercih etmiştir. Yapılan deneyler ortam pH'sının yalnızca mantarın gelişim hızını değil, aynı zamanda mantarın ortamda daha fazla yayılmasını sınırlandırdığını da göstermiştir.

Sera koşullarında yenilebilir *Lactarius* türleri ile *Pinus pinaster* ve *P. sylvestris* fidanlarını aşılama da farklı metotlar değerlendirilmiştir. İnokulum üretimi

için mantar inokulasyonları hem *in vitro* saf kültür sentezinde hem de farklı teknikler kullanılarak doğrudan doğruya serada yapılmıştır. *L. deliciosus*'un 178 nolu irkının vejetatif inokulumu ile yapılan inokulasyonlar mikorizal fidanların üretiminde en etkili yöntem olarak belirlenmiştir. Bu irk ile inokule edilen tüm fidanlar, kolonizasyon hızları nispeten düşük olmasına rağmen kolonize olmuşlardır (Parlade ve ark., 2004).

Daza ve ark. (2006) *in vitro* kültürde *Amanita caesarea*'nın birkaç izolatına pH, sıcaklık, karbon ve azot kaynaklarının etkisini araştırmışlardır. En iyi misel gelişimi 24-28°C sıcaklıkta, pH 6-7'de sağlanmıştır. Çalışmada en iyi misel gelişimi için karbon kaynağı olarak mannitol ve glukoz, azot kaynağı olarak ise amonyumun kullanılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yenilebilir ektomikorizal gruba ait mantar türlerinin dünyanın en pahalı yiyecekler arasında yer almaları ve dünyada geniş bir pazara sahip olmaları nedeniyle kültüre alınması konusunda önemle durulmaktadır. Buna rağmen sadece birkaç tür başarılı olarak yetiştirilebilmekte, ancak bu miktarlar yeterli olmamaktadır. Sonuç olarak ticari olarak önemli çoğu yenilebilir ektomikorizal mantar türünün mevcut miktarı günümüzde hala doğadan hasat edilebilenlerle sınırlı kalmaktadır.

Gerek besin değeri gerekse taşıdığı tıbbi özellikler bakımından insan sağlığı açısından ve ticari olarak çok önemli olan bu ektomikorizal mantar türlerinin kültüre alınması ve yetiştiriciliği konusunda birçok çalışmaya ihtiyaç bulunmaktadır. Bu mantar türlerinin kültüre alınması özellikle orman alanlarının yeniden ağaçlandırılma çalışmalarına ve yatırım gücü olmayan küçük aile işletmeleri ile orman köylerine yeni iş imkanları yaratarak ülke ekonomisine önemli katkılar sağlayacaktır.

5. KAYNAKLAR

- Abbott, L.K., Robson, A.D., 1981. Infectivity and effectiveness of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi: effect of inoculum type. *Australian Journal of Agricultural Research*, 32: 631-639.
- Araujo, A.A., Hannibal, L., Plassard, C., Mousain, D., Roussos, S., 1998. Growth physiology of ectomycorrhizal fungi on solid media. "Ecology, Physiology and Cultivation of Edible Mycorrhizal Mushrooms" SLU (Swedish University of Agricultural Sciences), July 3-4, Uppsala, Sweden.
- Araujo, A.A., Roussos, S., 2002. A Technique for mycelial development of ectomycorrhizal fungi on agar media. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 98: 311-318.
- Bencivenga, M., Donnini, D., Tanfulli, M., Guiducci, M., 1995. Tecnica di campionamento delle radici e degli radicali per valutazione delle piante micorrizzate. *Mic. Ital.*, 2: 35-47.
- Castellano, M.A., Molina, R., 1989. Mycorrhizae. In: Landis, T.D., Tinus, R.W., McDonald, S.E. and Barnett, J.P. (eds.). *The Biological Components: Nursery Pests and Mycorrhizae*. In: ESTADOS UNIDOS. Department

- of Agriculture. The container tree nursery manual. pp. 101-171, Washington.
- Cherfas, J., 1991. Disappearing mushrooms: another mass extinction? *Science*, 254: 1458.
- Chevalier, G., Grente, J., 1978. Application pratique de la symbiose ectomycorrhizienne: production à grande échelle de plants mycorrhizes par la truffe (*Tuber melanosporum* Vitt.). *Mushroom Science*, 10: 483-505.
- Chevalier, G., Dupre, C., 1990. Recherche et experimentation sur la truffe et la trufficulture en France. In *Atti del Secondo Congresso Internazionale sul Tartufo* In: Bencivenga, M. and Granetti, B. (eds.), 157-166, Comunita Montana dei Monti Martani del Serano, Spoleto, Italy.
- Danell, E., 1994. Formation and growth of the ectomycorrhiza of *Cantharellus cibarius*. *Mycorrhiza*, 5: 89-97.
- Danell, E., Camacho, F.J., 1997. Successful cultivation of the golden chanterelle. *Nature*, 385: 303.
- Daza, A., Manjon, J.L., Camacho, M., Romero de la Osa, L., Aguilar, A., Santamaria, C., 2006. Effect of carbon and nitrogen sources, pH and temperature on *in vitro* culture of several isolates of *Amanita caesarea* (Scop.:Fr.) Pers. *Mycorrhiza*, 16 (2): 133-136.
- Debaud, J.C., Gay, G., 1987. *In vitro* fruiting under controlled conditions of the ectomycorrhizal fungus *Hebeloma cylindrosporum* associated with *Pinus pinaster*. *New Phytologist*, 105 (3): 429-435.
- Duplessis, S., Tagu, D., Martin, F., 2002. Living together underground, a molecular glimpse of the ectomycorrhizal symbiosis. In: Osiewacz, H.D. (ed.), *Molecular Biology of Fungal Development*, 297-323.
- Fischer, C., Colinas, C., 1996. Methodology for certification of *Quercus ilex* seedlings inoculated with *Tuber melanosporum* for commercial application. Poster Presentation at the 1st International Conference on Mycorrhizae. Berkeley, California, U.S.A.
- Fries, N., 1979. Germination of spores of *Cantharellus cibarius*. *Mycologia*, 71: 216-219.
- Fries, N., 1987. The third benefactors lecture: ecological and evolutionary aspects of spore germination in the higher basidiomycetes. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 88: 1-7.
- Fujita, H., Fujita, T., Ito, T., 1990. Study on cultivation technique of *Lyophyllum shimeji* using infected tree seedling. *Annual Report of the Forestry Experimental Station, Kyoto prefecture*, pp. 35.
- Godbout, C., Fortin, J.A., 1990. Cultural control of basidiome formation in *Laccaria bicolor* with container-grown white pine seedlings. *Mycol Res.*, 94: 1051-1058.
- González-Ochoa, A.I., Herasa, J., Torresb, P., Sánchez-Gómez, E., 2003. Mycorrhization of *Pinus halepensis* Mill. and *Pinus pinaster* Aiton seedlings in two commercial nurseries. *Ann. For. Sci.*, 60: 43-48.
- Guerin-Laguette, A., 1998. Les Lactaires a lait rouge: Mycorrhization contrôlée des pins et caractérisation moléculaire. Application a l'étude de la compétence écologique et de la compétitivité diisolats de *Lactarius deliciosus*. PhD thesis, Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier, University of Montpellier II, France.
- Guerin-Laguette, A., Plassard, C., Mousain, D., 2000. Effects of experimental conditions on mycorrhizal relationships between *Pinus sylvestris* and *Lactarius deliciosus* and unprecedented fruit-body formation of the Saffron milk cap under controlled soilless conditions. *Can. J. Microbiol.*, 46 (9): 790-799.
- Hall, I.R., Lyon, A.J.E., Wang, Y., Sinclair, L., 1998. Ectomycorrhizal fungi with edible fruiting bodies. 2. *Boletus edulis*. *Econ. Bot.*, 52: 44-56.
- Hall, I.R., Wang, Y., 1998a. Methods for Cultivating Edible Ectomycorrhizal Mushrooms. In: Varma, A. (ed.) *Mycorrhiza manual*. Springer, Berlin Heidelberg, New York, 99-114.
- Hall, I.R., Wang, Y., 1998b. Commercial production of *Tuber melanosporum* in New Zealand. Abstracts of the Second International Conference on Mycorrhiza. Uppsala, Sweden, 5-10 July, pp. 77-78.
- Hall, I.R., Wang, Y., Danell, E., Zambonelli, A., 2002. Edible mycorrhizal mushrooms and their cultivation. Proceedings of the Second International Conference on Edible Mycorrhizal Mushrooms, CD-ROM, New Zealand Institute for Crop and Food Research Limited.
- Hall, I.R., Yun, W., Amicucci, A., 2003. Cultivation of edible ectomycorrhizal mushrooms. *Trends In Biotechnology*, 21 (10): 433-438.
- Harris, M., Jurgensen, M., 1977. Development of *Salix* and *Populus* mycorrhizae in metallic mine tailings. *Plant Soil*, 47: 509-517.
- Harvey, L.M., 1991. Cultivation techniques for the production of ectomycorrhizal fungi. *Biotechnol Adv.*, 9 (1): 13-29.
- Helm, D., Carling, D., 1990. Use of on-site mycorrhizal inoculum for plant establishment on abandoned mined lands. Bureau of Mines contract report. Palmer, Alaska.
- Hutchison, L.J., 1999. *Lactarius*. In: Cairney, J.W.G. and Chamber, S.M. (eds.), *Ectomycorrhizal Fungi Key Genera In Profile*. Chapter 11, 269-285.
- Isaac, S., 1992. *Fungal Plant Interactions*. Chapman and Hall, London, UK, p. 418.
- Lefevre, C., Hall, I.R., 2001. In the global status of truffle cultivation. Proceedings of the Fifth International Congress on Hazelnut (556). In: Mehlenbacher, S.A. (ed.), *Acta Hort.*, pp. 513-520.
- Kagan-Zur, V., 2002. *Tuber melanosporum* research in Israel. In *Edible Mycorrhizal Mushrooms and Their Cultivation*. Proceedings of the Second International Conference on Edible Mycorrhizal Mushrooms, CD-ROM. In: Hall, I.R. et al. (eds.), New Zealand Institute for Crop and Food Research Limited.
- Lilleskov, E.A., Fahey, T.J., Horton, T.R., Lovett, G.M., 2002. Belowground ectomycorrhizal fungal community change over a nitrogen deposition gradient in Alaska. *Ecology*, 83: 104-115.
- Marx, D.H., Kenny, D., 1982. Production of ectomycorrhizal fungus inoculum. Ch. in *Methods and principles of mycorrhizal research*. The American Phytopathological Society, St Paul, Minn., pp. 131-146.
- Marx, D.H., Bell, W., 1985. Formation of *Pisolithus* ectomycorrhizae on loblolly pine seedlings with spore pellet inoculum applied at different times. *U.S.D.A For. Serv. Res. Pap.* SE-249.
- Marx, D.H., Cordell, C.E., Maul, S.B., Ruehle, J.L., 1989. Ectomycorrhizal development on pine by *Pisolithus tinctorius* in bare-root and container seedling nurseries. *New Forests*, Volume 3, Number 1.
- Marx, D.H., 1991. The practical significance of ectomycorrhizae in forest establishment. In: *Ecophysiology of ectomycorrhizae of forest trees*. Marcus Wallenberg Foundation Symposia Proceedings 7: 27. Marcus Wallenberg Foundation, Falun, Sweden, pp. 54-90.
- Marx, D.H., Maul, S.B., Cordell, C.E., 1992. Application of specific ectomycorrhizal fungi in world forestry. In:

- Leatham G.F. (ed.) *Frontiers in Industrial Mycology*. Chapman and Hall, New York, pp. 78-98.
- Menge, J., Timmer, L., 1982. Procedures for inoculation of plants with vesicular-arbuscular mycorrhizae in the laboratory, greenhouse and field. Ch. in methods and principles of mycorrhizal research. The American Phytopathological Society. pp. 59-68.
- Molina, R., 1979. Ectomycorrhizal inoculation of containerized Douglas-fir and lodgepole pine seedlings with six isolates of *Pisolithus tinctorius*. *For. Sci.*, 25: 585-590.
- Morte, A. Lovisolò, C., Schubert, A., 2000. Effect of drought stress on growth and water relations of the mycorrhizal association *Helianthemum almeriense-Terfezia clavervyi*. *Mycorrhiza*, 10: 115-119.
- Norland, M., 1993. Soil factors affecting mycorrhizal use in surface mine reclamation. Bureau of mines information circular. United States Department of the Interior.
- Ohta, A., 1994a. Production of fruit-bodies of a mycorrhizal fungus, *Lyophyllum shimeji*, in pure culture. *Mycoscience*, 35: 147-151.
- Ohta, A., 1994b. Some cultural characteristics of mycelia of a mycorrhizal fungus, *Lyophyllum shimeji*. *Mycoscience*, 35: 83-87.
- Ohta, A., 1998. Fruit-body production of two ectomycorrhizal fungi in the genus *Hebeloma* in pure culture. *Mycoscience*, 39: 15-19.
- Olivier, J.M., 2000. Progress in the cultivation of truffles. In *Mushroom Science XV: Science and Cultivation of Edible Fungi* (Vol. 2) Balkema, 937-942.
- Pacioni, G., Comandini, O., 2000. Tuber. In *Ectomycorrhizal Fungi: Key Genera in Profile*. In: Cairney, J.W.G. and Chambers, S.M. (Eds.). Springer Verlag, pp. 63-186.
- Palmer, J.G., 1971. Techniques and procedures for culturing ectomycorrhizal fungi. Pages 162-144. In: Hacskaylo, E. (ed.). *Mycorrhiza*. USDA Misc. Publ. 1189. pp. 255.
- Parlade, J., Pera, J., Luque, J., 2004. Evaluation of mycelial inocula of edible *Lactarius* species for the production of *Pinus pinaster* and *P. sylvestris* mycorrhizal seedlings under greenhouse conditions. *Mycorrhiza*, 14: 171-176.
- Pekşen, A.U., Hatat, G., Erper, İ., 1999. Bazı doğa mantarları ve *Pleurotus sajor-caju* (Lev.) Sing.'nun misel gelişimine farklı ortam ve uygulamaların etkisi. *O.M.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 14 (3): 44-53.
- Poitou, N., Mamoun, M., Ducamp, M., Delmas, J., 1984. After *Boletus granulatus*, *Lactarius deliciosus* fructification is obtained in the field from inoculated plants. *PHM Revue Horticole*, 244: 65-68.
- Redecker, D., Szaro, T.M., Bowman, R.J., Bruns, T.D., 2001. Small genets of *Lactarius xanthogalactus*, *Russula cremoricolor* and *Amanita francheti* in late-stage ectomycorrhizal successions. *Mol. Ecol.*, 10: 1025-1034.
- Riffle, J.W., 1977. Ectomycorrhizal inoculation of nursery seedbeds and container growing media. *Proc. Intermountain Nurserymen's Assoc.* 73-85.
- Riffle, J., Maronek, D., 1982. Ectomycorrhizal inoculation procedures for greenhouse and nursery studies. Ch. in methods and principles of mycorrhizal research. The American Phytopathological Society. pp. 147-156.
- Riffle, J. W., Maronek, D.M., 1991. Ectomycorrhizal inoculation procedures for greenhouse and nursery studies. In: *Methods and Principles of Mycorrhizal Research*. In: Schenck, N.C. (ed.), APS Press, St. Paul, Minnesota.
- Rincón, A., Alvarez, I. F., Pera, J., 2001. Inoculation of containerized *Pinus pinea* L. seedlings with seven ectomycorrhizal fungi. *Mycorrhiza*, 11 (6): 265-271.
- Sanchez, F., Honrubia, M., Torres, P., 2000. Cultural characteristics of some ectomycorrhizal fungi in pure culture. *Rev Iberoam Micol.*, 17 (4): 127-134.
- Sanchez, F., Honrubia, M., Torres, P., 2001. Effects of pH, water stress and temperature on *in vitro* cultures of ectomycorrhizal fungi from Mediterranean forests. *Mycologie*, 22 (4): 243-258.
- Santiago-Martinez, G., Estrada-Torres, A., Varela, L., Herrera, T., 2003. Growth on seven nutritive media and *in vitro* synthesis of one strain of *Laccaria bicolor*. *Agrociencia*, 37 (6): 575-584.
- Sisti, D., Giomaro, G., Rossi, I., Ceccaroli, P., Citterio, B., Stocchi, V., Zambonelli, A., Benedetti, P.A., 1998. *In vitro* mycorrhizal synthesis of micropropagated *Tilia platyphyllos* Scop. plantlets with *Tuber borchii* Vittad. mycelium in pure culture. *Acta Hort.*, 457: 379-387.
- Straatsma, G., Konings, R.N.H., Griensven, L.J.L.D. van, 1985. A strain collection of the mycorrhizal mushroom *Cantharellus cibarius* obtained by germination of spores and culture of fruit body tissue. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 85 (4): 689-697.
- Straatsma, G., Griensven, L.J.L.D. van, 1986. Growth requirements of mycelial cultures of the mycorrhizal mushroom *Cantharellus cibarius*. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 87 (1): 135-141.
- Sundari, K.S., Adholeya, A., 2003. Growth profile of ectomycorrhizal fungal mycelium: emphasis on substrate pH influence. *Antonie van Leeuwenhoek*, 83 (3): 209-214.
- Suzuki, A., 1979. General review on environmental factors affecting primordium formation in Homobasidiaceae. *Trans. Mycol. Soc. Jpn.*, 20: 253-265.
- Yamada, A., Ogura, T., Ohmasa, M., 2001. Cultivation of mushrooms of edible ectomycorrhizal fungi associated with *Pinus densiflora* by *in vitro* mycorrhizal synthesis I. Primordium and basidiocarp formation in open-pot culture. *Mycorrhiza*, 11 (2): 59-66.
- Visser, S., 1995. Ectomycorrhizal fungal succession in jack pine stands following wildfire. *New Phytol.*, 129: 389-401.
- Wang, Y., Hall, I.R., Evans, L.A., 1997. Ectomycorrhizal fungi with edible fruiting bodies 1. *Tricholoma matsutake* and related fungi. *Econ. Bot.*, 51: 311-327.
- Wang, B., 2000. A study on the cultivation of edible mycorrhizal fungi *in vitro*. Development and Research Centre of Edible Fungi, Sichuan Academy of Agricultural Sciences. Chengdu, Sichuan, China.
- Wang, Y., Hall, I.R., Dixon, C., Stephen, M., 2001. Potential for the cultivation of *Lactarius deliciosus* (L.:Fr.) S.F. Gray in New Zealand. Third International Conference on Mycorrhizas 8-13th July (inclusive) 2001, Adelaide Convention Centre, Adelaide, Australia.
- Wang, Y., Hall, R.I., Dixon, C., 2002. The cultivation of *Lactarius deliciosus* (saffron milk cap) and *Rhizopogon rubescens* (shoro) in New Zealand. In *Edible Mycorrhizal Mushrooms and their Cultivation*, Proceedings of the Second International Conference on Edible Mycorrhizal Mushrooms, CD-ROM. In: Hall, I.R. et al. (eds.), New Zealand Institute for Crop and Food Research Limited.
- Wang, Y., Hall, R., 2004. Edible ectomycorrhizal mushrooms: challenges and achievements. *Can. J. Bot.*, 82 (8): 1063-1073.