

Bazı Makrofungus Türlerine Ait Misellerin Farklı Kültür Ortamlarındaki Gelişim Hızlarının Belirlenmesi

Fatih KALYONCU^{1*}, Erbil KALMIŞ², M. Halil SOLAK³

¹Celal Bayar Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü – Muradiye / MANİSA

²Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü - Bornova / İZMİR

³Muğla Üniversitesi, Ali Koçman M.Y.O., Mantarcılık Programı - Ula / MUĞLA

Alınış tarihi:25.04.2008, Kabul tarihi:09.09. 2008

Özet: Bu çalışmada Türkiye'nin Akdeniz Bölgesi'nden toplanan 8 farklı makrofungus türüne (*Gloeophyllum trabeum*, *Inocybe flocculosa* var. *crocifolia*, *Omphalotus olearius*, *Postia stiptica*, *Fomes fomentarius*, *Meripilus giganteus*, *Morchella hortensis*, *Collybia dryophyla*) ait misellerin farklı içerikteki besiyerlerinde sergiledikleri büyüme değerleri araştırılmıştır. Besiyeri olarak; Patates Dekstroz Agar (PDA), Hagem ortamı (HO), Minimal ortam (MO) ve Malt Ekstrakt Agar (MEA) kullanılmıştır. Petri kabı içinde bulunan besiyerlerine stok kültürlerden misel aşılması yapılmış ve belli aralıklar ile koloni çapları ölçülmüştür. Çalışma sonucunda her bir şapkalı mantar türü için farklı büyüme değerleri saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Makrofungus, Misel gelişimi, Akdeniz Bölgesi, Türkiye

Determination of Mycelial Growth Rate of Some Macrofungi Species in Different Culture Medium

Abstract: In this study, growth rates of mycelium of eight macrofungi species (*Gloeophyllum trabeum*, *Inocybe flocculosa* var. *crocifolia*, *Omphalotus olearius*, *Postia stiptica*, *Fomes fomentarius*, *Meripilus giganteus*, *Morchella hortensis*, *Collybia dryophyla*) obtained from the Mediterranean Region of Turkey were investigated in different culture medium. Potato Dextrose Agar (PDA), Hagem medium (HO), Minimal medium (MO) and Malt Extract Agar (MEA) were used as media. Mycelium from stock cultures was inoculated on culture medium in Petri dishes. Mycelial growth rate was measured in different periods. Various mycelial growth rates were determined for different macrofungi species.

Keywords: Macrofungi, Mycelial growth, Mediterranean Region, Turkey

Giriş

Makrofungus türleri eski çağlardan beri özellikle Uzak Doğu ülkelerinde bir gıda maddesi veya doğal ilaç olarak kullanılmaktadır. Karbonhidrat ve yağ içeriklerinin pek çok besine göre düşük olması sebebiyle sağlıklı bir beslenme rejimi için aranan özelliklere sahiptirler (Diyabalanağ vd., 2008). Günümüze değin yapılan birçok bilimsel çalışma sonucunda da değişik makrofungus türlerinin antioksidan, antimikrobiyal, antialerjik ve antitümör aktivitelerinin olduğu ortaya konulmuştur (Boh vd., 2007; White vd., 2002; Solak vd., 2006). Bu açıdan bakıldığında makrofungusların bünyelerinde bazı biyolojik aktif bileşikler bulunduğunu ve bu maddelerin insan sağlığı için önemli olduğu ortadadır. Yenilebilir şapkalı mantar türleri bilim çevreleri ve diyetisyenler tarafından sağlıklı bir gıda maddesi olarak topluma tavsiye edilmektedir (Wasser ve Weis, 1999).

Ülkemizde yaklaşık 2400 civarındaki makrofungus türleri içinde (Solak vd., 2007) yenilebilir türlerin kültüre alınması çalışmaları hızlı bir şekilde devam etmektedir. Ancak kültürü yapılamayan türler sadece belli mevsimlerde doğadan toplanarak tüketilebilmektedir. Doğal ortamından toplanan yabancı şapkalı mantar türlerinden laboratuvar şartlarında misel elde edilmekte ve bu miseller üzerinde birçok farklı bilimsel çalışmalar gerçekleştirilmektedir. Böyle bir

uygulama ile arazi şartlarına bağlı kalınmanın kısmen önüne geçilmiştir. Birçok ülkede farklı makrofunguslara ait misel kültür koleksiyonları oluşturulmuştur. Ülkemizde de bir Tübitak projesi kapsamında (104T236 numaralı proje) Akdeniz bölgesi makrofunguslarına ait bir misel kültür koleksiyonu oluşturulmaktadır.

Miseller ile yapılacak farklı çalışmalar için, özellikle sıvı kültürde yüksek miktarda misel elde edilmesi (biomass) temel hedefdir. Kullanılacak ortamın içeriği, pH değeri, sıcaklık gibi parametreler aktif misel gelişiminde önemlidir. Bu çalışmada kültür koleksiyonumuzda bulunan bazı yabancı şapkalı mantar türlerine ait misellerin büyüme hızlarına bakılmıştır. Patates Dekstroz Agar (PDA), Hagem ortamı (HO), Minimal ortam (MO) ve Malt Ekstrakt Agar (MAE) ortamlarına ekilen misellerin zaman içinde ne kadar büyüme gösterdikleri tespit edilmeye çalışılmıştır.

Materyal ve Metot

Fungal Organizmalar

Denemelerde miselleri kullanılan makrofungus türleri ile ilgili bilgiler Çizelge 1'de verilmiştir. Çalışmada kullanılan tüm misel kültürleri Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü'nde bulunan makrofungus kültür koleksiyonunda saklanmaktadır.

Çizelge 1. Miselleri kullanılan yabancı şapkalı mantar türleri

Koleksiyon Kodu	Organizmanın İsmi	Toplandığı Yer
MCC-09	<i>Collybia dryophila</i> (CD)	Muğla-Fethiye
MCC-19	<i>Fomes fomentarius</i> (FF)	Isparta-Şarkıkaraağaç
MCC-05	<i>Gloeophyllum trabeum</i> (GT)	Muğla-Fethiye
MCC-06	<i>Inocybe flocculosa</i> var. <i>crocifolia</i> (IF)	Osmaniye-Merkez
MCC-08	<i>Meripilus giganteus</i> (MG)	Isparta-Eğirdir
MCC-04	<i>Morchella hortensis</i> (MH)	Antalya-Kaş
MCC-03	<i>Omphalotus olearius</i> (OO)	Muğla-Fethiye
MCC-13	<i>Postia stiptica</i> (PS)	Antalya-Alanya

MCC:Macrofungi culture collection

Besiyerleri

Değişik besiyerlerinde misel büyüme hızını tespit edebilmek için; Patates Dekstroz Agar (PDA) (Merck, 1.10130.0500), Hagem ortamı (HO) (Malt ekstraktı 4 g, maya ekstraktı 1 g, D-glukoz 5 g, NH₄Cl 0,5 g, KH₂PO₄ 0,5 g, MgSO₄ 7H₂O 0,5 g, %1 FeCl₃ solüsyonundan 0,5 ml, 100 ppm Thiamin solüsyonundan 0.125 ml, distile su 1000 ml. pH 5.40 – 5.50) (Dighton, 1983), minimal ortam (Kirk's Bazal Ortam; üre 0.036 g, KH₂PO₄ 2 g, MgSO₄ 7H₂O 0,5 g, CaCl₂ 0.099 g, D-Glukoz 1 g, distile su 1000 ml. pH 5.20 – 5.40) (Kirk ve Yang, 1979) ve Malt Ekstrakt Agar (MEA) (Merck, 1.05398.0500) kullanılmıştır.

İnokulasyon ve Misel Büyüme Hızı Ölçümü

Hazırlanan besiyerleri otoklavda (121°C, 15 d) sterilize edildikten sonra steril kabin içerisinde 90 mm çaplı steril Petri kaplarına 20'şer ml dökülmüştür. Daha sonra katılan besiyerlerinin orta noktasına standart 6 mm çapında misel parçaları ilave edilmiştir. İnkübatörde 24–25°C derecede inkübasyona bırakılan Petri kaplarındaki misel büyüme hızı (mm cinsinden) ikişer günlük aralıklarla otuzuncu güne kadar ölçülmüştür. Tüm denemeler 3 tekrarlı yapılmış ve ölçüm sonuçlarının aritmetik ortalaması alınmıştır (Kalmış vd., 2007).

Sonuçlar ve Tartışma

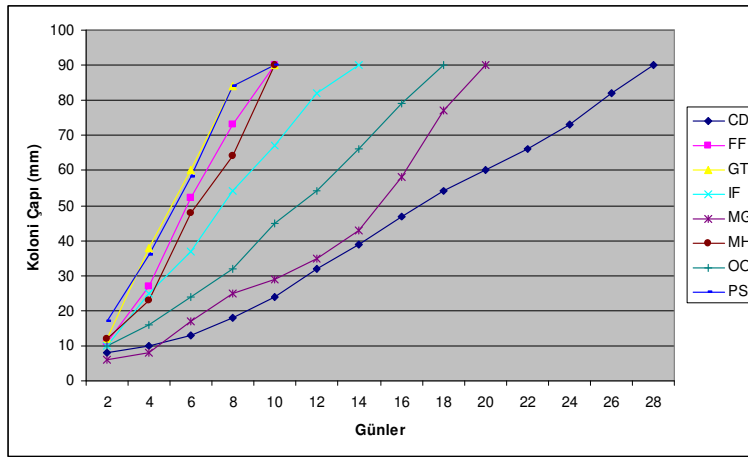
Farklı içerikteki besiyerlerine aktarılan yabancı makrofungus miselleri farklı büyüme değerleri sergilemişlerdir. Her bir türe ait misel gelişim verileri Çizelge 2'de verilmiştir. Kullanılan 4 farklı besiyeri içinde en yavaş misel gelişimleri minimal ortamda (MO) gözlenmiştir. Denemeye alınan türler içinde *Collybia dryophyla* miselleri inkübasyonun 30. gününde MO ortamında Petri kabının ancak yarısını kaplayabilmiştir. MO ortamı mantar miselleri için minimal seviyede besin içermektedir ve birçok mantar türü bu ortamda metabolizmasını yavaşlatarak minimal beslenmeye geçmektedir. Bu sebepten kültürlerin +4°C derecede

saklanması işleminde bu ortamın kullanılabilirliği tavsiye edilmektedir (Cevera ve Belt, 1996; Smith ve Onions, 1994). Bu çalışmada denemeye alınan tüm türler için MO ortamında misel büyümesinin, diğer ortamlara göre nispeten yavaş olduğu tespit edilmiştir.

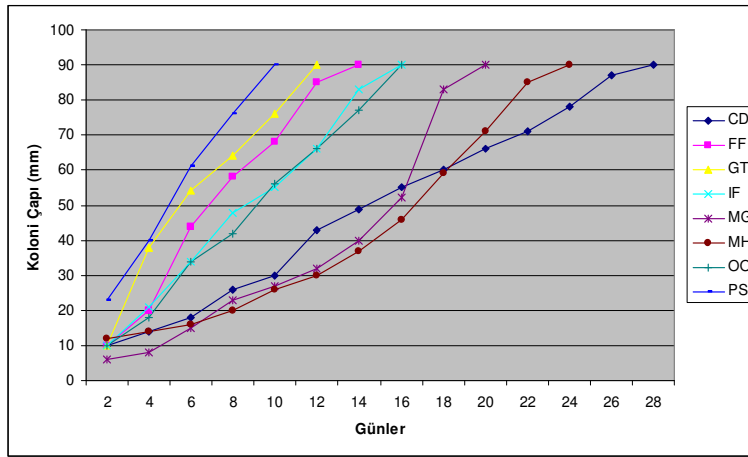
Bu çalışmada kullanılan *Fomes fomentarius*, *Gloeophyllum trabeum* ve *Postia stiptica* gibi güçlü odun tahripçisi mantarların miselleri kısa sürede bütün besiyerlerinde hızlı misel gelişimi göstermişlerdir. Besiyerlerinde hızlı misel gelişimi Şekil 1–4'de sunulan grafiklerde daha iyi gözlenebilmektedir. Odun tahripçisi mantarlar olarak isimlendirilen türlerde güçlü enzim aktiviteleri yapılan çalışmalar ile tespit edilmiştir ve bu enzimler sayesinde sert odun dokusu içinde miseller kolaylıkla beslenebilmektedir (MacKenzie vd., 1993; Evans vd., 1991). MO besiyerinde minimal besin elementleri olmasına rağmen bu türler doğaları gereği az besin maddesi ile ortamı mümkün olduğu kadar hızlı bir sürede istila etmektedirler. Ancak *Meripilus giganteus* bir odun tahripçisi mantar türü olmasına rağmen besiyerlerinde daha yavaş bir misel ilerlemesi göstermiştir.

PDA ve MEA besiyerlerinde misel gelişim hızları hemen hemen yakın bulunmuştur. *Omphalotus olearius* türünde PDA ortamında MEA ortamına göre daha hızlı bir gelişim belirlenmiştir. HO ortamı ise içerik açısından birçok besin elementini içermektedir, özellikle maya, malt unu, glikoz gibi farklı karbon kaynaklarını içeren bir ortamdır. Bu ortam özellikle mikorizal mantarların misellerini yaşatmak için kullanılmaktadır. Bu tür mantarlar simbiyotik ilişkiden dolayı birçok besin elementini ortamdan hazır almaktadırlar (Gai vd., 2006). Miseller bulunduğu ortamda besin maddelerinin çokluğundan dolayı daha yavaş gelişme göstermiş olabileceğini düşünmekteyiz.

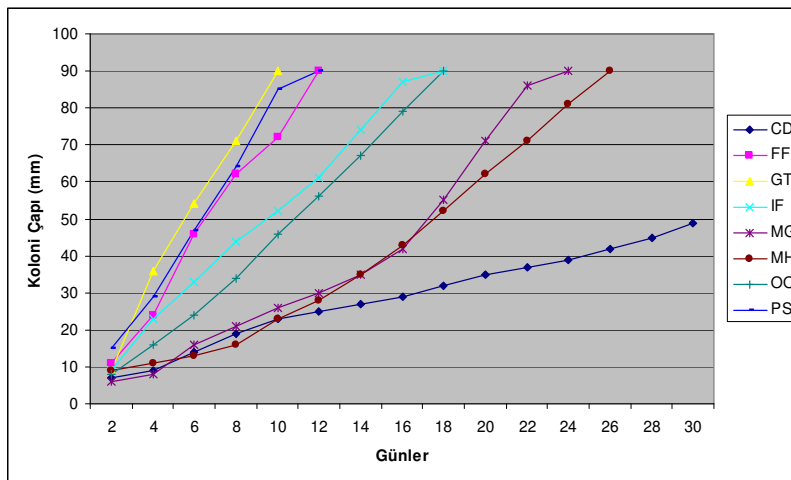
Bu çalışma ile sekiz adet şapkalı mantar miselinin minimal besin içeren ortamlarda hayatlarını devam ettirebildikleri ve türlerin doğal yapılarına göre buldukları ortama farklı tepki verdikleri gösterilmiştir.



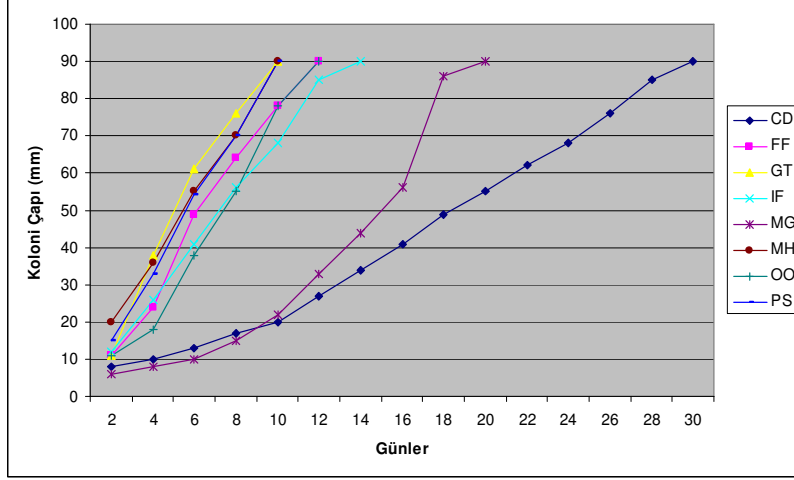
Şekil 1. PDA besiyerinde her bir türe ait misellerin gelişim hızları



Şekil 2. Hagem besiyerinde her bir türe ait misellerin gelişim hızları



Şekil 3. Minimal ortamda her bir türe ait misellerin gelişim hızları



Şekil 4. MEA besiyerinde her bir türe ait misellerin gelişim hızları

CD: *Collybia dryophyla*

MH: *Morchella hortensis*

FF: *Fomes fomentarius*

OO: *Omphalotus olearius*

GT: *Gloeophyllum trabeum*

PS: *Postia stiptica*

MG: *Meripilus giganteus*

IF: *Inocybe flocculosa var. crocifolia*

Çizelge 2. Yabani şapkallı mantar misellerinin günlere göre farklı besiyerlerindeki gelişim değerleri (Ømm)

	<i>C. dryophyla</i>				<i>F. fomentarius</i>				<i>G. trabeum</i>				<i>I. flocculosa</i>				<i>M. giganteus</i>				<i>M. hortensis</i>				<i>O. olearius</i>				<i>P. stiptica</i>					
Besiyerleri																																		
Günler	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D		
2	8	10	7	8	11	10	11	11	12	10	9	11	10	10	9	12	6	6	6	6	12	12	9	20	10	10	8	11	17	23	15	15		
4	10	14	9	10	27	20	24	24	38	38	36	38	25	21	23	26	8	8	8	8	3	14	11	36	16	18	16	18	36	40	29	33		
6	13	18	14	13	52	44	46	49	60	54	54	61	37	34	33	41	17	15	16	10	48	16	13	55	24	34	24	38	58	61	47	54		
8	18	26	19	17	73	58	62	64	84	64	71	76	54	48	44	56	25	23	21	15	64	20	16	70	32	42	34	55	84	76	64	70		
10	24	30	23	20	90	68	72	78	90	76	90	90	67	55	52	68	29	27	26	22	90	26	23	90	45	56	46	78	90	90	85	90		
12	32	43	25	27		85	90	90		90			82	66	61	85	35	32	30	33		30	28		54	66	56	90			90			
14	39	49	27	34		90							90	83	74	90	43	40	35	44		37	35		66	77	67							
16	47	55	29	41										90	87		58	52	42	56		46	43		79	90	79							
18	54	60	32	49											90		77	83	55	86		59	52		90		90							
20	60	66	35	55													90	90	71	90		71	62											
22	66	71	37	62															86			85	71											
24	73	78	39	68																90		90	81											
26	82	87	42	76																			90											
28	90	90	45	85																														
30			49	90																														

A: Patates Dekstroz Agar; B: Hagem Ortamı; C: Minimal Ortam; D: Malt Ekstrakt Agar.

Kaynaklar

- Boh, B., Berovic, M., Zhang, J., Zhi-Bin, L. 2007. *Ganoderma lucidum* and its Pharmaceutically Active Compounds. *Biotechnology Annual Review*, 13, 265–301.
- Cevera, J. C., Belt, A. 1996. *Maintaining Cultures for Biotechnology and Industry*. Academic Press, New York.
- Dighton, J. 1983. Phosphatase Production by Mycorrhizal Fungi. *Plant and Soil*, 71, 455–462.
- Diyabalanage, T., Mulabagal, V., Mills, G., DeWitt, D. L., Nair, M.G. 2008. Health-Beneficial Qualities of the Edible Mushroom, *Agrocybe aegerita*. *Food Chemistry*, 108, 97–102.
- Evans, C. S., Gallagher, I. M., Atkey, P. J., Wood, D. A. 1991. Localisation of Degradative Enzymes in White-rot Decay of Lignocellulose. *Biodegradation*, 2, 93–106.
- Gai, J.P., Christie, P., Feng, G., Lu, X.L. 2006. Twenty Years of Research on Community Composition and Species Distribution of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in China: a review. *Mycorrhiza*, 16, 229–239.
- Kalmış, E., Azbar, N., Kalyoncu, F. 2006. Agar-Plate Screening for Textile Dye Decolorisation by White-Rot Fungi *Pleurotus* Species (*Pleurotus cornucopiae* var. *citrino-pileatus*, *P. djamor*, *P. eryngii*, *P. ostreatus* and *P. sajor-caju*). *Fresenius Environmental Bulletin*, 16, 1309–1314.
- Kirk, T. K., Yang, H.H. 1979. Partial Delignification of Unbleached Kraft Pulp with Ligninolytic Fungi. *Biotechnology Letters*, 1, 347–352.
- MacKenzie, D.A., Jeenes, D.J., Belshaw, N.J., Archer, D. B. 1993. Regulation of Secreted Protein Production by Filamentous Fungi: Recent Developments and Perspectives. *Journal of General Microbiology*, 139, 2295–2307.
- Smith, D., Onions, A.H.S. 1994. *The Preservation and Maintenance of Living Fungi*. 2nd ed., CAB International. Wallingford, Oxon, England.
- Solak, M. H., Kalmis, E., Saglam, H., Kalyoncu, F. 2006. Antimicrobial Activity of Two Wild Mushrooms *Clitocybe alexandri* (Gill.) Konr. and *Rhizopogon roseolus* (Corda) T.M. Fries Collected from Turkey. *Phytotherapy Research*, 20, 1085–1087.
- Solak, M. H., Işiloğlu, M., Kalmış, E., Allı, H. 2007. *Macrofungi of Turkey, Checklist*. Üniversiteliler Basımevi, İzmir.
- Wasser, S.P., Weis, A.L. 1999. Medicinal Properties of Substances Occuring in Higher Basidiomycetes Mushrooms: Current Perspectives (review). *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 1, 31–62.
- White, R.W., Hackman, R.M., Soares, S.E., Beckett, L. A., Sun, B. 2002. Effects of a Mushroom Mycelium Extract on the Treatment of Prostate Cancer. *Urology*, 60, 640–644.