

Makrofungus Tür Çeşitliliğinin Miselyal Kompozit Performansına Etkisi

Aylin AKDERE

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı

Mayıs 2025

The Effect of Macrofungal Species Diversity on Mycelial Composite Performance

Aylin AKDERE

MASTER OF SCIENCE THESIS

Department of Biology

May 2025

Makrofungus Tür Çeşitliliğinin Miselyal Kompozit Performansına Etkisi

Aylin AKDERE

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği Uyarınca

Biyoloji Anabilim Dalı

Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Bilim Dalında

YÜKSEK LİSANS TEZİ

olarak hazırlanmıştır.

Danışman: Prof. Dr. Mustafa Yamaç

“Bu tez Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından 1001 Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Projelerini Destekleme Programı tarafından 123Z265 numaralı proje kapsamında desteklenmiştir.”

ONAY

Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi **Aylin AKDERE**'nin YÜKSEK LİSANS tezi olarak hazırladığı “Makrofungus Tür Çeşitliliğinin Miselyal Kompozit Performansına Etkisi” başlıklı bu çalışma, jürimizce lisansüstü yönetmeliğın ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek oybirliğı ile kabul edilmiştir.

Danışman : Prof. Dr. Mustafa Yamaç

İkinci Danışman : -

Yüksek Lisans Tez Savunma Jürisi:

Üye: Prof. Dr. Mustafa YAMAÇ

Üye: Prof.Dr. Buket KUNDUHOĞLU

Üye: Prof.Dr. Nalan YILMAZ SARIÖZLÜ

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun tarih ve
..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr.

Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre, Prof. Dr. Mustafa Yamaç danışmanlığında hazırlamış olduğum “Makrofungus Tür Çeşitliliğinin Miselyal Kompozit Performansına Etkisi” başlıklı Yüksek Lisans tezimin özgün bir çalışma olduğunu; tez çalışmamın tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallarına uygun davrandığımı; tezimde verdiğim bilgileri, verileri akademik ve bilimsel ilke ve kurallara uygun olarak elde ettiğimi; tez çalışmamda yararlandığım eserlerin tümüne atıf yaptığımı ve kaynak gösterdiğimi ve bilgi, belge ve sonuçları bilimsel etik ilke ve kurallara göre sunduğumu beyan ederim. 22/05/2025

Aylin AKDERE

İmza

ÖZET

Bu çalışma, miselyal kompozit üretiminde kullanılacak fungus türünün seçimi için uygun parametrelerin belirlenmesi ve seçilen iki makrofungus türü ile miselyal kompozit üretimi olarak iki iş paketinden oluşmaktadır. Birinci iş paketinde farklı hif yapısı ve çürüklük tipine sahip 72 farklı fungus türünün meşe talaşı üretim ortamında gelişme özellikleri dikkate alınarak miselyal kompozit üretimi için kullanılabilirliği sorgulanmıştır. Bu aşamada türler arası ve tür içi çeşitliliğin miselyal kompozit üretimi için önemi araştırılmıştır. Tarama çalışması sonucunda yapılan istatistiksel analizler trimitik ve beyaz çürükçül fungusların meşe talaşı ortamından daha başarılı olduğunu göstermiştir. İkinci iş paketinde ise, seçilen *Lentinus tigrinus* SV 12 ve *Ganoderma resinaceum* SV 19 türleri ile miselyal kompozit üretilmiştir. Miselyal kompozit üretimi aşamasında üretim ortamı olarak %50 meşe talaşı - %50 meşe yongası kullanılmıştır. Üretilen kompozitin biyolojik, kimyasal, fiziksel ve mekaniksel özellikleri araştırılmıştır.

Yapılan analizler sonucunda *Ganoderma resinacum* SV 19 kullanılarak üretilen miselyal kompozitin yoğunluk ve basınç değerlerinin daha başarılı olduğu değerlendirilmiştir. Bu nedenle *Ganoderma resinacum* SV 19 türünün gelecekte ürün odaklı çalışmalarda kullanılmaya aday bir tür olduğu belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Makrofungus, Meşe talaşı, Misel, Miselyal kompozit

SUMMARY

This study comprises two work packages: the first aims to determine appropriate parameters for the selection of fungal species to be used in mycelial composite production, and the second involves the production of mycelial composites using two selected macrofungal species. In the first work package, the growth characteristics of 72 different fungal species with diverse hyphal systems and decay types were evaluated in an oak sawdust-based cultivation medium to assess their potential for mycelial composite production. At this stage, the importance of both interspecific and intraspecific diversity in the context of mycelial composite production was investigated. Statistical analyses conducted on the screening data revealed that trimitic and white-rot fungi performed more successfully in the oak sawdust substrate. In the second work package, mycelial composites were produced using two selected fungal species: *Lentinus tigrinus* SV 12 and *Ganoderma resinaceum* SV 19. A substrate consisting of 50% oak sawdust and 50% oak chips was used for the production process. The biological, chemical, physical, and mechanical properties of the resulting composites were comprehensively analyzed.

Based on the analyses, the mycelial composite produced with *Ganoderma resinaceum* SV 19 demonstrated superior performance in terms of density and compressive strength. Therefore, *Ganoderma resinaceum* SV 19 has been identified as a promising candidate for future product-oriented applications.

Keywords: Macrofungi, Oak sawdust, Mycelium, Mycelial composite.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım süresince, maddi ve manevi desteğini esirgemeyen ve değerli bilgileriyle çalışmama yön veren danışman hocam Sayın Prof. Dr. Mustafa YAMAÇ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tür içi çeşitliliğin araştırmasında izolatlarını paylaşan Sayın Dr. Mustafa Kemal SOYLU'ya, çalışılan türlerin geleneksel yöntemlerle teşhis eden Sayın Prof. Dr. Hasan Hüseyin DOĞAN'a, moleküler olarak teşhis edilen türlerin dendrogramlarını oluşturan Doç. Dr. Bükay YENİCE GÜRSU'ya, karakterizasyon çalışmaları için gerekli analizlerin yapılması sırasındaki katkıları için Sayın Prof. Dr. Ender SUVACI ve Sayın Prof. Dr. Murat KORU'ya teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen Bahar Gülce KORKMAZ KAHVECİ, Beril Ece KAPLAN, Rüveyda TERCAN, Irmak NURALI, Arzu ŞEN, Yağız İLKAN'a teşekkür ederim.

Çalışma kapsamında laboratuvarının kapılarını açan Sayın Prof. Dr. Güler ÇOLAK'a, bu tezde kullanılan sonuçların istatistiksel analizinde desteğini sunan Sayın Prof. Dr. Zeki YILDIZ'a yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Bu tez çalışması, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından 1001 Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Projelerini Destekleme Programı kapsamında desteklenen 123Z265 numaralı proje çerçevesinde gerçekleştirilmiştir. Sağladığı finansal destek için TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

Son olarak sevgili annem Gülsev AKDERE, babam Özgür AKDERE, kardeşlerim Gülümser AKDERE ve Efe AKDERE' ye eğitim öğretim hayatım boyunca maddi ve manevi her konuda sundukları destekleri için ve her zaman bana güvendikleri için sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	vi
SUMMARY	vii
TEŞEKKÜR	viii
İÇİNDEKİLER	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xv
1.GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI	2
2.1. Miselyal kompozit ve özellikleri	2
2.2. Miselyal kompozit üretim aşamaları.....	3
2.3. Miselyal kompozit üretiminde kullanılan makrofungus türleri	4
2.4. Miselyal kompozit kullanım alanları	5
3. MATERYAL VE YÖNTEM	7
3.1. Materyal	7
3.1.1. Mikroorganizmalar	7
3.1.2. Besiyeri ve diğer malzemeler	11
3.1.3. Çözeltiler	12
3.1.4. Cihazlar	14
3.2. Metodlar.....	15

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
3.2.1. Makrofungus türlerinin geleneksel ve moleküler yöntemlerle teşhis edilmesi.....	15
3.2.2. Miselyal kompozit üretimi için biyolojik çeşitliliğin etkisi	17
<u>3.2.2.1. Türler arası biyolojik çeşitliliğin etkisi.....</u>	<u>19</u>
<u>3.2.2.2. Tür içi biyolojik çeşitliliğin etkisi</u>	<u>22</u>
3.2.3. Miselyal kompozit üretimi	22
<u>3.2.3.1. Miselyal kompozit üretim aşamaları</u>	<u>23</u>
<u>3.2.3.2. Karakterizasyon</u>	<u>27</u>
3.2.5. İstatistiksel analiz	36
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	37
4.1. Makrofungus türlerinin geleneksel ve moleküler yöntemlerle teşhis edilmesi	37
4.2. Miselyal kompozit üretimi için biyolojik çeşitliliğin önemi	38
4.2.1. Türler arası biyolojik çeşitliliğin etkisi	39
4.2.2. Tür içi biyolojik çeşitliliğin etkisi	48
4.3. Miselyal kompozit üretimi.....	55
4.3.1. Miselyal kompozit üretim aşamaları	59
4.3.2. Karakterizasyon.....	59
4.3.4. İstatistiksel analiz	75
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	79
KAYNAKLAR DİZİNİ	81

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Miselyal kompozit üretimi.	3
2.2. Miselyal kompozit üretiminde kullanılan fungus cinsleri	5
3.1. DNA izolasyonu için üretilen biyomaslar.	17
3.2. İnoküle edilmemiş ve edilmiş üretim ortamı.	20
3.3. Farklı misel yoğunluğuna sahip fungal koloniler	21
3.4. Sert ve kırılğan misel yapısına sahip fungal koloniler	21
3.5. İnokülant olarak kullanılan spawn petrisi.	24
3.6. Spawn ile inoküle edilmiş torba.	25
3.7. Image J programında misel yüzdesi hesaplamasında kullanılan görüntüler.	26
3.8. Deaktive edilen miselyal kompozitler.	27
3.9. Farklı konsantrasyonlardaki ksiloz çözeltileri.	30
3.10. Ksiloz standart eğrisi	30
3.11. Farklı konsantrasyonlardaki glikoz çözeltileri	31
3.12. Glikoz standart eğrisi.	32
3.13. Kül fırını aşamaları.	33
3.14. Isıl iletkenlik katsayısı ölçüm cihazı.	35
3.15. Basma test cihazında basınç testi.	36
4.1. <i>Lentinus tigrinus</i> SV 12 izolatının filogenetik dendrogramı.	37
4.2. <i>Ganoderma resinaceum</i> SV 19 izolatının filogenetik dendrogramı.	38
4.3. <i>Ganoderma lucidum</i> BP 342 izolatının günlere bağlı fungal koloni büyümesi.	42
4.4. İnkübasyonun 10. gününde 110 mm çapına ulaşan örnek türlere ait koloniler.	43
4.5. 90-110 mm çapındaki fungal koloniler.	43
4.6. <i>Ganoderma resinaceum</i> SV 19 kolonisinin zaman bağlı büyüme eğrisi.	44
4.7. Misel yoğunluğu 5,00 olan fungal koniler.	45

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.8. Sert misel yapısına sahip <i>Fomitopsis infirma</i> BG 234.	46
4.9. <i>Lentinus meridionalis</i> türüne ait suşlar.....	50
4.10. <i>Ganoderma lucidum</i> türüne ait suşlar.....	50
4.11. <i>Schizophyllum commune</i> türüne ait suşlar.	51
4.12. <i>Trametes hirsuta</i> türüne ait suşlar.	52
4.13. <i>Trametes versicolor</i> türüne ait suşlar.	52
4.14. <i>Pleurotus pulmonarius</i> türüne ait suşlar.....	53
4.15. <i>Lentinus arcularius</i> türüne ait suşlar.	53
4.16. <i>Trametes trogii</i> türüne ait suşlar.....	54
4.17. <i>Trametes ochracea</i> türüne ait suşlar.....	54
4.18. SV 12 izolatının ve SV 19 izolatının kalıptan çıkartılmış görüntüsü.....	56
4.19. SV 12 izolatının ve SV 19 izolatının %70'e ulaşan misel yoğunluğu.....	57
_Toc1998405284.20. SV 12 izolatının deaktivasyondan önceki ve sonraki görüntüleri.....	57
4.21. SV 19 izolatının deaktivasyondan önceki ve sonraki görüntüleri.....	58
4.22. SV 12 izolatının MEA ve SV 19 izolatının PDA besiyerindeki canlılık testi sonuçları.	58
4.23. <i>Ganoderma resinaceum</i> SV 19 lakkaz enzim aktivitesi.....	61
4.24. <i>Ganoderma resinaceum</i> SV 19 mangan peroksidaz enzim aktivitesi	61
4.25. <i>Lentinus tigrinus</i> SV 12 ksilanaz enzim aktivitesi	62
4.26. <i>Lentinus tigrinus</i> SV 12 miselyal kompozitinin termogravimetrik analiz sonucu	67
4.27. <i>Ganoderma resinaceum</i> SV 19 miselyal kompozitinin termogravimetrik analiz sonucu	68

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.28. <i>Lentinus tigrinus</i> SV 12 ve <i>Ganoderma resinaceum</i> SV 19 termogravimetrik analiz sonucu.....	69
4.29. <i>Lentinus tigrinus</i> SV 12 ile üretilen miselyal kompozitin dış yüzeyinin SEM mikrografı	71
4.30. <i>Lentinus tigrinus</i> SV 12 ile üretilen miselyal kompozitin merkezi kısmının SEM mikrografı	71
4.31. <i>Ganoderma resinaceum</i> SV 19 ile üretilen miselyal kompozitin dış yüzeyinin SEM mikrografı	72
4.32. <i>Ganoderma resinaceum</i> SV 19 ile üretilen miselyal kompozitin merkezi kısmının SEM mikrografı	73
4.33. <i>Lentinus tigrinus</i> SV 12 izolatının miselyum çaplarının oransal dağılımı	74
4.34. <i>Ganoderma resinaceum</i> SV 19 izolatının miselyum çaplarının oransal dağılımı.....	75

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Cizelge</u>	<u>Sayfa</u>
3.1. Çalışmada kullanılan makrofungus türleri	7
3.2. Çalışma esnasında kullanılan cihazlar	14
3.3. Makrofungusların hif yapısı ve çürüklük tipi	18
3.4. Tür içi biyolojik çeşitliliğin etkisi konusunun araştırılmasında kullanılan tür ve suşlar.	22
4.1. Makrofungus türlerine ait koloni çapı, günlük büyüme hızı, misel yoğunluğu ve misel sertliği değerleri.....	39
4.2. Türlere ait suşların koloni çapı, günlük büyüme hızı, misel yoğunluğu ve misel sertliği verileri.....	49
4.3. Lignoselülozik enzim sonuçları.....	60
4.4. Lentinus tigrinus SV 12 ve Ganoderma resinaceum SV 19 türlerine ait kümyasal araştırma parametrelerine ilişkin veriler.....	62
4.5. Fiziksel ve mekaniksel araştırma parametrelerine ilişkin veriler	65
4.6. MANOVA çizelgesi	75
4.7. Hif yapısının koloni çapı üzerine etkisi açısından Tukey testi ile istatistiksel analiz sonuçları	77
4.8. Hif yapısının büyüme hızı üzerine etkisi açısından Tukey testi ile istatistiksel analiz sonuçları	77
4.9. Çürüklük tipinin koloni çapı üzerine etkisi açısından Tukey testi ile istatistiksel analiz sonuçları	77
4.10. Çürüklük tipinin büyüme hızı üzerine etkisi açısından Tukey testi ile istatistiksel analiz sonuçları	78

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Acıklama</u>
ABTS	2,2'azinobis3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit
cm	Santimetre
dk	Dakika
DMP	(2-(3,4-Dimethoxyphenyl)-ethylamine)
DNS	(3,5-dinitrosalisilik Asit)
EPS	Genleştirilmiş polistiren sert köpük
g	Gram
GBH	Günlük büyüme hızı
M	Molar
MDF	Orta yoğunluklu lif levha
MEA	Malt Ekstrakt Agar
mg	Miligram
MK	Miselyal kompozit
mL	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
PDA	Patates Dekstroz Agar
rpm	Dakikada dönme sayısı
sn	Saniye
TGA	Termogravimetrik analiz
VA	(3,4 Dimethoxy benzyl alcohol)
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Günümüzde doğal kaynakların giderek azalması sürdürülebilir, çevre dostu ve geri dönüştürülebilir malzeme ihtiyacını ortaya çıkarmıştır (Alemu vd., 2022). Fungus bazlı biyomalzemeler, çevre dostu ve yenilikçi çözümler yaratmak için günümüzde ve gelecek için umut kaynağıdır Karaca ve Karaca (2023). Fungus miselleri birçok tarımsal ve endüstriyel atık üzerinde hızlı bir şekilde büyüme yeteneğine sahiptir. Fungus misellerinden oluşturulan biyokompozit malzemeleri oluşturmak için kullanılan atık hammaddeler kolayca geri dönüştürülebilir ve Genleştirilmiş Polistiren Sert Köpük (EPS) gibi sentetik malzemelere sürdürülebilir bir alternatif sunar (Rajendran, 2022). Son yıllarda çevre dostu ürünler üretmek ve sürdürülebilir uygulamalara olan talep artmaktadır. Literatürde yapılan çalışmaların baskın çoğunluğu uygulamalı bilimler ve özellikle de mimarlık/inşaat mühendisliği gibi alanlarda yoğunlaşmış, miselyal kompozit üretim sürecinin biyolojisini anlamaya yönelik temel bilimler düzeyindeki araştırmalar ve çalışmalar oldukça sınırlı kalmıştır. Bu nedenle bu çalışmada makrofunguslarda tür çeşitliliğinin üretilen miselyal kompozit performansına etkisi 72 farklı makrofungus türü ile araştırılmıştır. *Auriscalpium vulgare*, *Cerrena unicolor*, *Clavulina cinerea*, *Cyanosporus caesius*, *Cyclocybe cylindracea*, *Ganoderma carnosum*, *Leucogyrophana pseudomollusca*, *Neoantrodia serialis*, *Panus neostrigosus*, *Pholiota populnea*, *Pleurotus nebrodensis*, *Polyporus tuberaster*, *Szczepkamycetes campestris*, *Volvariella bombycina* gibi türler henüz bir miselyal kompozit üretimi için çalışılmamış makrofungus türlerdir. Bu araştırma kapsamında makrofunguslarda türler arası ve tür içi çeşitliliğinin miselyal kompozit performansına etkisinin araştırılmasının yanı sıra, iki makrofungus türünün miselyal kompozit üretim performansı araştırılmıştır.

2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

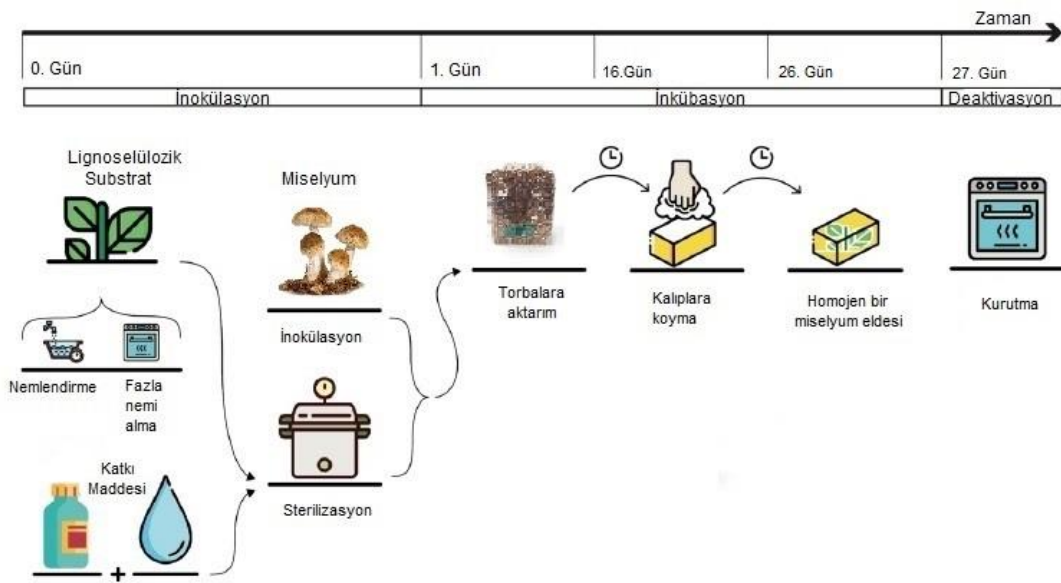
2.1. Miselyal kompozit ve özellikleri

Makrofunguslar substratlarını hif olarak adlandırılan ipliksi hücrelerin uzaması ile kolonize ederler. Hiflerden salınan ekstraselüler enzimler aracılığı ile beslenen funguslar, substratın yüzeyinde ve iç kısmında üç boyutlu misel yapısını oluştururlar (Manan vd., 2021). Miselyumun saman ve talaş gibi lignoselülozik bir substrat üzerinde büyümesi ve bu substrat partiküllerini birbirine bağlaması sonucu oluşturulan biyomalzemeler “miselyal kompozit” (MK) olarak bilinmektedir. Fungusların bu miselyum bağlayıcı özelliğinin endüstriyel alandaki kullanım potansiyeli ilk kez Japon bilim insanı olan Shigeru Yamanka tarafından kağıt ve inşaat malzemeleri sektörlerindeki örneklerde 1980'li yıllarda bildirilmiştir (Mojumdar vd., 2021).

Miselyal kompozitler kitin, selüloz, protein gibi doğal polimerler içerirler ve tamamen doğal ürünlerdir. Alternatif malzemelere göre karbon salınımını azaltma, yenilenebilir kaynaklardan üretilme, üretimleri sırasında atık oluşturmama, zararlı herhangi bir kimyasal içermeme ve parçalanmış MK'nın tekrar kullanılabilmesi gibi bir çok özellikleri ile sürdürülebilir ve döngüsel ekonomiye entegre edilebilir bir biyomalzemedir (Sydor vd., 2022). MK malzemeler; hafif, dayanıklı, ısı ve ses yalıtımı özelliğine sahip, yangına dirençli, kendini yenileyebilir, toksik olmayan, düşük maliyetli, biyolojik olarak parçalanabilen malzemeler olup düşük ekolojik ayak izine sahiptir (Attias vd., 2017). MK, uzun zamanda parlaması ve yandığında daha az CO₂ ve duman üretmesi nedeni ile (Jones vd, 2018) petrol bazlı polistiren ile orta yoğunluklu lif levha (MDF) gibi geleneksel yapı malzemelerine göre daha yüksek yangın güvenliği özelliklerine sahiptir (Jones vd, 2020). Diğer yalıtım materyallerinden düşük yoğunluk (<200 kg m⁻³) ve termal iletkenlik (0.04 W/mK'nın altında) değerlerine sahip olan MK (Elsacker vd., 2019), 1500 Hz altındaki frekanslarda %70-75'e kadar akustik absorpsiyon gösterebilmektedir (Pelletier vd. 2013).

2.2. Miselyal kompozit üretim aşamaları

Miselyal kompozit üretiminde substratın doğru seçilmesi ve hazırlanması, fungusun beslenme kaynaklarına ulaşmasını ve homojen bir şekilde kolonizasyonu sağlar. Miselyal kompozit üretiminin temel aşamaları Şekil 2.1.'deki gibi inokülasyon, inkübasyon ve deaktivasyon aşamalarını içermektedir (Carcassi vd., 2022).



Şekil 2.1. Miselyal kompozit üretimi (Carcassi vd., 2022' den modifiye).

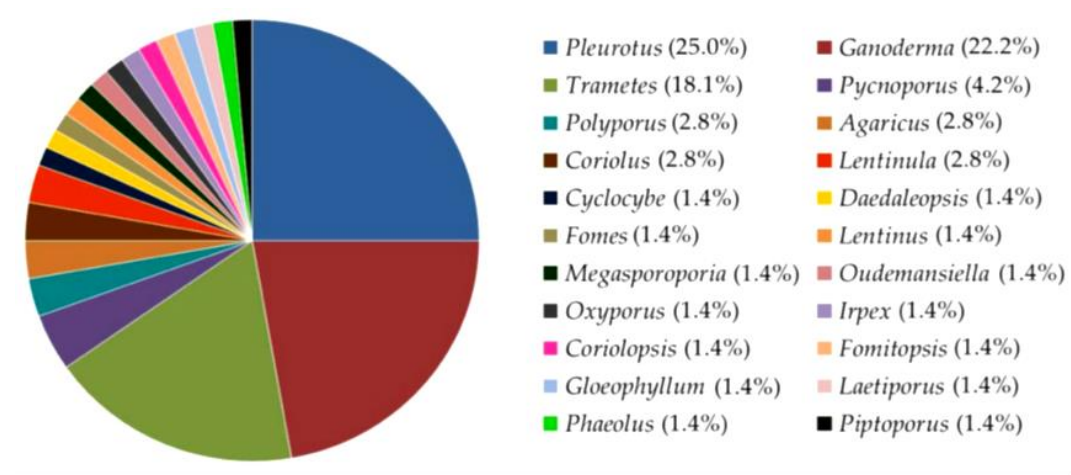
Miselyal kompozit üretiminde öncelikle fungus miselleri uygun bir besiyeri ortamında aktiflenir. İnokülant olarak kullanmak amacıyla katı ya da sıvı substrat hazırlanır ve steril edilir. Aktiflenen fungus bu ortama inoküle edilerek miselyal kompozit üretimi için kullanılacak inokülantın üretimi gerçekleştirilir. Miselyal kompozit üretimi için seçilen üretim ortamı hazırlanır ve steril edilir. İnkübasyonu tamamlanan inokülant üretim ortamına inoküle edilir. Üretim ortamında üreyerek kolonize olan fungus amaca özel hazırlanan kalıplara aktarılarak uygun ekolojik koşullarda inkübasyona bırakılır. Tamamen misel kaplayan kalıpların inkübasyon süreci sonlandırılır ve kompozit uygun sıcaklıkta kurutularak miselyum deaktive edilir (Elsacker vd., 2020).

2.3. Miselyal kompozit üretiminde kullanılan makrofungus türleri

Çalışılan fungus türünün biyolojik özellikleri hem miselyal kompozit üretim sürecini hem de ortaya çıkan materyalin özelliklerini etkiler (Sarıay vd., 2023). Tür seçiminde dikkate alınması gereken özellikler; misel yoğunluğu, miselin yapısı, türün substrat üzerindeki büyüme hızı, fungusun kullanabileceği substrata erişim ve maliyeti, patojen tür olmaması gibi bir çok özellik değerlendirilmelidir.

Miselyal kompozit üretimi için alınan ya da başvuru patentlerin baskın çoğunluğu Basidiomycetes grubuna ait makrofungus türleridir. *Ganoderma lucidum* ve *Pleurotus ostreatus* en fazla patente konu olmuş makrofungus türleridir. Miselyal kompozitler ile ilgili patentler ile sonuçlanan araştırmalarda kullanılan diğer makrofungus türleri ise *Agrocybe aegerita*, *Agrocybe brasiliensis*, *Coprinus comatus*, *Flammulina velutipes*, *Grifola frondosa*, *Hericium erinaceus*, *Hypholoma capnoides*, *Hypholoma sublaterium*, *Macrolepiota procera*, *Morchella angusticeps* ve *Xylaria* türleridir (Cerimi vd., 2019).

Miselyal kompozit üretiminde 2018 yılına kadar kullanılan tür sayısı sadece 9 olmasına karşın (Attias vd., 2020), son dönemde bu sayı hızla yükselmiştir. Şekil 2.2.'de (Aiduang vd. 2022) sunulan cinslerin dışında; *Abortiporus biennis* (Balaes vd., 2023), *Auricularia auricula-judae*, *Auricularia polytricha* (Khoo vd., 2020), *Ceriporia lacerata* (Shao vd., 2016), *Coprinopsis cinerea* (Chang vd., 2019), *Funalia trogii* (Aquino vd., 2022), *Ganoderma australe* (Aquino vd., 2022), *Ganoderma fornicatum* (Aiduang vd., 2022b), *Ganoderma williamsianum* (Aiduang vd., 2022b), *Hypsizygus ulmarius* (Alves vd., 2020), *Inonotus obliquus* (Bruscato vd., 2019), *Kuehneromyces mutabilis* (Tacer-Caba vd., 2020), *Laetiporus sulphureus* (Wimmers vd., 2019), *Megasporoporia minor* (Xing vd., 2018), *Nothophellinus andinopatagonicus* (Aquino vd., 2022), *Oxyporus latermarginatus* (Xing vd., 2018), *Phaeolus schweinitzii* (Wimmers vd., 2019), *Polyporus arcularius* (Wimmers vd., 2019), *Ryvardenia cretacea* (Aquino vd., 2022), *Schizophyllum commune* (Appels vd., 2019), *Stropharia rugosoannulata* (Jones vd., 2018) türlerinin de miselyal kompozit araştırmalarına konu olduğu belirlenmiştir.



Şekil 2.2. Miselyal kompozit üretiminde kullanılan fungus cinsleri (Aiduang vd., 2022'den modifiye)

Günümüzde makrofungus tür çeşitliliği için bildirilen sayı 41000' e kadar çıkabilmektedir (Priyamvada vd., 2017). Bu nedenle MK üretimi amacı ile araştırılmamış çok sayıda tür olduğu öngörülebilir. İstenilen özellik ve kalitede miselyal kompozit malzemeler oluşturma potansiyeli olan henüz keşfedilmeyi bekleyen bir tür zenginliğinin varlığı öngörülmektedir (Elsacker vd., 2020)

2.4. Miselyal kompozit kullanım alanları

Miselyal kompozitler parçalanabilir olmaları nedeniyle sürdürülebilir yapı malzemeleri olarak dikkat çekmektedir. Literatürde, miselyal kompozitlerin özellikle inşaat sektöründe ısı yalıtımı, ses yalıtımı ve yangın dayanımı gibi fiziksel özellikleri üzerine yoğunlaşmıştır. Yapılan çalışmalar miselyal kompozitlerin ısı iletkenlik katsayılarının 0.029–0.104 W/mK arasında değiştiğini göstermektedir ki bu değerler geleneksel yalıtım malzemeleriyle karşılaştırılabilir düzeydedir (Jones vd.,2020). Ayrıca, miselyal kompozitler yangın dayanımı açısından da avantajlar sunduğu, düşük ısı salınımı ve yüksek kömürleşme oranları sayesinde yangın güvenliği sağladığı belirtilmiştir (Jones vd., 2018). Miselyal kompozitlerin uygulama alanları arasında ambalaj malzemeleri, mobilya üretimi ve yapı malzemeleri öne çıkmaktadır. Özellikle, EPS gibi sentetik malzemelere alternatif olarak miselyal kompozitlerin kullanımı üzerine patentler alınmış ve ticari

ürünler geliştirilmiştir (Haneef vd., 2017). Literatürde var olan çalışmaların baskın çoğunluğu uygulamalı bilimler ve özellikle mimarlık/inşaat mühendisliği alanlarından sunulmaktadır. Bununla birlikte, literatürde miselyal kompozitlerin biyolojik yönleri, özellikle fungus türlerinin davranışları, hif sistemleri ve çürüklük tiplerinin kompozit özelliklerine etkisi üzerine yapılan çalışmalar sınırlıdır. Çoğu çalışma, belirli birkaç tür üzerinde yoğunlaşırken, farklı hif sistemlerine ve çürüklük tiplerine sahip türlerin potansiyeli göz ardı edilmiştir (Appels vd.,2019). Literatürde, miselyal kompozitlerin üretiminde sıklıkla kullanılan fungus türleri arasında *Ganoderma lucidum*, *Pleurotus ostreatus* ve *Trametes versicolor* yer almaktadır. Bu türler, substratları hızlı kolonize etme yetenekleri ve elde edilen kompozitlerin mekanik özellikleri nedeniyle tercih edilmektedir (Appels vd., 2019).



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Mikroorganizmalar

Bu çalışmada Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Fungikültür laboratuvarında bulunan makrofungus kültür koleksiyonuna ait toplam 72 makrofungus türü kullanılmıştır (Çizelge 3.1). Araştırmada yer alan makrofungus türleri farklı çürüklük tiplerini ve hif sistemlerini temsil edecek biçimde seçilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan makrofungus türleri

Sıra No	Tür Adı	Kod	Lokalite	
			İl	İlçe
1	<i>Agrocybe splendida</i> (Clémençon)	BM 53	Bilecik	Merkez
2	<i>Antrodia macra</i> (Sommerf.) Niemelä	BM 245	Bilecik	Merkez
3	<i>Antrodia ramentacea</i> (Berk. & Broome) Donk	BB 649	Bilecik	Bozüyük
4	<i>Antrodiella onychoides</i> (Egeland) Niemelä	BO 125	Bilecik	Osmaneli
5	<i>Auricularia auricula-judae</i> (Bull.) Quél.	BB 507	Bilecik	Bozüyük
6	<i>Auriscalpium vulgare</i> (Gray)	BB 13	Bilecik	Bozüyük
7	<i>Bjerkandera adusta</i> (Willd.) P. Karst.	M 166	Eskişehir	Merkez
8	<i>Cerioporus squamosus</i> (Huds.) Quél.	MIH 3	Eskişehir	Mihalıççık
9	<i>Cerrena unicolor</i> (Bull.) Murrill	D 30	Sakarya	Geyve
10	<i>Clavulina cinerea</i> (Bull.) J. Schröt.	BB 360	Bilecik	Bozüyük
11	<i>Crepidotus variabilis</i> (Pers.) P. Kumm.	BB 287	Bilecik	Bozüyük
12	<i>Cyanosporus caesius</i> (Schräd.) McGinty	BB 374	Bilecik	Bozüyük

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan makrofungus türleri (devam)

Sıra No	Tür Adı	Kod	Lokalite	
			İl	İlçe
13	<i>Cyclocybe cylindracea</i> Vizzini & Angelini	M 322	Eskişehir	Merkez
14	<i>Exidia glandulosa</i> (Bull.) Fr.	BM 76	Bilecik	Merkez
15	<i>Flammulina velutipes</i> (Curtis) Singer	M 300	Eskişehir	Merkez
16	<i>Fomes fomentarius</i> (L.) Fr.	M 184	Eskişehir	Merkez
17	<i>Fomitopsis pinicola</i> (Sw.) P. Karst.	BO 23	Bilecik	Osmaneli
18	<i>Fuscoporia torulosa</i> (Pers.) T. Wagner & M. Fisch.	BB 572	Bilecik	Bozüyük
19	<i>Ganoderma applanatum</i> (Pers.) Pat.	M 105	Eskişehir	Merkez
20	<i>Ganoderma australe</i> (Fr.) Pat.	BB 303	Bilecik	Bozüyük
21	<i>Ganoderma carnosum</i> (Pers.) Pat.	D 21	Bartın	
22	<i>Ganoderma lucidum</i> (Curtis) P. Karst.	BP 342	Bilecik	Pazaryeri
23	<i>Ganoderma lucidum</i> (Curtis) P. Karst.	D 154	Edirne	Merkez
24	<i>Ganoderma lucidum</i> (Curtis) P. Karst.	6065	Bursa	Osmangazi
25	<i>Ganoderma lucidum</i> (Curtis) P. Karst.	6068	Yalova	Çiftlikköy
26	<i>Ganoderma resinaceum</i> Bod.	SV 19	Eskişehir	Sivrihisar
27	<i>Gloeophyllum abietinum</i> (Bull.) P. Karst.	BG 22	Bilecik	Gölpazarı
28	<i>Gloeophyllum sepiarium</i> (Wulfen) P. Karst.	T 762	Eskişehir	Seyitgazi
29	<i>Gloeophyllum trabeum</i> (Pers.) Murrill	BO 59	Bilecik	Osmaneli
30	<i>Gymnopilus penetrans</i> (Fr.) Murrill	BB 625	Bilecik	Bozüyük
31	<i>Gymnopus dryophilus</i> (Bull.) Murrill	BM 54	Bilecik	Merkez
32	<i>Gymnopus hybridus</i> (Kühner & Romagn.) Antonín & Noordel.	BY 229	Bilecik	Yenipazar
33	<i>Heterobasidion annosum</i> (Fr.) Bref.	BB 339	Bilecik	Bozüyük
34	<i>Inonotus hispidus</i> (Kühner & Romagn.) Antonín & Noordel.	M 168	Eskişehir	Merkez
35	<i>Lentinellus ursinus</i> (Fr.) Kühner	BB 391	Bilecik	Bozüyük
36	<i>Lentinus arcularius</i> (Batsch) Zmitr.	T 815	Eskişehir	Seyitgazi
37	<i>Lentinus arcularius</i> (Batsch) Zmitr.	Ç 2	Eskişehir	Çatacık
38	<i>Lentinus arcularius</i> (Batsch) Zmitr.	BO 79	Bilecik	Osmaneli
39	<i>Lentinus arcularius</i> (Batsch) Zmitr.	BP 268	Bilecik	Pazaryeri
40	<i>Lentinus brumalis</i> (Pers.) Zmitr.	T 438	Eskişehir	Seyitgazi
41	<i>Lentinus meridionalis</i> (A. David) Jargeat, Corriol & J.-P. Chaumeton	BM 75	Bilecik	Merkez
42	<i>Lentinus meridionalis</i> (A. David) Jargeat, Corriol & J.-P. Chaumeton	BM 40	Bilecik	Merkez

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan makrofungus türleri (devam)

Sıra No	Tür Adı	Kod	Lokalite	
			İl	İlçe
43	<i>Lentinus meridionalis</i> (A. David) Jargeat, Corriol & J.-P. Chaumeton	BM 237	Bilecik	Merkez
44	<i>Lentinus meridionalis</i> (A. David) Jargeat, Corriol & J.-P. Chaumeton	BS 7	Bilecik	Söğüt
45	<i>Lentinus sajor-caju</i> (Fr.) Fr. *	3	Denizli	
46	<i>Lentinus tigrinus</i> (Bull.) Fr.	SV 12	Eskişehir	Sivrihisar
47	<i>Lenzites betulinus</i> (L.) Fr.	S2	Eskişehir	Sarıcakaya
48	<i>Leucocoprinus leucothites</i> (Vittad.) Redhead	BG 269	Bilecik	Gölpazarı
49	<i>Leucogyrophana pseudomollusca</i> (Parmasto) Parmasto	T 849	Eskişehir	Seyitgazi
50	<i>Fomitopsis infirma</i> (Renvall & Niemelä) Miettinen & Niemelä	BG 234	Bilecik	Gölpazarı
51	<i>Neoantrodia serialis</i> (Fr.) Audet	M 101	Eskişehir	Merkez
52	<i>Panellus sp.</i> P. Karst.	Bİ 128	Bilecik	İnhisar
53	<i>Panus neostriigosus</i> Drechsler-Santos & Wartchow	D 26	Sakarya	Geyve
54	<i>Phaeolus schweinitzii</i> (Fr.) Pat.	BB 251	Bilecik	Bozüyük
55	<i>Phellinus igniarius</i> (L.) Quél.	BY 9	Bilecik	Yenişehir
56	<i>Phellinus pomaceus</i> (Pers.) Maire	BB 571	Bilecik	Bozüyük
57	<i>Pholiota muricella</i> (Fr.) Bon	BP 403	Bilecik	Pazaryeri
58	<i>Pleurotus citrinopileatus</i> Singer *	PCP001	Hollanda	
59	<i>Pleurotus djamor</i> (Rumph. ex Fr.) Boedijn *	PD001	Sylvan	
60	<i>Pleurotus dryinus</i> (Pers.) P. Kumm.	M 325	Eskişehir	Merkez
61	<i>Pleurotus eryngii</i> (DC.) Quél. *	K 24	Çanakkale	Biga
62	<i>Pleurotus eryngii var farulae</i> (DC) Quél. *	M 1	İzmir	Selçuk
63	<i>Pleurotus nebrodensis</i> (Inzenga) Quél. *	K 211	Tunceli	Ovacık
64	<i>Pleurotus ostreatus</i> (Jacq.) P. Kumm. *	PO 17	Bursa	Osmangazi
65	<i>Pleurotus pulmonarius</i> (Fr.) Quél. *	PO 21	Bursa	Osmangazi
66	<i>Pleurotus pulmonarius</i> (Fr.) Quél. *	PP 180	Yalova	
67	<i>Pleurotus pulmonarius</i> (Fr.) Quél. *	PP 26	Bursa	Osmangazi
68	<i>Radulomyces molaris</i> (Chaillet ex Fr.) M.P. Christ.	BP 333	Bilecik	Pazaryeri
69	<i>Schizophyllum amplum</i> (Lév.) Nakasone	BY 238	Bilecik	Yenişehir
70	<i>Schizophyllum commune</i> Fr.	BY 239	Bilecik	Yenişehir
71	<i>Schizophyllum commune</i> Fr.	BM 39	Bilecik	Merkez
72	<i>Schizophyllum commune</i> Fr.	M 131	Eskişehir	Merkez
73	<i>Schizophyllum commune</i> Fr.	D 35	Trabzon	Akçaabat

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan makrofungus türleri (devam)

Sıra No	Tür Adı	Kod	Lokalite	
			İl	İlçe
74	<i>Stereum hirsutum</i> (Willd.) Pers.	D 64	Bilecik	Pazaryeri
75	<i>Szczepkamyces campestris</i> (Quél.) Zmitr.	B 72	Eskişehir	Bozdağ
76	<i>Trametes cinnabarina</i> (Jacq.) Fr.	D 95	Bilecik	Pazaryeri
77	<i>Trametes gibbosa</i> (Pers.) Fr.	BP 364	Bilecik	Pazaryeri
78	<i>Trametes hirsuta</i> (Wulfen) Lloyd	D 176	Düzce	Merkez
79	<i>Trametes hirsuta</i> (Wulfen) Lloyd	D 128	Bolu	Mengen
80	<i>Trametes hirsute</i> (Wulfen) Lloyd	BB45	Bilecik	Bozüyük
81	<i>Trametes hirsute</i> (Wulfen) Lloyd	BP76	Bilecik	Pazaryeri
82	<i>Trametes ochracea</i> (Pers.) Gilb. & Ryvarde	T 850	Eskişehir	Seyitgazi
83	<i>Trametes ochracea</i> (Pers.) Gilb. & Ryvarde	BP 328	Bilecik	Pazaryeri
84	<i>Trametes ochracea</i> (Pers.) Gilb. & Ryvarde	D 36	Trabzon	Akçaabat
85	<i>Trametes pubescens</i> (Schumach.) Pilát	D 31	Osmaneli	Bilecik
87	<i>Trametes trogii</i> Berk.	M 336	Eskişehir	Merkez
88	<i>Trametes trogii</i> Berk.	BP 57	Bilecik	Pazaryeri
89	<i>Trametes trogii</i> Berk.	BS 62	Bilecik	Söğüt
90	<i>Trametes versicolor</i> (L.) Lloyd	M 327	Eskişehir	Merkez
91	<i>Trametes versicolor</i> (L.) Lloyd	BP 276	Bilecik	Pazaryeri
92	<i>Trametes versicolor</i> (L.) Lloyd	D 22	Bartın	
93	<i>Trametes versicolor</i> (L.) Lloyd	D 58	Kocaeli	Kartepe
94	<i>Trichaptum abietinum</i> (Pers. ex J.F. Gmel.) Ryvarde	BM 10	Bilecik	Merkez
95	<i>Trichaptum fuscoviolaceum</i> (Ehrenb.) Ryvarde	BY 235	Bilecik	Yenipazar
96	<i>Volvariella bombycina</i> (Schaeff.) Singer	M 335	Eskişehir	Merkez
97	<i>Xylaria polymorpha</i> (Pers.) Grev.	M 339	Eskişehir	Merkez

*Bu izolatlar Dr. Mustafa Kemal SOYLU'dan temin edilmiştir.

3.1.2. Besiyeri ve diğer malzemeler

Buğday Kepeği

Miselyal kompozit üretimi için başarılı türlerin belirlenmesi, tür içi çeşitliliğin araştırılması ve miselyal kompozit üretimi aşamasında azot kaynağı olarak %10 oranında kullanılmıştır.

Kirec

Miselyal kompozit üretimi için başarılı türlerin belirlenmesi, tür içi çeşitliliğin araştırılması ve miselyal kompozit üretimi aşamasında üreme ortamının pH düzeyinin ayarlanması amacıyla %2 oranında kullanılmıştır.

Malt Ekstrakt Agar (MEA)

Ticari olarak alınan besiyerinden (Merck) 48.00 g/L oranında tartılmıştır. Uygun miktarda distile suda çözüldükten sonra 121°C'de 15 dk otoklavlanarak steril edilmiş ve elde edilen besiyeri steril petrilere dökümüştür. Hazırlanan besiyeri makrofungus türlerinin aktiflenmesinde kullanılmıştır.

Meşe Talaşı

Miselyal kompozit üretimi için başarılı türlerin belirlenmesi ve miselyal kompozit üretimi aşamasında üretim ortamı bileşeni olarak kullanılmıştır.

Meşe Yongası

Miselyal kompozit üretimi aşamasında üretim ortamı bileşeni olarak kullanılmıştır.

Patates Dekstroz Agar (PDA)

Ticari olarak alınan besiyerinden (Merck) 39.00 g/L oranında tartılan toz formdaki besiyeri uygun miktarda distile suda çözülmüştür. Elde edilen besiyeri çözeltisi 121°C'de 15 dk otoklavlanarak steril edilmiş ve steril petrilere dökülmüş ve makrofungus türlerinin aktiflenmesinde kullanılmıştır.

Spawn

Miselyal kompozit üretiminde inokülant olarak kullanılmıştır.

DNS (3,5-dinitrosalisilik Asit)

Ksilanaz ve selülaz enzim aktivitesi tayininde indirgen şekerleri tayin etmek için kullanılmıştır

Whatman No. 1 filtre kağıdı

Şerit olarak 1,0 x 6,0 cm ölçülerinde hazırlanan Whatman no.1 filtre kağıdı selülaz enzim aktivite tayininde substrat olarak kullanılmıştır.

3.1.3. Çözeltiler

Sodyum-Asetat Tamponu (100 mM)

Lakkaz enzim aktivite tayininde kullanılmak üzere distile su ile pH 4,5 olacak şekilde hazırlanmıştır.

ABTS (1 mM)

Lakkaz enzim aktivite tayininde substrat olarak kullanmak için distile su ile hazırlanmıştır.

Sodyum Tartarat Tamponu (0,25 M)

Mangan peroksidaz ve mangan bağımsız peroksidaz enzim aktivite tayininde kullanılmak üzere distile su ile pH 4,5 olacak şekilde hazırlanmıştır.

DMP (2-(3,4-Dimethoxyphenyl)-ethylamine) (20 mM)

Mangan peroksidaz ve mangan bağımsız peroksidaz enzim aktivite tayininde kullanılmak üzere distile su ile hazırlanmıştır.

MnSO₄ (20 mM)

Mangan peroksidaz enzim aktivite tayininde kullanılmak üzere distile su ile hazırlanmıştır.

H₂O₂ (4 mM)

Mangan peroksidaz, mangan bağımsız peroksidaz ve lignin peroksidaz enzim aktivite tayininde kullanılmak üzere distile su ile hazırlanmıştır.

Sodyum tartarat (100 mM)

Lignin peroksidaz enzim aktivite tayininde kullanılmak üzere distile su ile pH 2,5 olacak şekilde hazırlanmıştır.

Veratril Alkol (3,4 Dimethoxy benzyl alcohol) (200 mM)

Lignin peroksidaz enzim aktivite tayininde kullanılmak üzere distile su ile hazırlanmıştır.

Birchwood ksilan 1 % (w/v)

pH 5,3 olarak hazırlanan 50 mM'lık sodyum sitrat tamponu ile çözülerek ksilanaz enzim aktivitesi tayininde substat olarak kullanılmıştır.

Sodyum Sitrat Tamponu (50 mM)

Ksilanaz ve selülaz enzim aktivite tayininde kullanılmak üzere distile su ile hazırlanmıştır. Ksilanaz enzim aktivitesi için pH 5,3 selülaz enzim aktivitesi tayini için pH 4,8 olacak şekilde hazırlanmıştır.

Ksiloz Çözeltisi

Ksilanaz enzim aktivite tayini için pH 5,3 sitrat tamponu (50 mM) kullanılarak standart eğri hazırlamak amacı ile hazırlanmıştır.

Glikoz Çözeltisi

Selülaz enzim aktivitesi tayini için distile su ile çözülerek standart eğri hazırlamak amacı ile hazırlanmıştır.

3.1.4. Cihazlar

Tez çalışması aşamasında kullanılan cihazlar çizelge 3.2.' de sunulmuştur.

Çizelge 3.2. Çalışma esnasında kullanılan cihazlar

Cihazlar	Marka ve Model
Basma Test Cihazı	Devotrans DVT GP D S32 K
Çalkalamalı inkübatör	Innova
Dijital Kumpas	Baytas
Etüv	Memmert

Çizelge 3.2. Çalışma esnasında kullanılan cihazlar (devam)

Hassas Terazı	Ohaus ve Kern 440-33
Isıtıcı ve Manyetik Karıştırıcı	Heidolph MR Hei-Tec D-91126 Scwabach
Işık kutusu	Godox
İklımlendirme dolabı	Fitoton
Konveksiyonlu Fırın	Binder
Kül fırını	MSE Furnace
Laboratuvar değırmeni	IKA-M20
Otoklav	Alp
Pastör fırını	Heraeus T5050
pH metre	Eutech Instruments Ion 510
Santrifüj	Eppendorf
Spektrofotometre	Shimadzu UV2450
Steril Kabin	Thermo Electron Corporation Hera Safe
Su banyosu	Advantech LD-220
Termal gravimetrik analiz cihazı	SDT Q600
Isıl iletkenlik katsayısı ölçüm cihazı	Lasercomp HFM Fox-314
Multiplex Ünıversal Elektromekanik Denedey Cihazı	UTEST

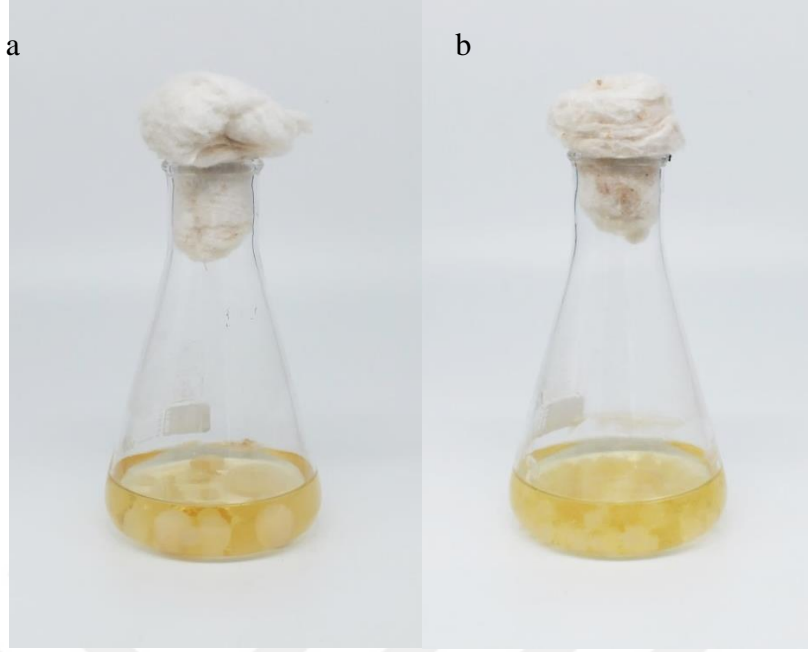
3.2. Metodlar

3.2.1. Makrofungus türlerinin geleneksel ve moleküler yöntemlerle teşhis edilmesi

Çalışma kapsamında kullanılan izolatların elde edildiği makrofungus örnekleri Prof. Dr. Hasan Hüseyin DOĞAN tarafından geleneksel yöntemlerle teşhis edilmiştir. Miselyal kompozit üretimi için seçilen başarılı makrofungus izolatlarının teşhisi moleküler yöntemlerle onaylanmıştır. Bu amaçla öncelikle PDA ve MEA besiyerinde aktiflenen makrofungus izolatları PDB besiyerine inoküle edilmiştir. Çalkalamalı inkübatörde 100 rpm'de 27 °C' de 7 gün inkübe edilerek biyomas üretimi sağlanmıştır (Şekil 3.1) Sıvı kültürde üretilen biyomas kaba filtre kağıdı ile süzöldükten sonra distile su ile yıkanmıştır. Böylece besiyeri kalıntılarında arındırılan hücreler -80 °C derecede dondurulmuştur.

Liyofilizasyon yöntemi kullanılarak suyu uçurulan biyomas moleküler teşhis materyali olarak kullanılmıştır.

DNA izolasyonu, miktar ve saflık kontrolü, PCR ve elektroforez çalışmaları vedizi analizi için BM Laboratuvar Sistemleri (Ankara) firmasından hizmet alımı yapılmıştır. Firma tarafından sunulan bilgilere göre DNA izolasyonu için EurX GeneMATRIX Plant & Fungi DNA izolasyon kiti kullanılmıştır. DNA izolasyonu aşamasında kitin kullanım protokolü uygulanmıştır. İzolasyon işlemi sırasında özellikle fungus hücre duvarındaki kitin yapısını etkin bir şekilde parçalanmak amacıyla ön inkübasyon ve mekanik parçalama adımlarına dikkat edilmiştir. DNA izolasyon sonrasında elde edilen DNA'ların miktar ve saflığını kontrol etmek amacıyla Thermo Scientific Nanodrop 2000 i (USA) spektrofotometre cihazı ile absorbans ölçülmüştür. Daha sonra PCR çalışması için ITS1-ITS4 primerleri kullanılarak tür tayini için hedeflenen gen bölgeleri çoğaltılmıştır. PCR ile elde edilen amplifikasyon sonuçları 1x TAE tampon ile hazırlanan %1,5 agaroz jelde 100 volt akımda 90 dakika elektroforezde yürütülmüştür ve etidyum bromür boyası kullanılarak UV ışığı altında görüntüsü alınmıştır. Yaklaşık 700 bazlık bölgeyi çoğaltmak için tek aşamalı PCR işlemi gerçekleştirilmiştir. PCR reaksiyonu DNA Taq polimeraz enzimiyle gerçekleştirilmiştir. PCR sonrasında agaroz jelde tek bant elde edilerek, PCR işleminin başarılı olduğu gözlemlenmiştir. PCR ürünü saflaştırma aşamasında, elde edilen tek bant örnekler için MAGBIO "HighPrep™ PCR Clean-up System" (AC-60005) saflaştırma kiti kullanılmıştır. Sanger Dizileme için, Macrogen Hollanda laboratuvarında, ABI 3730XL Sanger dizileme cihazı (Applied Biosystems, Foster City, CA) ve BigDye Terminator v3.1 Cycle Dizileme kiti kullanılmıştır. ITS1 – ITS4 primerleriyle elde edilen okumalar, bir konsensus dizi oluşturmak amacıyla kontig haline getirilmiştir. Bu işlemin gerçekleştirilmesinde BioEdit yazılımı içinde CAP contig assembly algoritması kullanılmıştır. Elde edilen dizi ile NCBI'da BLAST analizi yapılmıştır ve çıkan benzerlik analizine göre tür teşhisi yapılmıştır. Teşhis edilen türlerin veri tabanına kayıtlı yakın dizilerle ilişkisi Doç. Dr. Bükay YENİCE GÜRSU tarafından çizilen dendrogramlar ile gösterilmiştir.



Şekil 3.1. DNA izolasyonu için üretilen biyomaslar. a. *Lentinus tigrunus* SV 12, b. *Ganoderma resinaceum* SV 19

3.2.2. Miselyal kompozit üretimi için biyolojik çeşitliliğin etkisi

Miselyal kompozit üretimi için seçilecek izolatın belirlenmesi aşamasında türler arası ve tür içi çeşitliliğe yönelik araştırmalar gerçekleştirilmiştir. Çalışmaya dahil edilecek türlerin belirlenmesi aşamasında farklı hif yapısına ve çürüklük tipine sahip türlerin seçilmesine önem verilmiştir. Çalışılan türler çürüklük tipi açısından değerlendirildiğinde 58 türün beyaz, 8 türün kahverengi ve 1 türün yumuşak çürükçül olduğu görülmektedir. Bu türler hifal sistemi açısından ise 30 monomitik, 19 dimitik ve 18 tür trimitik özelliktedir. Çalışılan türlerden 5 tanesi bu grupların dışında yer almaktadır (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.3. Makrofungusların hif yapısı ve çürüklük tipi

	MONOMİTİK	DİMİTİK	TRİMİTİK
Beyaz Çürükçül	<i>Agrocybe praecox</i> BG269	<i>Cerioporus squamosus</i> MIH	<i>Cerrena unicolor</i> D30
	<i>Auricularia auricula-judae</i> BB507	3	<i>Fomes fomentarius</i> M184
	<i>Bjerkandera adusta</i> M166	<i>Fuscoporia torulosa</i> BB572	<i>Ganoderma applanatum</i> M105
	<i>Cyclocybe cylindracea</i> M322	<i>Lentinus arcularius</i> T815	<i>Ganoderma australe</i> BB303
	<i>Exidia glandulosa</i> BM76	<i>Lentinus brumalis</i> T438	<i>Ganoderma carnosum</i> D21
	<i>Flammulina velutipes</i> M300	<i>Lentinus meridionalis</i> BM75	<i>Ganoderma lucidum</i> BP342
	<i>Inonotus hispidus</i> M168	<i>Lentinus tigrinus</i> SV12	<i>Ganoderma resinaceum</i> SV19
	<i>Lentinus sajor-caju</i> 3	<i>Neoantrodia infirma</i> BG234	<i>Lenzites betulinus</i> S2
	<i>Leucogyrophana</i> <i>pseudomollusca</i> T849	<i>Panus neostrigosus</i> D26	<i>Trametes cinnabarina</i> D95
	<i>Panellus sp.</i> , Bİ128	<i>Phellinus igniarius</i> BY9	<i>Trametes gibbosa</i> BP364
	<i>Pleurotus citrinopileatus</i> PCP001	<i>Phellinus pomaceus</i> BB571	<i>Trametes hirsuta</i> D176
	<i>Pleurotus djamor</i> PD001	<i>Stereum hirsutum</i> D64	<i>Trametes ochracea</i> T850
	<i>Pleurotus eryngii</i> K24	<i>Szczepkamyces campestris</i> B72	<i>Trametes pubescens</i> D31
	<i>Pleurotus eryngii var ferulae</i> M1	<i>Trichaptum abietinum</i> BM10	<i>Trametes trogii</i> M336
	<i>Pleurotus nebrodensis</i> K211	<i>Antrodiella onychoides</i> BO125	<i>Trametes versicolor</i> M327
	<i>Pleurotus ostreatus</i> PO17	<i>Heterobasidion annosum</i> BB 339	
	<i>Pleurotus pulmonarius</i> PO21	<i>Trichaptum fuscoviolaceum</i> BY 235	
	<i>Schizophyllum amplum</i> BY238		
	<i>Schizophyllum commune</i> BY239		
	<i>Volvariella bombycine</i> M335		
	<i>Agrocybe splendida</i> BM53		
	<i>Crepidotus variabilis</i> BB287		
	<i>Gymnopus dryophilus</i> BM 54		
	<i>Lentinellus ursinus</i> BB 391		
	<i>Pholiota muricella</i> BP 403		
	<i>Gymnopus hybridus</i> BY 229		
	<i>Pleurotus dryinus</i> M325		

Çizelge 3.3. Makrofungusların hif yapısı ve çürüklük tipi (devam)

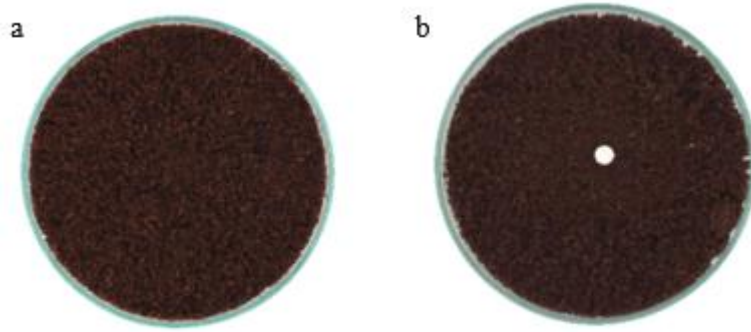
	MONOMİTİK	DİMİTİK	TRİMİTİK
Kahverengi Çürükçül	<i>Cyanosporus caesius</i> BB374 <i>Phaeolus schweinitzii</i> BB251	<i>Fomitopsis pinicola</i> BO23 <i>Neoantrodia serialis</i> M101 <i>Antrodia ramentacea</i> BB 649	<i>Gloeophyllum abietinum</i> BG22 <i>Gloeophyllum sepiarium</i> T762 <i>Gloeophyllum trabeum</i> BO59
Yumuşak Çürükçül	<i>Xylaria polymorpha</i> M339		
Diğer Türler	<i>Auriscalpium vulgare</i> BB13 <i>Clavulina cinerea</i> BB360 <i>Gymnopilus penetrans</i> BB625 <i>Radulomyces molaris</i> BP 333 <i>Antrodia macra</i> BM245		

3.2.2.1. Türler arası biyolojik çeşitliliğin etkisi

Türler arası çeşitliliğin miselyal kompozit üretimine etkisi konusu, toplam 72 türe ait temsilci izolatlar ile araştırılmış ve miselyal kompozit üretmeye aday makrofungus türleri seçilmiştir.

Miselyal kompozit üretimi için kullanılacak makrofungus türleri, izolatların miselyal kompozit üretimi için kullanılacak substrat üzerinde üretimi sırasındaki performansları dikkate alınarak belirlenmiştir. Bu amaçla 2-5 mm lik parçalar haline getirilen miselyal kompozit üretim ortamı bileşenleri (1000 g meşe talaşı ve 100 g buğday kepeği) 20 g alçı ile birlikte uygun bir kaba alınarak homojen olarak karıştırılmıştır. Daha sonra nem oranı %70 olacak biçimde distile su ile nemlendirilerek tekrar homojen olarak karıştırılmıştır. Hazırlanan ortam 12 cm'lik cam petrilerin herbirine 20 g olacak şekilde dağıtılmış ve 121 °C'de 60 dk otoklavlanarak steril edilmiştir. Üretim ortamları otoklavdan çıkarıldıktan sonra kullanılmadan önce 1 gün oda sıcaklığında soğutmaya bırakılmıştır.

Üretim ortamları PDA besiyerinde üretilen fungus izolatlarına ait kolonilerinin en dış kısmındaki aktif büyüme zonundan alınan 5 mm çapında misel disklerinin petrilerin merkezine yerleştirilmesi ile inoküle edilmiştir (Şekil 3.2). İnoküle edilen üretim ortamları 27 °C de 4 hafta inkübe edilerek inceleme parametreleri (bağımlı değişkenler) açısından değerlendirilmiştir.



Şekil 3.2. İnoküle edilmemiş (a) ve edilmiş (b) üretim ortamı.

Miselyal kompozit üretimi için başarılı makrofungus türlerinin/suşlarının belirlenmesi amacı ile kullanılan araştırma parametreleri; fungal koloni çapı, koloni büyüme hızı, koloni yoğunluğu ve miselin sertliği olarak sıralanabilir.

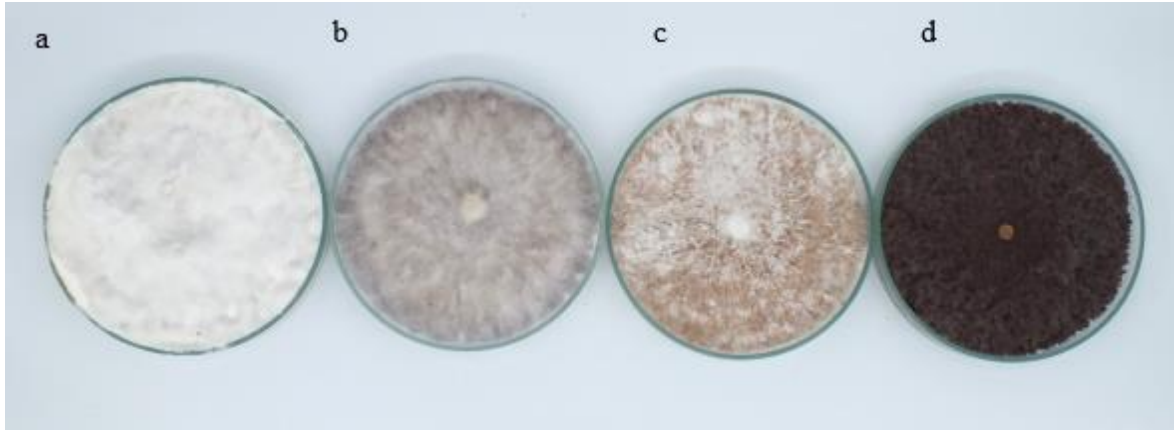
Fungal koloni çapı inkübasyonun ilk 10 günü içinde dijital kumpas ile 2 günde bir olacak şekilde ölçülmüştür. Günlük koloni büyüme hızı (GBH) koloni çaplarının zamana karşı grafiği kullanılarak hesaplanmıştır. Günlük koloni büyüme hızı (mm/gün) doğrusal büyümenin gerçekleştiği zaman aralığı ve bu zaman aralığındaki koloni çap artışı verileri kullanılarak Denklem 3.1 aracılığı ile hesaplanmıştır (Bilay vd., 2000).

$$GBH \text{ (mm/gün)} = \frac{R_2 - R_1}{t_2 - t_1} \quad (3.1)$$

$(t_2 - t_1)$: Doğrusal büyümenin gerçekleştiği zaman aralığı,

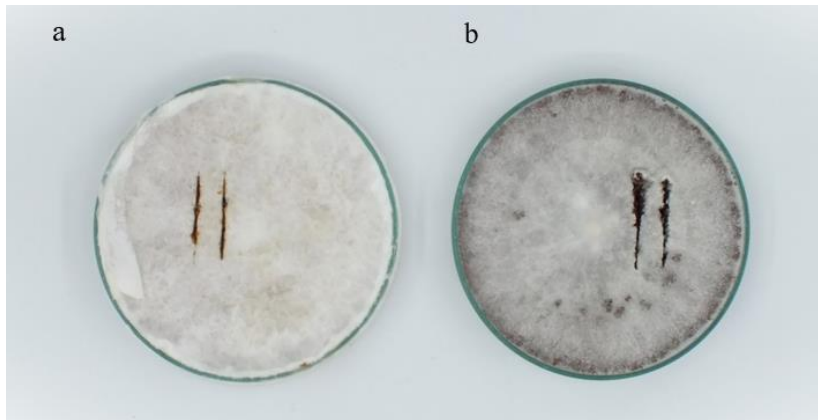
$(R_2 - R_1)$: Belirlenen zaman aralığındaki koloni çapı artışı

Koloni yoğunluğu inkübasyonun 30. gününde gerçekleştirilen görsel değerlendirme ile belirlenmiştir (Şekil 3.3). Her bir fungus kolonisi bağımsız 5 gözlemcinin incelemesine sunulmuş ve gözlemcilerden koloni yoğunluğunu 1 – 5 aralığında skorlandırması istenmiştir (1: En seyrek koloni, 5: En yoğun koloni). Tüm gözlemcilerden elde edilen verilerin ortalaması koloni yoğunluğu değeri olarak ifade edilmiştir (Attias vd., 2017).



Şekil 3.3. Farklı misel yoğunluğuna sahip fungal koloniler. a. *Ganoderma resinaceum*, b. *Cyclocybe cylindracea*, c. *Lentinus sajor-caju*, d. *Phaeolus schweinitzii*

Misel sertliği inkübasyonun 30. gününün sonunda miselyum bir bistüri ucu ile kesilerek belirlenmiş (Şekil 3.4) ve miselyumlar kırılkan ya da sert olarak gruplandırılmıştır (Balaes vd., 2023).



Şekil 3.4. Sert (a) ve kırılkan (b) misel yapısına sahip fungal koloniler. a. *Fomitopsis infirma*, b. *Flammulina velutipes*.

3.2.2.2. Tür içi biyolojik çeşitliliğin etkisi

Tür içi çeşitliliğin etkisi konusu yapılan tarama sonucunda başarılı olarak değerlendirilen makrofungus türleri ile araştırılmıştır. Bu kapsamda 9 türe ait toplam 31 suş çalışmaya dahil edilmiştir (Çizelge 3.4). Bu kapsamda uygulanan araştırmalar “Miselyal Kompozit Üretimi İçin Biyolojik Çeşitliliğin Etkisi” başlığı altında sunulan yöntemler ve araştırma parametreleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.4. Tür içi biyolojik çeşitliliğin etkisi konusunun araştırılmasında kullanılan tür ve suşlar

Tür Adı	Kod	Lokalite	
<i>Ganoderma lucidum</i>	D 154	Edirne	Merkez
	6065	Bursa	Osmangazi
	6068	Yalova	Çiftlikköy
<i>Lentinus arcularius</i>	BO 79	Bilecik	Osmaneli
	BP 268	Bilecik	Pazaryeri
	Ç 2	Eskişehir	Çatacık
	T 815	Eskişehir	Seyitgazi
<i>Lentinus meridionalis</i>	BM 40	Bilecik	Merkez
	BM 237	Bilecik	Merkez
	BS 7	Bilecik	Söğüt
<i>Pleurotus pulmonarius</i>	PO 21	Bursa	Osmangazi
	PP 26	Bursa	Osmangazi
	PP 180	Yalova	
<i>Schizophyllum commune</i>	BY 239	Bilecik	Yenipazar
	BM 39	Bilecik	Merkez
	D 35	Trabzon	Akçaabat
	M 131	Eskişehir	Merkez
<i>Trametes hirsuta</i>	BB 45	Bilecik	Bozüyük
	BP 76	Bilecik	Pazaryeri
	D 128	Trabzon	Akçaabat
	D 176	Düzce	Merkez

Çizelge 3.4. Tür içi biyolojik çeşitliliğin etkisi konusunun araştırılmasında kullanılan tür ve suşlar (devam)

Tür Adı	Kod	Lokalite	
<i>Trametes ochracea</i>	BP 328	Bilecik	Pazaryeri
	D 36	Bolu	Mengen
	T 850	Eskişehir	Seyitgazi
<i>Trametes trogii</i>	BP 57	Bilecik	Pazaryeri
	BS 62	Bilecik	Söğüt
	M 336	Eskişehir	Merkez
<i>Trametes versicolor</i>	BP 276	Bilecik	Pazaryeri
	D 22	Bartın	
	D 58	Kocaeli	Kartepe
	M 327	Eskişehir	Merkez

3.2.3. Miselyal kompozit üretimi

“Miselyal Kompozit Üretimi İçin Makrofungus Türlerinin Belirlenmesi” başlığı altında gerçekleştirilen araştırmalar sonucunda en başarılı türler arasından seçilen 2 adet makrofungus izolatu miselyal kompozit üretimi amacı ile kullanılmıştır.

Seçilen makrofungus izolatları ile miselyal kompozit üretimi amacı ile (Bkz. Şekil 2.1)'de sunulan iş akış şeması uygulanmıştır. Miselyal kompozit üretimi için kullanılan üretim ortamı %50 meşe talaşı - %50 (8-10 mm partikül boyutunda) meşe yongası içermektedir. Miselyal kompozit üretimine yönelik çalışmalar; miselyal kompozit üretim aşamaları ve karakterizasyon olmak üzere 2 ana başlıkta gerçekleştirilmiştir.

3.2.3.1. Miselyal kompozit üretim aşamaları

Miselyal kompozitler inokülasyon, inkübasyon, deaktivasyon aşamaları ile üretilmiştir.

İnokülasyon: Miselyal kompozit üretimi amacıyla seçilen makrofungus izolatları PDA ve MEA besiyerine aktiflenmiş ve 27 °C de 7 gün inkübe edilmiştir. Miselyal kompozit üretimi için inokülant olarak spawn tercih edilmiştir. Spawn hazırlığı için 1000 g buğday tartılarak üzerine 1500 ml distile su eklenerek yarım saat kaynatılmıştır. Kaynatılan buğday kaba aktarılarak oda sıcaklığına gelinceye dek soğutulmuştur. Üzerine 20 g alçı ve 5 g kireç eklenmiştir ve homojen bir şekilde karıştırılmıştır. Hazırlanan substrat 9 cm' lik cam petrielerin herbirine 20 g olacak şekilde dağıtılmış ve 121 °C'de 60 dk otoklavlanarak steril edilmiştir. Aktiflenen türler 7 günlük inkübasyonun sonunda koloninin en dış çevresindeki aktif misellerden disk çıkarılarak spawna inoküle edilerek 7 gün inkübe edilmiştir (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. İnokülant olarak kullanılan spawn petrisi.

Miselyal kompozit üretiminin ilk aşaması olarak torbalarda üretim ortamı hazırlanmıştır. Üretim ortamı içeriği %50 oranında meşe talaşı - %50 oranında meşe yongası, %10 oranında buğday kepeği ve %2 oranında CaCO_3 içermektedir. Meşe talaşı ve meşe yongası 24 saat distile suda bekletilmiştir. Fazla su süzülerek uygun nem içeriği ayarlanmıştır. Üzerine buğday kepeği ve CaCO_3 eklenerek homojen olacak şekilde karıştırılmıştır. Ardından 30*50 cm boyutunda misel mantar torbaları (Paster Medikal) kullanılarak torbaların her biri 800 g üretim ortamı ile doldurulmuştur. Hazırlanan üretim ortamı 121 °C'de 60 dk otoklavlanarak steril edilmiştir. Torbalar bir gece oda sıcaklığında soğumaya bırakılmıştır. İnokülant oranı üretim ortamını ağırlığının %10'u olacak şekilde

80 g spawn kullanılarak inokülasyon gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.5). Miselyal kompozit üretiminin ikinci aşaması olan kalıplara aktarım aşamasında torbalarda misel kaplanmış olan üretim ortamı homojen olarak karıştırılarak (karakterizasyon için gerekli boyutlarda üretilen) 40*40*160 mm, 40*40*40 mm, 300*300*20 mm, 29.5 mm çapında silindir (2, 4, 6 cm yüksekliğinde) ve 100 mm çapında silindir (2, 4, 6 cm yüksekliğinde) biçimindeki kalıplara aktarılmıştır. Kalıplar, inkübasyonun aerobik koşullarda sürdürülmesini sağlayacak biçimde tasarlanmış ve 3D yazıcı kullanılarak üretilmiştir.



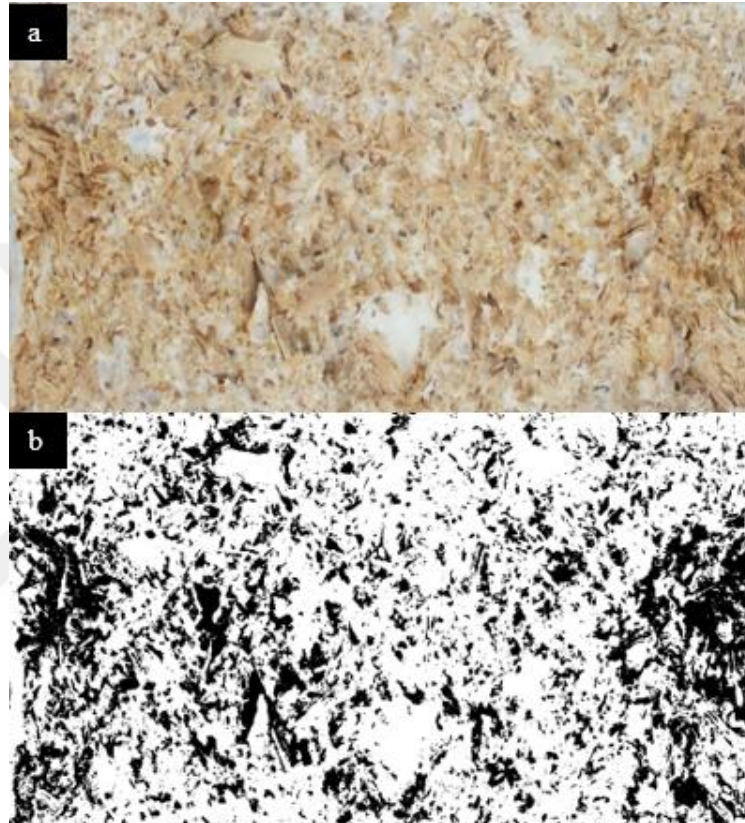
Şekil 3.6. Spawn ile inoküle edilmiş torba.

İnkübasyon: Miselyal kompozit üretiminde inkübasyon aşaması torbalarda ve kalıplarda olmak üzere iki aşamada gerçekleştirilmiştir.

Torbada inkübasyon aşamasında 800 gr üretim ortamı ile doldurulan 30*50 cm boyutunda mikrofilter torbalar 27 °C 'de 7 gün boyunca iklimlendirme odasında karanlıkta inkübe edilmiştir. İnkübasyonun 4. gününde torbalar homojen olarak karıştırılmıştır. Torbalarda yoğun miselyum gelişim sağlandıktan sonra miselyum ile kolonize olmuş üretim ortamları kalıplara aktarılmıştır.

Kalıplarda inkübasyon 27°C'de iklimlendirme cihazında gerçekleştirilmiştir. İnkübasyon aşamasının 10. gününde miselyal kompozitler kalıptan çıkartılarak yüzeyin miselyum ile kaplanabilmesi için kalıpsız olarak inkübasyona devam edilmiştir. Farklı

boyutlar ve şekillerde üretilen miselyal kompozitlerin inkübasyonu tamamen sonlandırmak için misel yüzdesinin %70'e ulaşması hedeflenmiştir. İnkübasyon süresi 14. güne ulaştığında 40*40*160 mm boyutundaki kalıplardan bir tanesi ortadan ikiye kırılarak fotoğraflanmıştır. Bu fotoğraf Image J programında değerlendirilerek misel yüzdesi hesaplanmıştır. Misel yüzdesi %70'e ulaştığında inkübasyon sonlandırılmıştır (Şekil 3.7).



Şekil 3.7. Image J programında misel yüzdesi hesaplamasında kullanılan görüntüler.

a. Kalıbın orijinal misel görüntüsü, b. Kalıbın Image J programında işlenmiş görüntüsü

Deaktivasyon: İnkübasyon sonlandırıldıktan sonra miselyal kompozit kalıplar 24 saatlik kurutma işlemi ile deaktive edilmiştir. Deaktivasyon işleminde 2 farklı sıcaklık uygulanmıştır. Kalıplar ilk olarak 150 °C'de 90 dk ve 120 dk bekletildikten sonra 60°C 22 saat tutularak kurutma işlemi tamamlanmıştır (Şekil 3.8). Canlılık testi için Balaeş vd., (2023) tarafından önerilen yöntem modifiye edilerek uygulanmıştır. Kurutma işlemi tamamlandıktan sonra steril ortamda 40*40*160 mm'lik kalıbın iç dokusundan PDA ve MEA besiyerlerine inokülasyon gerçekleştirilmiştir. İnoküle edilen petriyeler 27°C'de 7 gün

inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda petrilere üreme olup olmadığı gözlenmiştir.



Şekil 3.8. Deaktive edilen miselyal kompozitler.

3.2.3.2. Karakterizasyon

Miselyal kompozit üretimi sürecinde, torbalardan kalıba aktarılırken ve kalıpları deaktive etmeden önce üretilen miselyal kompoziti karakterize etmek için biyolojik, kimyasal, fiziksel ve mekanik araştırma parametreleri ve mikroskobik inceleme parametreleri kullanılmıştır. Çalışma aşamasında üç torba ve üç kalıp olmak üzere toplam altı numune ile çalışılmış ve analizler her numune için üç paralel olarak gerçekleştirilmiştir. Kalıp aşamasında gerçekleştirilen analizlerin öncesinde, kompozitler değirmende homojen olarak parçalanarak kullanılmıştır.

Biyolojik araştırma parametreleri lignoselülozik enzim aktivitesi tayini içermektedir. Ligninolitik enzimlerden lakkaz, mangan peroksidaz, mangan bağımsız

peroksidaz ve lignin peroksidaz enzim aktiviteleri tayin edilmiştir. Ayrıca ksilanaz ve selüloz enzim aktiviteleri de tayin edilmiştir.

Lignoselülozik enzim aktivite tayini için torbalardan ve kalıptan alınan numuneler laboratuvar tipi değirmende mekanik olarak parçalanmıştır. Homojen olarak parçalanmış örnekler 250 ml'lik erlenlere 10 g tartılarak üzerine 50 ml distile su ilave edilmiştir. Ekstraksiyon işlemi 25°C 100 rpm de 6 saatte gerçekleştirilmiştir. Daha sonra örnekler filtre kağıdı ile süzlmüştür. Elde edilen kültür sıvısı 25°C' de 6000 rpm de 5 dk boyunca santrifüjlenmiş ve süpernatant alınarak spektrofotometrik yöntem ile enzim aktivitesi tayini gerçekleştirilmiştir. Lakkaz, mangan peroksidaz, mangan bağımsız peroksidaz ve lignin peroksidaz enzimlerin aktivite tayini Bayburt vd. (2014) tarafından önerilen yöntem kullanılarak tayin edilmiştir. Ksilanaz ve selüloz enzim aktivitesi tayini Farinas, (2013) tarafından önerilen yöntem kullanılarak tayin edilmiştir.

Lakkaz enzim aktivitesini belirlemek için spektrofotometre küvetine 2,4 ml 100 mM sodyum asetat tamponu (pH 4,5) eklenmiştir ve üzerine 0,3 ml ABTS reaktifi ilave edilmiştir. Sonrasında 0,3 ml süpernatant eklenmiştir. Deneye ait kör 2,7 ml 100 mM sodyum asetat tamponu (pH 4,5) ve 0,3 ml ABTS reaktifi ile hazırlanmıştır ve 420 nm'de 10 sn aralıklarla 3 dk absorbans ölçülmüştür.

Mangan bağımlı peroksidaz enzim aktivitesini belirlemek için spektrofotometre küvetine 1,8 ml 0,25 M sodyum tartarat tamponu (pH 4,5) eklenmiştir. Ardından 0,15 ml 20 mM DMP, 0,15 ml 20 mM MnSO₄ eklenmiştir. Üzerine 0,3 ml 4 mM H₂O₂ ve 0,6 ml süpernatant eklenmiştir. Deneye ait kör 2,4 ml 0,25 M sodyum tartarat tamponu (pH 4,5), 0,15 ml 20 mM DMP, 0,15 ml 20 mM MnSO₄ ve 0,3 ml 4 mM H₂O₂ ile hazırlanmıştır ve 469 nm'de 10 sn aralıklarla 3 dk absorbans ölçülmüştür.

Mangan bağımsız peroksidaz enzim aktivitesini belirlemek için spektrofotometre küvetine 1,8 ml 0,25 M sodyum tartarat tamponu (pH 4,5) eklenmiştir. Ardından 0,15 ml 20 DMP ve 0,3 ml 4 mM H₂O₂ eklenmiştir. Üzerine 0,6 ml süpernatant eklenmiştir. Deneye ait kör 2,4 ml 0,25 M sodyum tartarat tamponu (pH 4,5), 0,15 ml 20 mM DMP ve 0,3 ml 4 mM H₂O₂ ile hazırlanmıştır ve 469 nm'de 10 sn aralıklarla 3 dk absorbans ölçülmüştür.

Lignin peroksidaz enzim aktivitesini belirlemek için spektrofotometre kuvetine 2,3 ml 100 mM sodyum tartarat (pH 2,5) eklenmiştir. Ardından 0,3 ml 200 mM VA ve 0,3 ml 4 mM H₂O₂ eklenmiştir. Üzerine 0,1 ml süpernatant eklenmiştir. Deneye ait kör 2,4 ml 100 mM sodyum tartarat tamponu (pH 4,5), 0,3 ml 20 mM DMP ve 0,3 ml 4 mM H₂O₂ ile hazırlanmıştır ve 310 nm’de 10 sn aralıklarla 3 dk absorbans ölçülmüştür.

Ksilanaz enzim aktivitesini belirlenmek için deney tüplerine 0,75 ml substrat solüsyonu olarak %1’lik ksilan eklenmiştir. Üzerine 0,25 ml süpernatant eklenmiştir. Deney körü olarak kuvetlere süpernatant yerine 0,25 ml 50 mM sodyum sitrat tamponu (pH 5,3) eklenmiştir. Deney tüpleri 50°C’ de su banyosunda 20 dk boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda deney tüpleri soğuk su banyosuna aktarılmıştır. Her bir deney tüpüne 1,5 ml DNS reaktifi eklenmiştir ve 5 dk boyunca kaynar su banyosunda bekletilmiştir ve deney tüpleri soğuk su banyosuna aktarılmıştır. Daha sonra örnekler spektrofotometre kuvetine aktarılarak 540 nm’de absorbans ölçülmüştür. Aynı işlemler standart ksiloz çözeltisi içinde tekrarlanmıştır. Ksiloz stok çözeltisi seri dilüsyonlar şeklinde çalışılmıştır. Ksiloz stok çözeltisi 0,01 M olarak hazırlanmıştır ve 0,01 M – 0.0017 M aralıktaki konsantrasyonlar çalışılmıştır (Şekil 3.10).

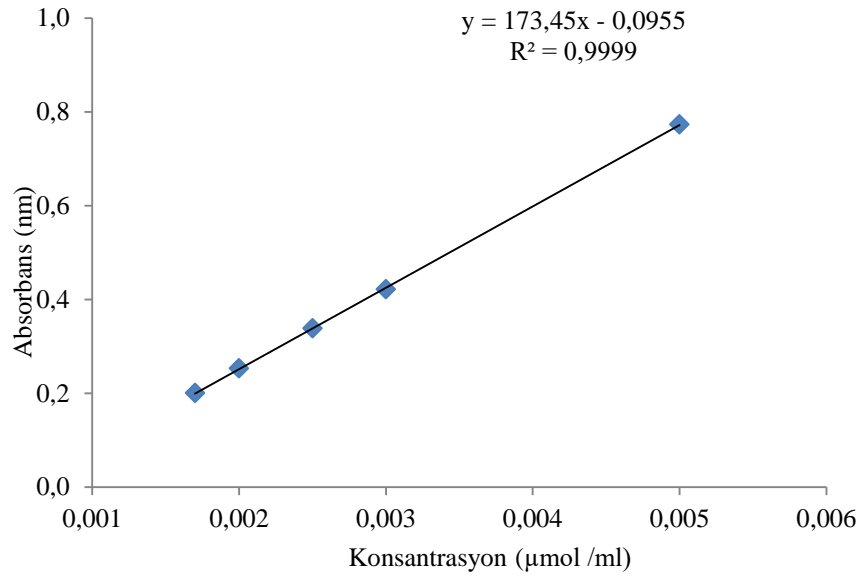
Ksilanaz enzim aktivitesi tayini Denklem 3.2. ile hesaplanmıştır (Mercimek Takcı ve Sertbaş, 2019). Negatif kontrolde elde edilen absorbans değerleri deney gruplarının absorbans değerlerinden çıkartılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Ksilanaz (U/ml)} = \frac{\text{Açığa çıkan ksiloz miktarı } (\mu / \text{ml}) \times \text{Resksiyonun toplam hacmi (ml)}}{\text{Enzim miktarı (ml)} \times \text{Reaksiyon süresi (dk)}} \times (\text{Seyreltme Faktörü})$$

(3.2.)



Şekil 3.9. Farklı konsantrasyonlardaki ksiloz çözeltileri. Soldan sağa, Körler, Ksiloz standartı (0,01, 0,005, 0,003, 0,0025, 0,002, 0,0017 M konsantrasyon aralığı)



Şekil 3.10. Ksiloz standart eğrisi

Selüloz enzim aktivitesini belirlemek için filter paper assay (FPA) yöntemi kullanılmıştır. Rulo haline getirilmiş 1*6 cm'lik filtre kâğıdı şeridi deney tüplerine yerleştirilmiştir. Üzerine 1,0 mL 50 mM sitrat tamponu (pH 4,8) eklenmiştir ve üzerine 0,5 mL süpernatant eklenmiştir. Deney körü olarak kuvetlere süpernatant yerine 1,5 ml 50 mM sodyum sitrat tamponu (pH 5,3) eklenmiştir. Daha sonra tüpler, 50°C'de 60 dakika su banyosunda inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon süresinin sonunda, her test tüpü su

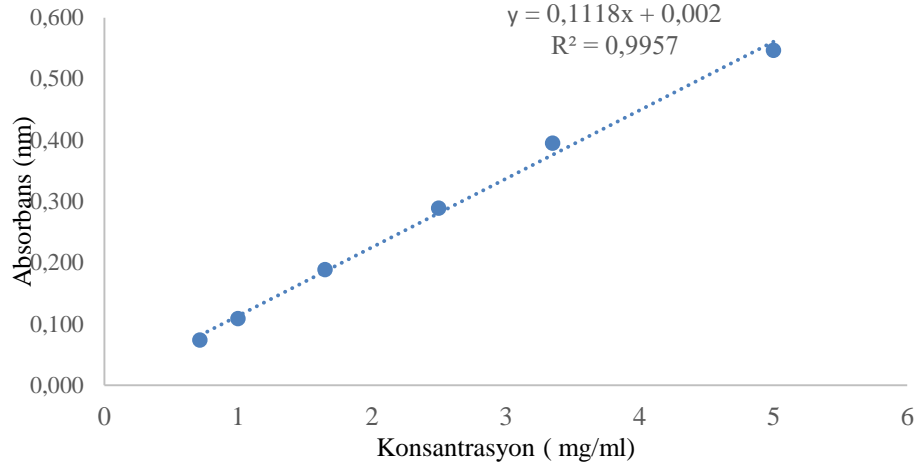
banyosundan çıkarılmıştır. Üzerine 3,0 mL DNS reaktifi eklenip karıştırılarak enzim reaksiyonu durdurulmuştur. Deney tüpleri kaynayan su banyosunda 5 dakika kaynatılmıştır. Kaynama işlemi sonunda tüpler, soğuk su banyosuna aktarılır ve 10 dk belketilmiştir. Daha sonra 0,20 ml spektrofometre küvetlerine aktarılmıştır ve üzerine 2,5 ml distile su eklenerek 540 nm'de absorbans ölçülmüştür. Glikoz stok çözeltisi seri dilüsyonlar şeklinde çalışılmıştır (Şekil 3.12). Aynı işlemler glikoz çözeltisi içinde tekrarlanmıştır. Glikoz stok çözeltisi 5 mg/ml olarak hazırlanmıştır ve 5– 0,715 mg/ml aralıktaki konsantrasyonlar çalışılmıştır (Şekil 3.13). Selülaz enzim aktivitesi Denklem 3.3. ile hesaplanmıştır (Xiao vd.,2004). Negatif kontrolde elde edilen absorbans değerleri deney gruplarının absorbans değerlerinden çıkartılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Selülaz(FPU/ml)} = \left(\frac{\text{(Absorbans)}}{\text{(1 mg karşılık gelen glikoz)}} * (5,55 \mu\text{mol/mg}) \right) / \frac{1}{\text{Reaksiyon Süresi (dk)}} * \frac{1}{\text{Enzim hacmi (ml)}}$$

(3.3.)



Şekil 3.11. Farklı konsantrasyonlardaki glikoz çözeltileri. Soldan sağa, Körler, Glikoz standartı (10, 6,7, 5, 3,3, 2, 1 mg/mL konsantrasyon aralığı)



Şekil 3.12. Glikoz standart eğrisi

Kimyasal araştırma parametreleri, üretim ortamının pH, kül, organik madde içeriği analizleri içermektedir.

Üretim ortamının pH analizinde hem torba hem kalıp aşamasında yaş numuneler kullanılmıştır. Analizde 10 g yaş numune tartılarak 250 mL'lik erlene aktarılmıştır. Üzerine 50 mL distile su eklenmiş ve 100 rpm'de, 6 saat çalkalanmıştır. Çalkalama işlemi sonrası numuneler kurutma kağıdı ile süzülmüş ve pH değeri, pH metre yardımıyla ölçülmüştür.

Kül tayini analizi nem tayini sonrası elde edilen kuru numuneler üzerinden gerçekleştirilmiştir. Kuru numuneden 2 g alınarak 600 °C'de kül fırınında 3 saat boyunca yakılmıştır. (Şekil 3.14). Yakma işleminden sonra geriye kalan inorganik kalıntılar tartılarak Denklem 3.4 ile kül miktarı hesaplanmıştır.

$$\text{Kül içeriği (\%)} = \left(\frac{W_1}{W_2} \right) * 100$$

(3.4)

W₁: Kuru numunenin ağırlığı

W₂: Yakıldıktan sonra kalan kül miktarı



Şekil 3.12. Kül fırını aşamaları. a. Yakılmamış numune, b. Yakılmış numune

Organik madde miktarı tayini, kül miktarına göre hesaplanmıştır. Kül analizinden elde edilen veriler kullanılarak organik madde miktarı (OMM) değeri Denklem 3.4 ile hesaplanmıştır (Kırbağ ve Akyüz, 2008).

$$\text{OMM (\%)} = \frac{(W_i - W_f)}{W_i} * 100$$

(3.4)

W_i : başlangıç kuru ağırlığı,

W_f : final kuru ağırlığı

Fiziksel araştırma parametreleri olarak yoğunluk, büzülme oranı ve ısı iletkenlik ve termogravimetrik analiz (TGA) değerleri incelenmiştir.

Kalıpların nem içeriğinden arındırılması amacıyla, 100 °C’de 24 saat boyunca etüvde kurutulmuştur. Kurutma işlemi sonrasında kalıpların kütlesi tartılmıştır. Kalıbın boyutsal ölçümleri dijital kumpas yardımıyla her bir ekseninde (uzunluk, genişlik, yükseklik)

alınmış ve hacim hesaplamaları bu ölçümler üzerinden yapılmıştır. Yoğunluk (d) Denklem 3.5 ile hesaplanmıştır (Joshi vd., 2020).

$$d \text{ (g/cm}^3\text{)} = \frac{m}{V}$$

(3.5)

d: Yoğunluk

m: Kurutulmuş numunenin kütlesi

V: Numunenin hacmi

Miselyal kompozitlerde kurutma işlemine bağlı olarak oluşan büzülme oranı, kurutma öncesi ve sonrası boyut ölçümlerine dayalı olarak hesaplanmıştır. Bu amaçla her bir örneğin en, boy ve yükseklik ölçümleri kurutma öncesinde ve tamamen kuruduktan sonra dijital kumpas ile ölçülmüş ve Elsacker vd.,(2019) tarafından önerilen yöntem kullanılarak Denklem 3.6 ile hesaplanmıştır.

$$\text{Büzülme Oranı (\%)} = \frac{(V_{\text{ıslak}_j} - V_{\text{kuru}_j})}{V_{\text{ıslak}_j}} * 100$$

$V_{\text{ıslak}}$: Kurutma öncesi örneğin hacmi

V_{kuru} : Kurutma sonrası hacmi ifade etmektedir.

(3.6)

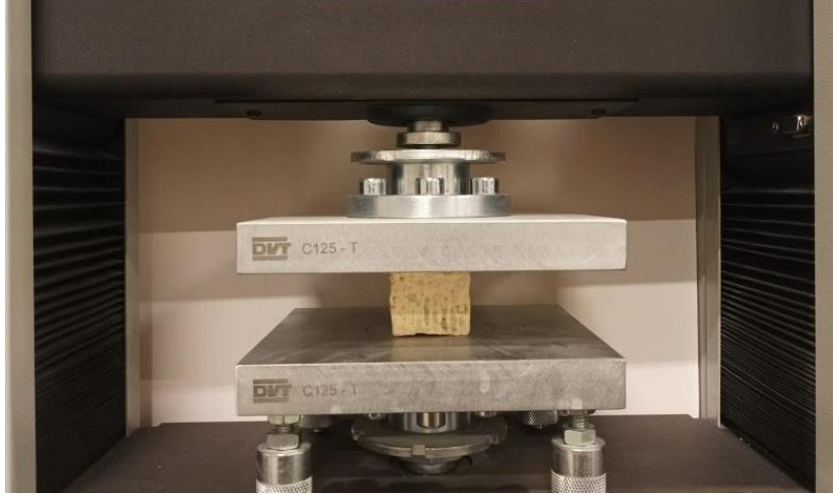
Isıl iletkenlik değerini belirlemek için 30*30*2 cm'lik kalıplar kullanılmış ve sıcaklığa bağlı ısıl iletkenlik katsayıları Lasercomp marka HFM Fox-314 ölçüm cihazı ile yapılmıştır (Şekil 3.15). Ölçüm cihazı ısıl iletkenlik katsayısını ısı akış ölçer yöntemini kullanarak belirlemektedir.



Şekil 3.14. Isıl iletkenlik katsayısı ölçüm cihazı.

TGA analizleri SDT Q600 cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu test ile miselyal kompozit malzemenin 40-1000 °C aralığında ağırlık kaybı değerleri belirlenmiştir. TGA analizi verileri Eskişehir Teknik Üniversitesinden hizmet alımı yolu ile elde edilmiştir.

Miselyal kompozitin mekanik özelliklerini belirlemek için basınç ve termal degradasyon analizleri yapılmıştır. Basınç testi, basma test cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.16).



Şekil 3.15. Basma test cihazında basınç testi.

Mikroskobik incelemeler, SEM analizleri ile gerçekleştirilmiştir. Miselin üretim ortamından kolonizasyonu gösterilmiş ve SEM görüntülerinde misel çapı hesaplanmıştır. Misel çapı image J programı kullanılarak hesaplanmıştır. SEM analizleri Eskişehir Osmangazi Üniversitesinden hizmet alımı yolu ile sağlanmıştır.

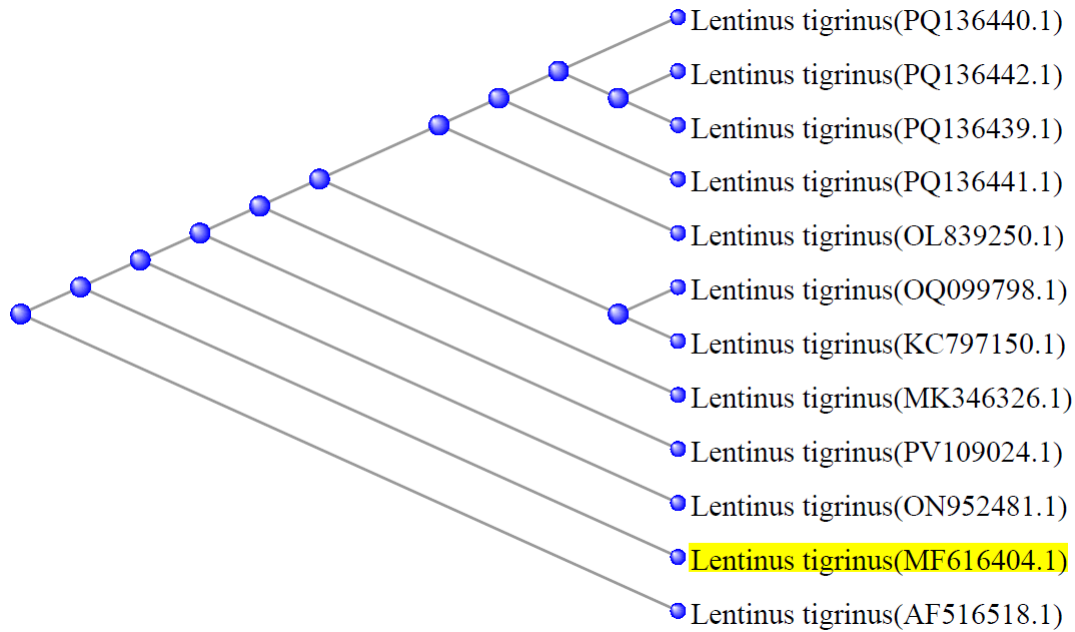
3.2.5. İstatistiksel analiz

Tüm çalışmalar en az 3 paralel halinde uygulanarak elde edilen verilerin istatistiksel analizi Çok Değişkenli Varyans Analizi (MANOVA) kullanılarak, çoklu karşılaştırmaları (Post Hoc) ise Tukey testi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar, ortalama \pm standart sapma formatında sunulmuştur.

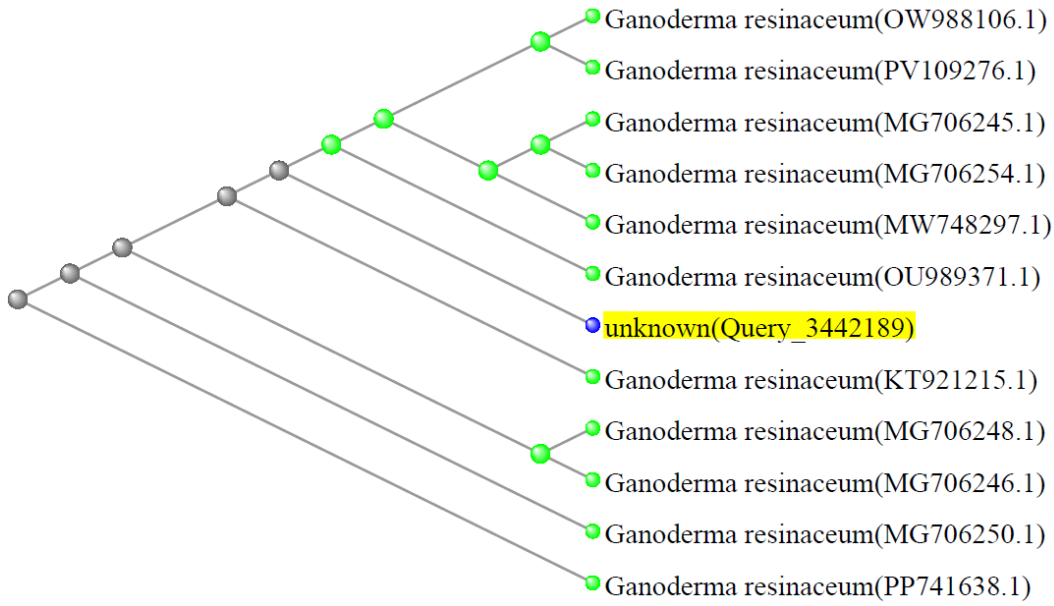
4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Makrofungus türlerinin geleneksel ve moleküler yöntemlerle teşhis edilmesi

Miselyal kompozit üretimi için seçilen SV 12 kodlu makrofungus izolatu araştırmanın gerçekleştirildiği laboratuvarında daha önce gerçekleştirilen araştırmalar sırasında *Lentinus tigrinus* olarak teşhis edilmiştir. SV 19 izolatu ise bu araştırma sırasında geleneksel yöntemlerle *Ganoderma resinaceum* SV 19 olarak teşhis edilmiştir. İzolatların geleneksel yöntemler ile gerçekleştirilen teşhisi moleküler yöntemlerle de onaylanmıştır. İzolatların akrabalık ilişkilerini gösteren filogenetik ağaçlar Şekil 4.1. ve 4.2.'de sunulmuştur.



Şekil 4.1. *Lentinus tigrinus* SV 12 izolatının filogenetik dendrogramı.



Şekil 4.2. *Ganoderma resinaceum* SV 19 izolatının filogenetik dendrogramı.

Lentinus tigrinus SV 12 izolatının dizi analizi araştırmanın gerçekleştirildiği laboratuvarında daha önce gerçekleştirilen araştırmalar sırasında elde edilmiş olup bu örneğin ITS 1-4 dizisi NCBI veri tabanında MF616404 erişim numarası ile kayıtlı durumdadır. *Ganoderma resinaceum* SV 19 izolatının ITS 1-4 dizisi için NCBI'de yapılan BLAST analizi sonucunda için MG706246.1, KX371596.1, MG7062478.1 de dahil olmak üzere toplam 11 erişim numarası ile kayıtlı dizilere % 100 benzerlik düzeyi elde edilmiştir. Böylece her iki izolatın geleneksel yöntemlerle gerçekleştirilen teşhisleri moleküler yöntemler ile onaylanmış durumdadır.

4.2. Miselyal kompozit üretimi için biyolojik çeşitliliğin önemi

Çalışma kapsamında miselyal kompozit üretimi amacıyla başarılı türleri belirlemek ve türler arası biyolojik çeşitliliğin miselyal kompozit üretimi açısından potansiyelini belirlemek için toplam 72 makrofungus türü çalışılmıştır. Tür içi çeşitliliğin etkisini araştırmak için ise 9 farklı türe ait toplam 31 şuş incelenmiştir. Çalışmaya dahil edilecek türler belirlenmesi aşamasında farklı hif yapısına ve çürüklük tipine sahip türlerin seçilmesine önem verilmiştir.

Toplam 72 tür ve 31 şusu içeren bu çalışmada miselyal kompozit üretimine aday türleri belirlemek için üretim ortamı olarak meşe talaşı kullanılmıştır.

4.2.1. Türler arası biyolojik çeşitliliğin etkisi

Türler arası biyolojik çeşitliliğinin etkisini araştırmak ve miselyal kompozit üretimi için potansiyel türleri belirlenmek için incelenen 4 farklı araştırma parametresine ilişkin sonuçlar Çizelge 4.1.'de sunulmuştur.

Çizelge 4.1. Makrofungus türlerine ait koloni çapı, günlük büyüme hızı, misel yoğunluğu ve misel sertliği değerleri

Kod	Tür Adı	Koloni çapı (mm) ³	Büyüme hızı (mm/gün) ¹	Misel yoğunluğu ²	Misel sertliği ²
BM 53	<i>Agrocybe splendida</i>	34,70 r,s	3,45 q,á,β	5,00	K
BM 245	<i>Antrodia macra</i>	26,71 t,u	2,17 δ,ε,ζ	3,00	K
BB 649	<i>Antrodia ramentacea</i>	19,36 v,y,z	1,45 ε,ζ,θ,λ	2,40	K
BO 125	<i>Antrodiella onychoides</i>	9,77	0,35	–	–
BB 507	<i>Auricularia auricula-judae</i>	15,19 y,z,x	1,06 θ, λ,μ	3,00	K
BB 13	<i>Auriscalpium vulgare</i>	110,00 a	12,25 c	1,00	K
M 166	<i>Bjerkandera adusta</i>	108,24 a	11,73 c,d,e,f	4,80	S
MIH 3	<i>Cerioporus squamosus</i>	10,19 x	0,42 μ	1,00	K
D 30	<i>Cerrena unicolor</i>	48,69 n,o	4,52 z,x,w	3,40	K
BB 360	<i>Clavulina cinerea</i>	72,22 h,i,j	7,78 n,o,p,r	1,40	K
BB 287	<i>Crepidotus variabilis</i>	20,99 u,v,y	1,58 ε,ζ,θ,λ	3,40	K
BB 374	<i>Cyanosporus caesius</i>	15,55 y,z,x	0,77 λ, μ	2,60	K
M 322	<i>Cyclocybe cylindracea</i>	50,10 n,o	4,60 z,x,w	4,00	K
BM 76	<i>Exidia glandulosa</i>	10,19 x	0,64 λ,μ	1,20	K
M 300	<i>Flammulina velutipes</i>	14,99 o	4,18 x,w,q	4,00	K
M 184	<i>Fomes fomentarius</i>	93,21 b,c	10,47 g,h,i	5,00	S
BO 23	<i>Fomitopsis pinicola</i>	46,79 n,o	4,57 z,x,w	2,20	K
BB 572	<i>Fuscoporia torulosa</i>	59,71 o,p	3,99 w,q,á	2,40	K
M 105	<i>Ganoderma applanatum</i>	107,90 a	12,07 c,d,e,f	5,00	S
BB 303	<i>Ganoderma australe</i>	94,08 b,c	10,17 h,i,j	3,80	S
D 21	<i>Ganoderma carnosum</i>	110,00 a	15,14 b	2,80	K

Çizelge 4.1. Makrofungus türlerine ait koloni çapı, günlük büyüme hızı, misel yoğunluğu ve misel sertliği değerleri (devam)

Kod	Tür Adı	Koloni çapı (mm) ³	Büyüme hızı (mm/gün) ¹	Misel yoğunluğu ²	Misel sertliği ²
BP 342	<i>Ganoderma lucidum</i>	110,00 a	14,31 b	2,20	K
SV 19	<i>Ganoderma resinaceum</i>	110,00 a	12,00 c,d	5,00	S
BG 22	<i>Gloeophyllum abietinum</i>	43,94 o,p	4,16 x,w,q	2,60	K
T 762	<i>Gloeophyllum sepiarium</i>	46,59 n,o	4,39 x,w,q	2,80	K
BO 59	<i>Gloeophyllum trabeum</i>	63,85 k,l,m	6,50 s,t,u	3,80	K
BB 625	<i>Gymnopilus penetrans</i>	10,27 x	0,36 µ	1,80	K
BM 54	<i>Gymnopus dryophilus</i>	7,77	0,35	–	–
BY 229	<i>Gymnopus hybridus</i>	78,48 e,f,g,h	8,14 l,m,n,o	3,20	S
BB 339	<i>Heterobasidion annosum</i>	30,23 s,t	3,15 á,β,γ	4,00	K
M 168	<i>Inonotus hispidus</i>	49,01 n,o	5,04 y,z,x	3,60	K
BB 391	<i>Lentinellus ursinus</i>	16,08	0,96	–	–
T 815	<i>Lentinus arcularius</i>	75,33 g,h,i	7,20 o,p,r,s	2,40	K
T 438	<i>Lentinus brumalis</i>	80,36 e,f,g	8,07 l,m,n,o	1,40	K
BM 75	<i>Lentinus meridionalis</i>	87,41 c,d	8,92 k,l	4,00	S
3	<i>Lentinus sajor-caju</i>	84,28 d,e	8,78 k,l,m	4,00	K
SV 12	<i>Lentinus tigrinus</i>	110,00 a	11,09 d,e,f,g,h	4,80	S
S2	<i>Lenzites betulinus</i>	94,58 b	9,93 i,j	4,80	S
BG 269	<i>Leucocoprinus leucothites</i>	14,98 y,z,x*	0,92 θ,λ,µ	3,20	S
T 849	<i>Leucogyrophana pseudomollusca</i>	110,00 a	16,77 a	3,00	K
BG 234	<i>Fomitopsis infirma</i>	77,23 f,g,h	7,81 n,o,p	5,00	S
M 101	<i>Neoantrodia serialis</i>	70,24 i,j,k	7,10 p,r	4,60	S
BÍ 128	<i>Panellus sp.</i>	5,00	0,00	–	–
D 26	<i>Panus neostrigosus</i>	107,31 a	11,41 c,d,e,f,g	5,00	S
BB 251	<i>Phaeolus schweinitzii</i>	67,86 j,k,l	7,86 m,n,o,p	1,40	K
BY 9	<i>Phellinus igniarius</i>	52,70 n,o	5,36 v,y,z	3,20	K
BB 571	<i>Phellinus pomaceus</i>	29,45 m,n	5,74 u,v,y	5,00	S
BP 403	<i>Pholiota muricella</i>	33,80 r,s	2,98 β,γ,δ	5,00	K
PCP001	<i>Pleurotus citrinopileatus</i>	62,81 l,m	5,98 t,u,v,y,µ	4,20	K
PD001	<i>Pleurotus djamor</i>	13,36 z,x	0,92 θ, λ,,µ	3,40	K
M 325	<i>Pleurotus dryinus</i>	9,85 x	1,21 ζ,θ,µ	3,80	K
K 24	<i>Pleurotus eryngii</i>	53,27 n	5,29 v,y,z,x	3,80	K
M 1	<i>Pleurotus eryngii var farulae</i>	61,66 l,m	6,10 s,t,u,v	4,60	S

Çizelge 4.1. Makrofungus türlerine ait koloni çapı, günlük büyüme hızı, misel yoğunluğu ve misel sertliği değerleri (devam)

Kod	Tür Adı	Koloni çapı (mm) ³	Büyüme hızı (mm/gün) ¹	Misel yoğunluğu ²	Misel sertliği ²
K 211	<i>Pleurotus nebrodensis</i>	52,70 p,r	3,68 w,q,á,β	4,40	S
PO 17	<i>Pleurotus ostreatus</i>	62,86 l,m	6,83 r,s,t	4,60	K
PO 21	<i>Pleurotus pulmonarius</i>	96,19 d,e,f	8,56 k,l,m,n	3,20	S
BP 333	<i>Radulomyces molaris</i>	10,72 x	0,72 λ,μ	4,20	K
BY 238	<i>Schizophyllum amplum</i>	96,18 b	9,45 j	3,40	S
BY 239	<i>Schizophyllum commune</i>	72,36 h,i,j	7,56 o,p,r	3,40	S
D 64	<i>Stereum hirsutum</i>	106,96 a	10,43 h,ı	4,40	K
B 72	<i>Szczepkamyces campestris</i>	5,00	0,00	–	–
D 95	<i>Trametes cinnabarina</i>	49,94 n,o	5,24 v,y,z,x	4,20	K
BP 364	<i>Trametes gibbosa</i>	110,00 a	11,88 c,d,e	5,00	S
D 176	<i>Trametes hirsuta</i>	88,45 b,c,d	9,36 j,k	4,40	S
T 850	<i>Trametes ochracea</i>	100,00 a	11,29 f,g,h,ı	4,40	S
D 31	<i>Trametes pubescens</i>	104,59 a	11,79 c,d,e	4,80	S
M 336	<i>Trametes trogii</i>	110,00 a	12,22 c,d,e	4,80	K
M 327	<i>Trametes versicolor</i>	104,28 a	11,11 d,e,f,g,h	5,00	S
BM 10	<i>Trichaptum abietinum</i>	28,90 s,t	1,85 ε,ζ,θ,λ	2,00	K
BY 235	<i>Trichaptum fuscoviolaceum</i>	110,00 a	11,02 e,f,g,h,k	1,80	K
M 335	<i>Volvariella bombycine</i>	73,12 h,i,j	7,90 m,n,o,p	2,40	K
M 339	<i>Xylaria polymorpha</i>	23,69 t,u,v	2,21 γ,δ,ε	3,60	K

Değerlerin yanında aynı harflerin kullanımı, istatistiksel anlamda benzerliği ifade etmektedir.

¹ 10 günlük inkübasyon süresi sırasında elde edilen veriler.

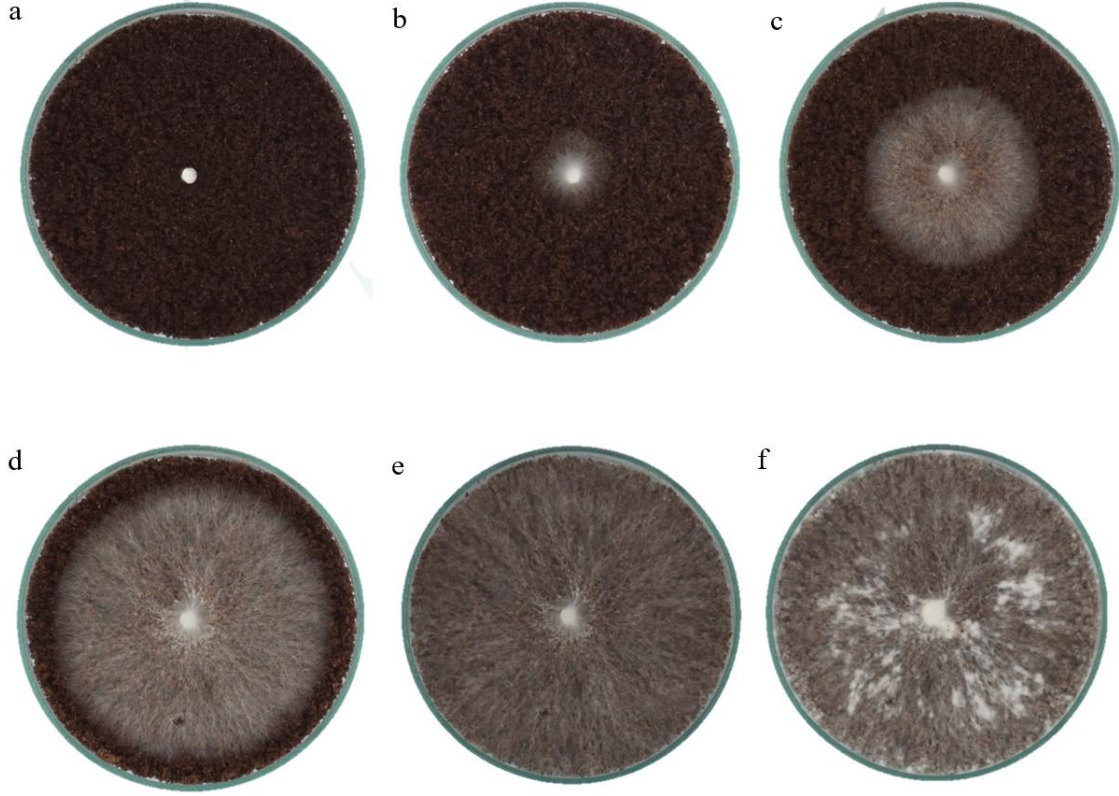
² 30 günlük inkübasyon süresi sırasında elde edilen veriler.

S: Sert

K: Kırılğan

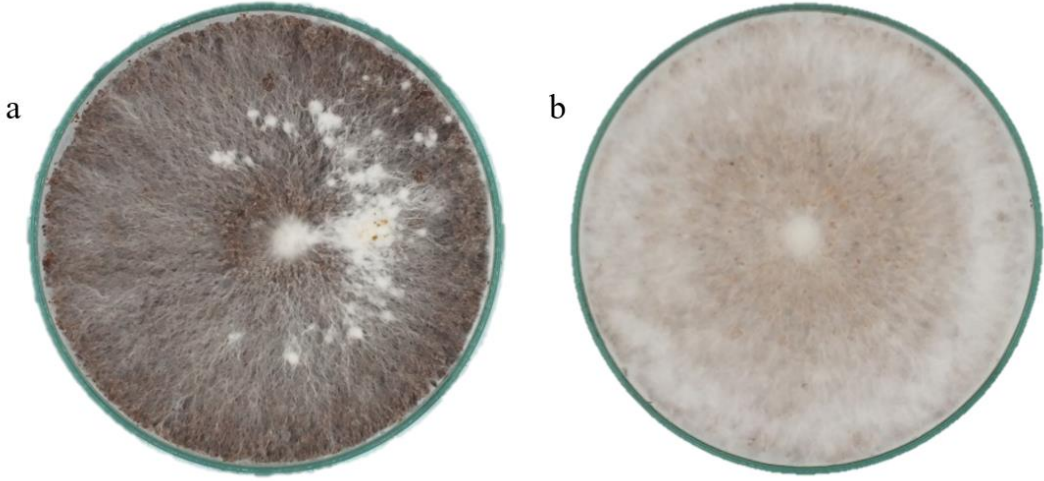
Makrofungus kolonilerinin çapı 10 günlük inkübasyon süresi boyunca 2 günde bir olacak şekilde ölçülmüştür. Meşe talaşı üretim ortamında 12 cm'lik petrielerde hızlı bir şekilde üreme potansiyeline sahip bazı türler 10 günden önce petri kabını tamamen kaplayarak 110 mm çapına ulaşmıştır. Ayırt edici biçimde yüksek koloni çapı değerlerine sahip bu türler *Ganoderma lucidum* BP 342 ve *Leucogyrophana pseudomollusca* T 849 türleridir. *Leucogyrophana pseudomollusca* T 849 türü 6. günde ve *Ganoderma lucidum*

BP 342 türü 8. günde 110 mm koloni çapına ulaşmıştır. Şekil 4.3.'de 8. günde petri kabını kaplayarak 110 mm çapına ulaşan *Ganoderma lucidum* BP 364 türünün zaman bağlı koloni büyümesi sunulmuştur.



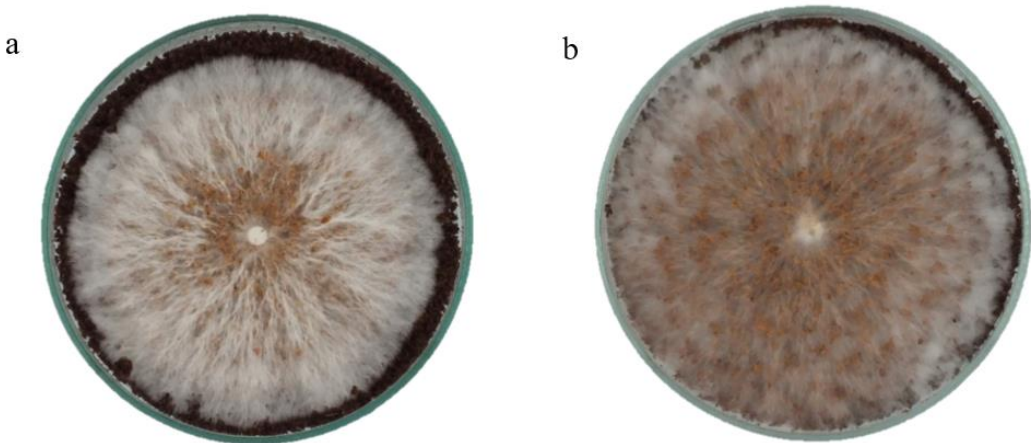
Şekil 4.3. *Ganoderma lucidum* BP 342 izolatının günlere bağlı fungal koloni büyümesi. a. 0. gün, b. 2. gün, c. 4. gün, d. 6. gün, e. 8. gün, f. 10. gün.

İnkübasyonun 10. gününde 110 mm koloni çapına ulaşan türler ise *Auriscalpium vulgare* BB 13, *Ganoderma carnosum* D 21, *Ganoderma resinaceum* SV 19, *Lentinus tigrinus* SV 12 ve *Trichaptum fuscoviolaceum* BY 235, *Trametes gibbosa* BP 364, *Trametes trogii* M 336, *Bjerkandera adusta* M 166, *Ganoderma applanatum* M 105, *Trametes ochracea* T 850 olarak sıralanabilir (Şekil 4.2).



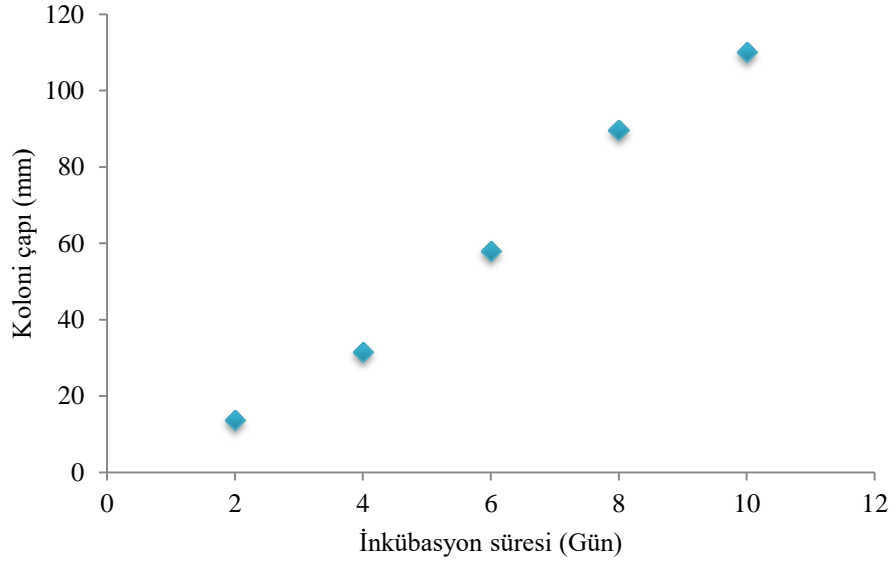
Şekil 4.4. İnkübasyonun 10. gününde 110 mm çapına ulaşan örnek türlere ait koloniler. a. *Ganoderma carnosum* D 21, b. *Lentinus tigrinus* SV 12

İnkübasyonunda 10 günün sonunda koloni çapı 90 - 110 mm çapına ulaşan türler ise, *Panus neostrigosus* D 26, *Stereum hirsutum* D 64, *Trametes pubescens* D 31, *Trametes versicolor* M 327, *Schizophyllum amplum* BY 238, *Lenzites betulinus* S 2, *Ganoderma australe* BB 303, *Fomes fomentarius* M 184 olarak sıralanabilir. Şekil 4.5.'de 90 - 110 mm çapına ulaşan türlere örnek olarak *Lenzites betulinus* S 2 ve *Panus neostrigosus* D 26 türleri sunulmuştur.



Şekil 4.5. 90-110 mm çapındaki fungal koloniler. a. *Lenzites betulinus* S 2, b. *Panus neostrigosus* D 26

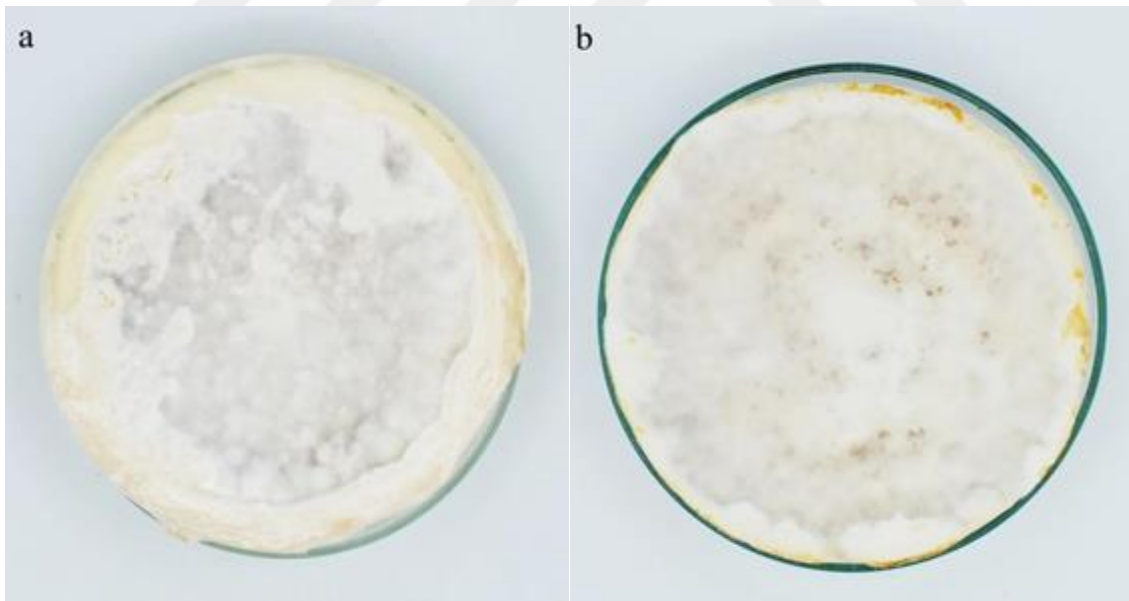
Günlük büyüme hızı (GBH) 2 günde bir ölçülen koloni çapı verileri kullanılarak hesaplanmıştır. Şekil 4.6.' da örnek bir hesaplama için *Ganoderma resinaceum* SV 19 türünün meşe talaşı ortamında doğrusal büyümenin gerçekleştiği zaman aralığı ve bu zaman aralığında koloni çapı değerleri ile elde edilen grafik gösterilmektedir.



Şekil 4.6. *Ganoderma resinaceum* SV 19 kolonisinin zaman bağlı büyüme eğrisi.

GBH üretilecek miselyal kompozit üretim süresini doğrudan etkileyen bir parametredir. GBH 10 mm/gün ve üzeri çıkan türler miselyal kompozit üretimi için potansiyel taşıyan türler olarak değerlendirilmiştir. Çizelge 4.1.'de sunulan verilerden en başarılı türler 16,77 mm/gün GBH değerine ulaşan *Leucogyrophana pseudomollusca* T 849 ve 14,31 mm/gün değeri sunan *Ganoderma lucidum* BP 342 türüdür. Bu iki tür 10 günden önce 110 mm koloni çapına ulaştığı için GBH değerleri de diğer türlere göre daha başarılı görülmektedir. Günlük büyüme hızı 10 mm/gün üzerinde olan diğer türler *Auriscalpium vulgare* BB 13, *Ganoderma resinaceum* SV 19, *Trametes trogii* M 336, *Trametes pubescens* D 31, *Trametes gibbosa* BP 364, *Bjerkandera adusta* M 166, *Ganoderma appplanatum* M 105, *Panus neostrigosus* D 26, *Ganoderma carnosum* D 21, *Trametes versicolor* M 327, *Lentinus tigrinus* SV 12, *Trichaptum fuscoviolaceum* BY 235, *Trametes ochracea* T 850, *Fomes fomentarius* M 184, *Stereum hirsutum* D 64, *Ganoderma australe* BB 303 türleridir.

Üretilcek miselyal kompozitin yoğun misel içeriğine sahip olması, üretilcek kompozitin mukavemetinde etkili olması nedeni ile istenen özellikler arasındadır. Miselyal kompozit üretimi için misel yoğunluğu 4,50 ve üzeri olan türler yüksek potansiyele sahip türler olarak değerlendirilmiştir. Misel yoğunluğu açısından en başarılı türler 5,00 olarak skorlandırılmıştır. Bu türler *Ganoderma resinaceum* SV 19, *Trametes gibbosa* BP 364, *Ganoderma applanatum* M 105, *Panus neostrigosus* D 26, *Trametes versicolor* M 327, *Fomes fomentarius* M 184, *Fomitopsis infirma* BG 234, *Phellinus pomaceus* BB 571, *Agrocybe splendida* BM 53, *Pholiota muricella* BP 403 türleridir. Bu türler misel yoğunluğu dikkate alındığında miselyal kompozit üretimine aday durumdadır. Şekil 4.7.'de en başarılı türlere örnek olarak *Panus neostrigosus* D 26 ve *Trametes versicolor* M 327 türlerinin koloni gelişimi verilmiştir. Misel yoğunluğu 4,50-5,00 aralığında olan türler *Bjerkandera adusta* M 166, *Lentinus tigrinus* SV 12, *Lenzites betulinus* S 2, *Neoantrodia serialis* M 101, *Pleurotus eryngii var farulae* M 1, *Pleurotus ostreatus* PO 17, *Trametes pubescens* D 31 ve *Trametes trogii* M 336 olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.7. Misel yoğunluğu 5,00 olan fungal koniler. a. *Panus neostrigosus* D 26, b. *Trametes versicolor* M 327

Misel sertliği, inkübasyonun 30. günün sonunda miselyumun bistüri ucu ile kesilmesi ile belirlenmiş ve miselyumlar kırılğan (K) ya da sert (S) olarak gruplandırılmıştır. Miselin sert olması miselyal kompozitin daha sağlam ve dayanıklı

olmasını sağlamaktadır. Üretilen miselyal kompozitlerin güçlü mukavamete sahip olması için miselyumu sert olarak gruplandırılan türler çalışılmaya aday olarak belirlenmiştir. Bu türler *Ganoderma resinaceum* SV 19, *Leucocoprinus leucothites* BG 269, *Bjerkandera adusta* M 166, *Fomes fomentarius* M 184, *Ganoderma applanatum* M 105, *Ganoderma australe* BB 303, *Gymnopus hybridus* BY 229, *Lentinus meridionalis* BM 75, *Lentinus tigrinus* SV 12, *Lenzites betulinus* S 2, *Fomitopsis infirma* BG 234, *Neoantrodia serialis* M 101, *Panus neostrigosus* D 26, *Phellinus pomaceus* BB 571, *Pleurotus eryngii* var *farulae* M 1, *Pleurotus nebrodensis* K 211, *Pleurotus pulmonarius* PO 21, *Schizophyllum amplum* BY 238, *Schizophyllum commune* BY 239, *Trametes gibbosa* BP 364, *Trametes hirsuta* D 176, *Trametes ochracea* T 850, *Trametes pubescens* D 31, *Trametes versicolor* M 327 olarak sıralanabilir. Şekil 4.8.'de sert misel yapısına temsilci örnek olarak *Fomitopsis infirma* BG 234 türü sunulmuştur.



Şekil 4.8. Sert misel yapısına sahip *Fomitopsis infirma* BG 234.

Üretim ortamı olarak meşe talaşında gerçekleştiren çalışmada 72 tür koloni çapı, günlük büyüme hızı, misel yoğunluğu ve misel sertliği açısından değerlendirilmiştir. *Szczepkamyces campestris* B 72 ve *Panellus* sp. Bİ 128 taksonlarında meşe talaşı üzerinde gelişim gözlemlenmediği için, *Gymnopus dryophilus* BM 54, *Lentinellus ursinus* BB 391 ve *Antrodiella onychoides* BO 125 türleri ise meşe talaşı üzerinde üreme potansiyeli çok düşük olduğu için başarısız olarak değerlendirilmiştir.

Araştırma parametreleri miselyal kompozit üretimi aşamasında türlerin üretim ortamına kolonize olma süresini, kompozitin yapısal bütünlüğünü ve fiziksel-mekanik özelliklerini anlama açısından belirleyici rol oynamaktadır. Koloni çapı ve günlük büyüme hızı, türlerin üretim ortamı üzerindeki üreme kapasitesini ve kolonize olma süresini doğrudan etkilemektedir. Hızlı büyüyen türler, kısa sürede üretim ortamını kaplayarak kompozit üretim sürecini etkilemektedir. Fungusun büyüme hızına ek olarak miselin yapısal özelliklerinin de değerlendirilmesi gerekmektedir. Misel yoğunluğu, miselyal kompozitin yapısal bütünlüğünü etkileyen önemli bir parametredir. Yoğun bir misel oluşumu, daha kompakt ve dayanıklı bir yapı oluşmasına olanak sağlayarak kompozitin mekanik özelliklerini güçlendirir. Misel sertliği de kompozitin mukavemetini etkilemektedir. Sert misel dokusu, kompozitin yüzey dayanıklılığını ve yük taşıma kapasitesini artırmaktadır. Bu nedenle yapılan ön çalışmada elde edilen veriler, türlerin miselyal kompozit üretim aşamasına geçmeden önce çok yönlü olarak analiz edilmesini hedeflenmiştir. Tüm bu parametreler birlikte değerlendirildiğinde, miselyal kompozit üretimi için fungus türleri seçilirken hızlı büyüyen, aynı zamanda yüksek misel yoğunluğu ve sertliğine sahip türler belirlenmiştir. Bu bakış açısı ile miselyal kompozit üretimi için çalışılmaya aday türler; *Ganoderma resinaceum* SV 19, *Lentinus tigrinus* SV 12, *Trametes gibbosa* BP 364, *Ganoderma applanatum* M 105, *Panus neostrigosus* D 26, *Trametes versicolor* M 327, *Fomes fomentarius* M 184, *Trametes pubescens* D 31, *Bjerkandera adusta* M 166, *Lenzites betulinus* S 2, *Trametes ochracea* T 850, *Trametes hirsuta* D 176 olarak belirlenmiştir. Bu türlerin büyük çoğunluğunun ortak özelliği hif yapısı olarak trimitik ve çürüklük tipi olarak beyaz çürükçül makrofunguslardır. Yapılan istatistiksel analizler de trimitik hif sistemine sahip beyaz çürükçül makrofungus türlerinin meşe talaşı ortamında yüksek üreme potansiyeline sahip olduğunu ortaya koymaktadır.

Sert odunsu substratlarda miselyal kompozit üretimi için *T. versicolor*, *P. ostreatus* ve *G. lucidum* gibi beyaz çürüklük fungusların substrat üzerinde başarı potansiyeli çok yüksektir. Literatürde birçok substrat kombinasyonları sunulmaktadır. Bu çalışmada üretim ortamı olarak meşe talaşı ve %10 oranında azot kaynağı olarak buğday kepeği kombinasyonu kullanılmıştır.

Miselyal kompozit üretimi için başarılı türleri belirlerken fungus türünün üretim ortamında hızlı bir gelişim göstermesi, fungusun trimitik ve beyaz çürükçül olması, yoğun

ve sert bir misel yapısına sahip olması hedeflenmiştir. Literatüre baktığımızda (Sydor vd., 2022) miselyal kompozit üretimi için fungusun sahip olması gereken ideal nitelikleri; Fungusun hızlı hif büyümesi, dimitik veya trimitik hif sistemi, beyaz çürükçül tipine sahip olması, beslenmede yüksek çok yönlülük, çok çeşitli substrat parametrelerine ve çevre koşullarına tolerans göstermesi olarak sıralamıştır.

Çalışmanın bu aşaması üretilecek miselyal kompozitin istenilen özelliklere sahip olması için kullanılan substrata uygun fungus türlerinin seçilmesi için gerçekleştirilmiştir. Benzer şekilde miselyal kompozitlerin yapısal özellikleri; substrat tipi, miselyumun substrat üzerinde kolonize olduğu ortam koşulları, kullanılan katkı maddeleri, kompozitin stabilizasyon yöntemi gibi değişkenlerin yanısıra, miselyal kompozit üretiminde kullanılan fungus türüne ve türün biyolojik özelliklerine bağlı olarak değiştiğini bildirmiştir (Haneef vd., 2017; Appels vd., 2019; Elsacker vd., 2019, 2020; Sydor vd., 2022).

Attias vd. (2017) Petri kaplarında beş farklı substrat ve dört farklı fungus ile gerçekleştirdiği çalışmada *Pleurotus ostreatus* türünün meşede ürediğini ama en başarılı üreminin asma ve elma odunu üzerinde olduğunu bildirmiştir. Benzer şekilde bu çalışmada *Pleurotus ostreatus* türü meşe talaşı üzerinde üretilmiştir ve başarılı bir şekilde üreme göstermiştir.

Başarılı türler belirlendikten sonra türün genetik yapısındaki varyasyonun ve çevresel faktörlerin önemini anlamak amacıyla başarılı türlerin farklı suşlarıyla tür içi biyolojik çeşitlilik konusu araştırılmıştır.

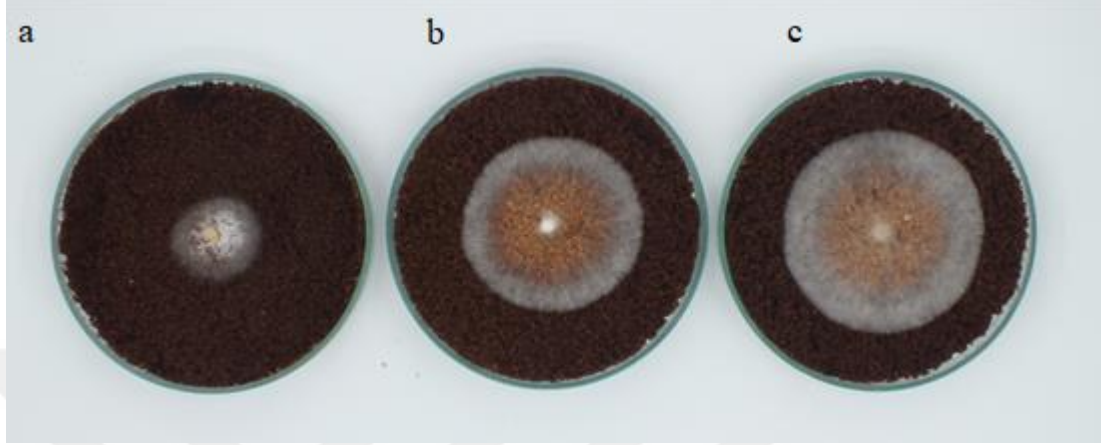
4.2.2. Tür içi biyolojik çeşitliliğin etkisi

Çalışmanın bu aşaması, tür içi biyolojik çeşitliliğinin miselyal kompozit üretimindeki etkisini anlamak ve aynı türün farklı suşları arasındaki farklılıkları incelemek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Çalışmada 9 türe ait toplam 31 suş ile çalışılmıştır ve 4 farklı araştırma parametresi içeren sonuçlar Çizelge 4.2' de sunulmuştur.

Çizelge 4.2. Türlerle ait suşların koloni çapı, günlük büyüme hızı, misel yoğunluğu ve misel sertliği verileri

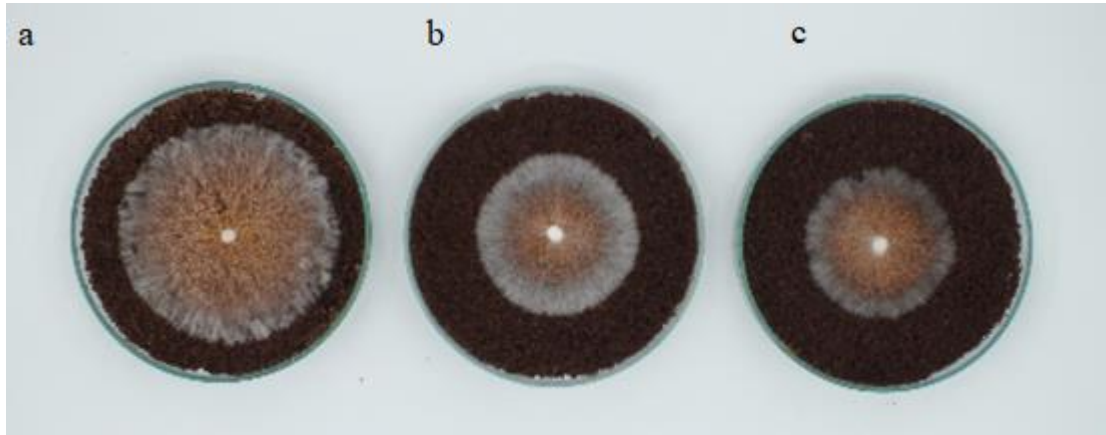
Tür Adı	Kod	Koloni Çapı(mm)	Günlük Büyüme Hızı (mm/gün)	Misel Yoğunluğu	Misel Sertliği
<i>Ganoderma lucidum</i>	D 154	72,82	8,09	5,00	S
	6065	55,19	6,13	3,60	K
	6068	46,72	5,19	3,00	K
<i>Lentinus arcularius</i>	BO 79	33,13	3,68	2,40	K
	BP 268	53,93	5,81	4,40	K
	Ç 2	56,72	5,94	5,00	S
	T 815	47,76	5,31	1,00	K
<i>Lentinus meridionalis</i>	BM 40	67,3	7,07	4,60	S
	BM 237	23,46	4,69	3,80	K
	BS 7	65,73	7,06	4,80	S
<i>Pleurotus pulmonarius</i>	PO 21	57,6	6,13	3,00	K
	PP 26	57,73	6,15	2,00	K
	PP 180	45,58	4,72	3,60	K
<i>Schizophyllum commune</i>	BY 239	105	14,12	2,20	K
	BM 39	105	14,38	2,40	K
	D 35	105	14,19	2,00	K
	M 131	105	12,54	2,00	K
<i>Trametes hirsuta</i>	BB 45	59,51	6,97	4,00	K
	BP 76	74,96	8,33	4,80	K
	D 128	83,33	8,75	4,20	K
	D 176	58,99	6,55	3,40	K
<i>Trametes ochracea</i>	BP 328	86,37	9,06	4,60	S
	D 36	84,53	8,99	4,80	K
	T 850	87,13	9,26	4,80	K
<i>Trametes trogii</i>	BP 57	27,97	2,90	1,20	K
	BS 62	85,05	9,17	5,00	S
	M 336	75,7	8,29	4,60	K
<i>Trametes versicolor</i>	BP 276	73,13	7,72	5,00	S
	D 22	86,3	9,06	5,00	S
	D 58	87,23	9,15	5,00	K
	M 327	94,58	9,90	5,00	S

Her türün suşlarının 10. gün fotoğrafları Şekil 4.9 - 4.17.'de sunulmuştur. *Lentinus meridionalis* türünde BS 7 suşu 65,73 mm koloni çapı, 4,80 değeri ile yüksek misel yoğunluğu ve sert misel yapısı ile öne çıkmaktadır.



Şekil 4.9. *Lentinus meridionalis* türüne ait suşlar. a. BM 237, b. BM 40, c. BS 7

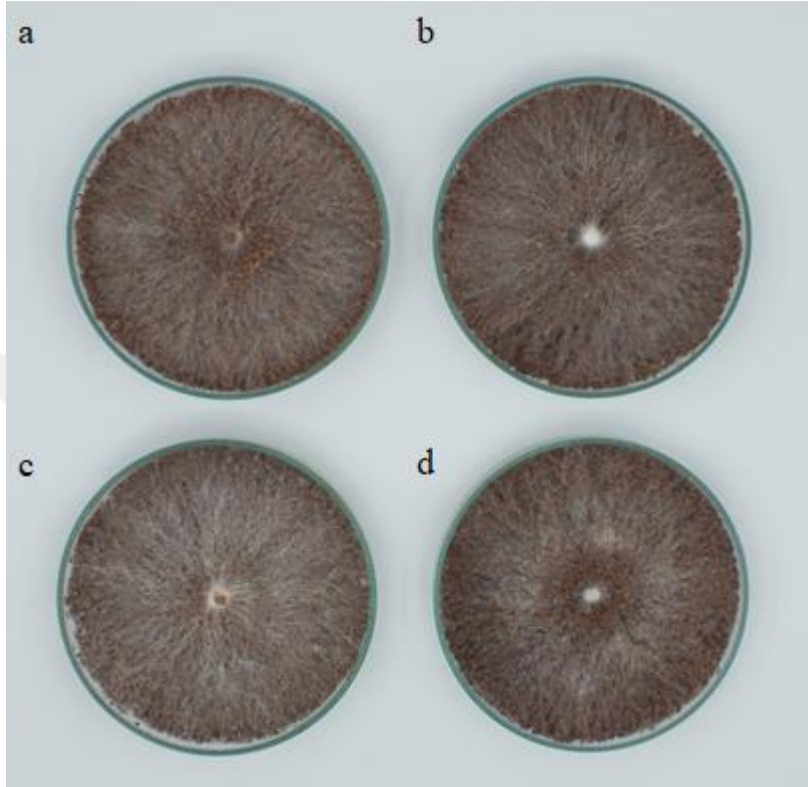
Ganoderma lucidum türü için en başarılı suş D 154, 72,82 mm'lik koloni çapı ve 8,09 mm/gün'lük büyüme hızıyla dikkat çekmektedir. Misel yoğunluğu 5,00 ve sert bir misel yapısına sahiptir. *Ganoderma lucidum* türünün D 154 kodlu suşu miselyal kompozit üretimi için değerlendirilebilir bir adaydır.



Şekil 4.10. *Ganoderma lucidum* türüne ait suşlar. a. D 154, b. 6065, c. 6068

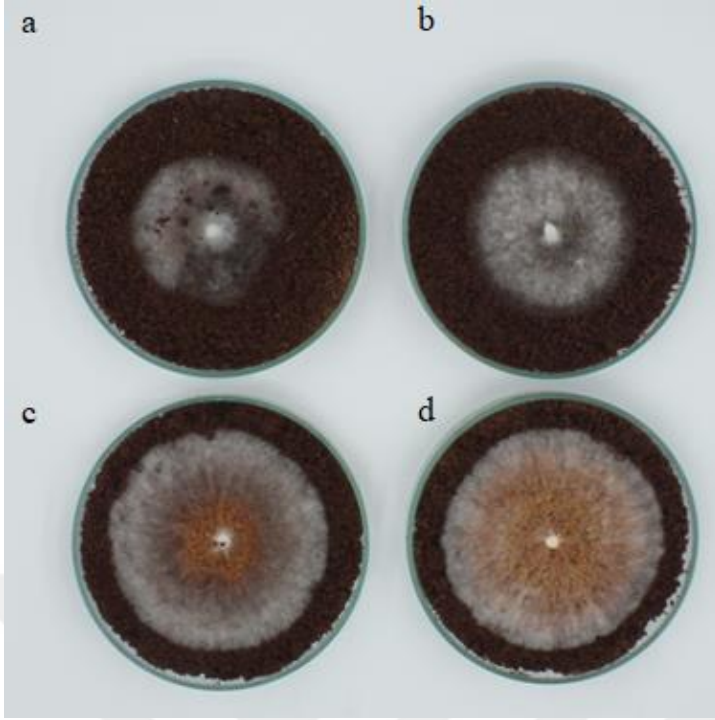
Schizophyllum commune türünde BM 39 kodlu suşu, oldukça hızlı bir büyüme göstermiş (14,38 mm/gün) ve 10 günün sonunda 105,00 mm'lik koloni çapına ulaşmıştır.

Düşük misel yoğunluğu ve kırılğan misel yapısı ile diğer suşlarla kıyaslandığında miselyal kompozit üretimi için aday suşlar arasında yer almamaktadır.



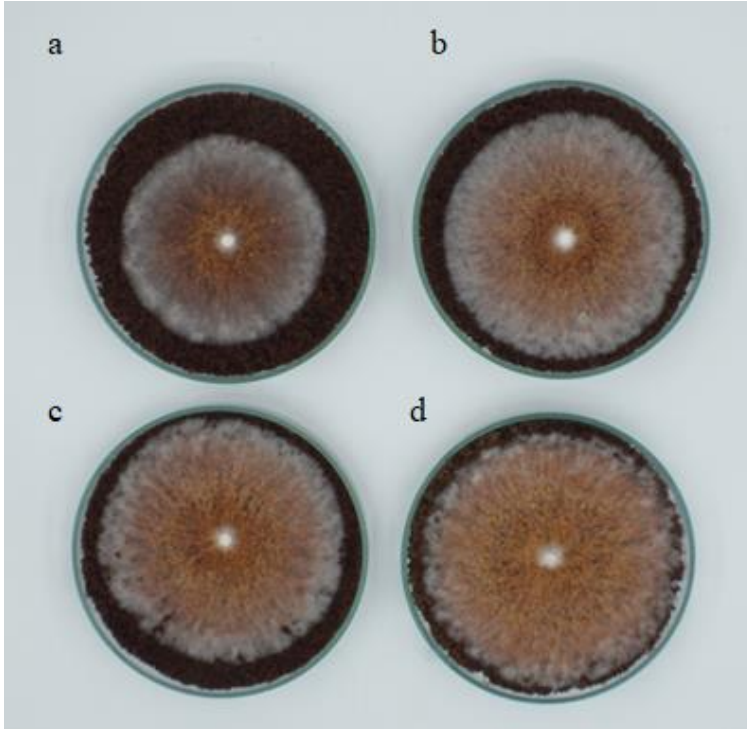
Şekil 4.11. *Schizophyllum commune* türüne ait suşlar. a. M 131, b. BM 39, c. D 25, d. BY 239

Trametes hirsuta türünde BP 76 kodlu suş, yüksek koloni çapı (74,96 mm) ve 8,33 mm/gün büyüme hızı ve 4,80 misel yoğunluğuna sahiptir. Ancak kırılğan misel yapısı nedeni ile başarılı olarak değerlendirilmemiştir.



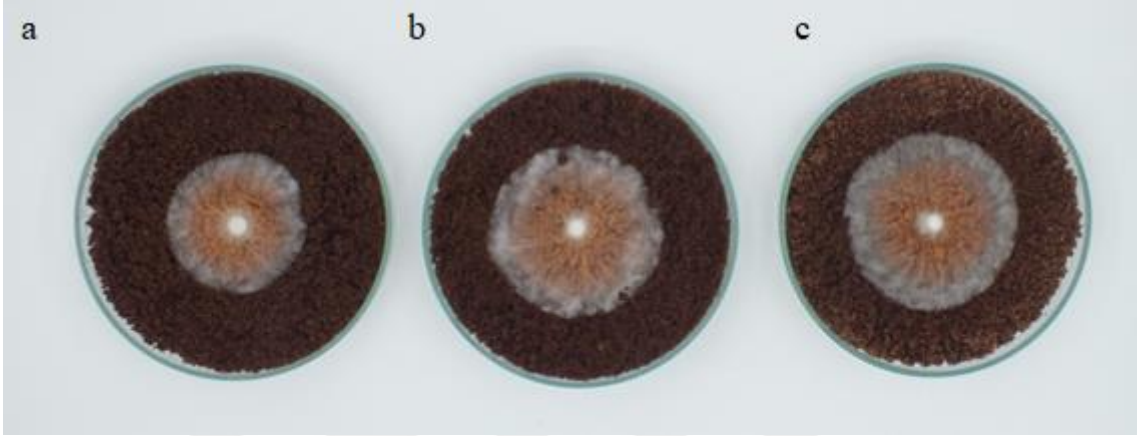
Şekil 4.12. *Trametes hirsuta* türüne ait suşlar. a. D 176, b. BB 45, c. D 128, d. BP 76

Trametes versicolor türünde M 327 suşu, 94,58 mm koloni çapı ve 9.90 mm/gün büyüme hızı, sert ve yoğun misel dokusu ile miselyal kompozit üretimi için başarılı ve değerlendirilebilir suş olarak ön plana çıkmaktadır.



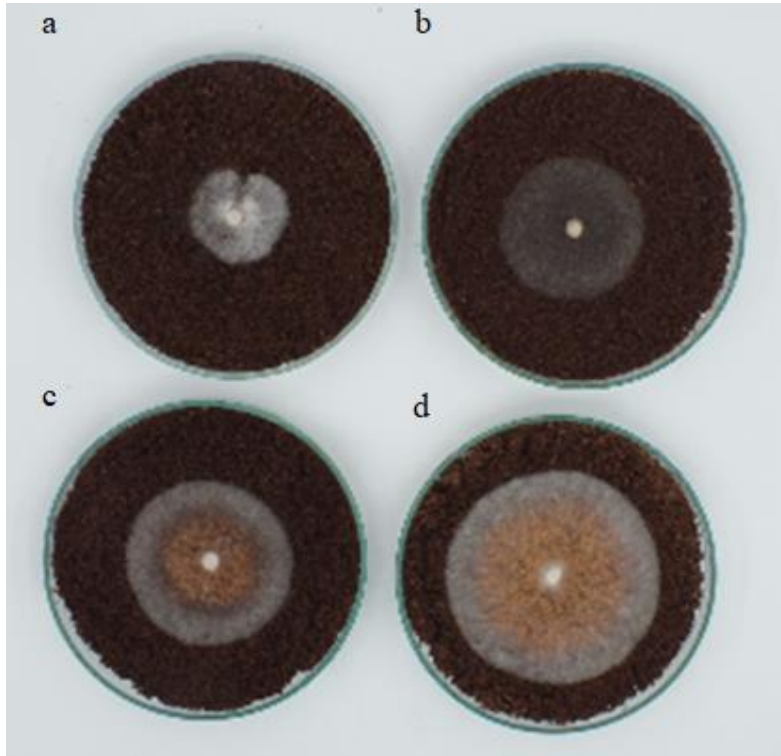
Şekil 4.13. *Trametes versicolor* türüne ait suşlar. a. BP 276, b. D 22, c. M 327, d. D 58

Pleurotus pulmonarius türünde PO 21 suşu, 57,60 mm koloni çapı ve 6,13 mm/gün büyüme hızı göstermiş, ancak düşük misel yoğunluğu ve kırılğan misel yapısı nedeniyle kompozit üretimi açısından değerlendirildiğinde tercih edilmemiştir.



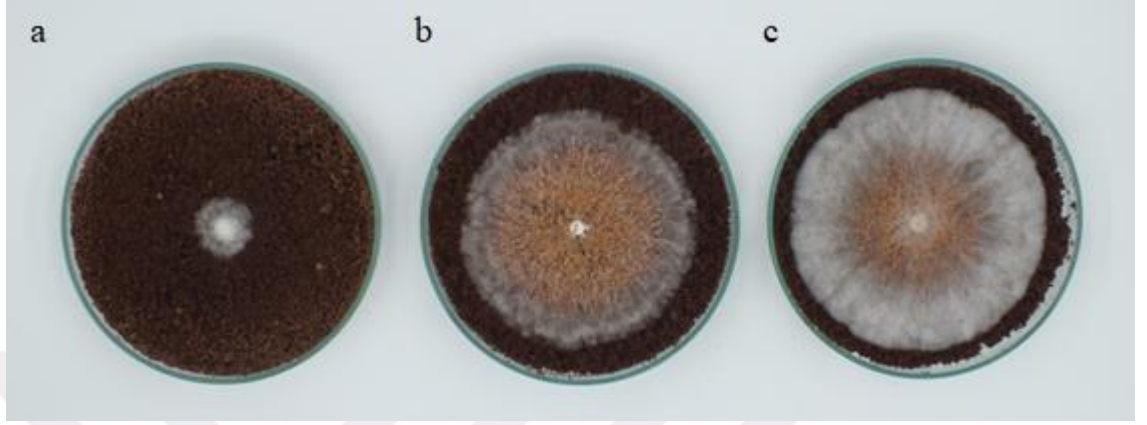
Şekil 4.14. *Pleurotus pulmonarius* türüne ait suşlar. a. PP 26, b. PO 21, c. PP 180

Lentinus arcularius türünde Ç 2 kodlu suş, iyi bir üreme performansı sergileyerek 56,72 mm koloni çapı, 5,94 mm/gün büyüme hızı, misel yoğunluğu 5,00 ve sert misel yapısı ile ön plana çıkmaktadır.



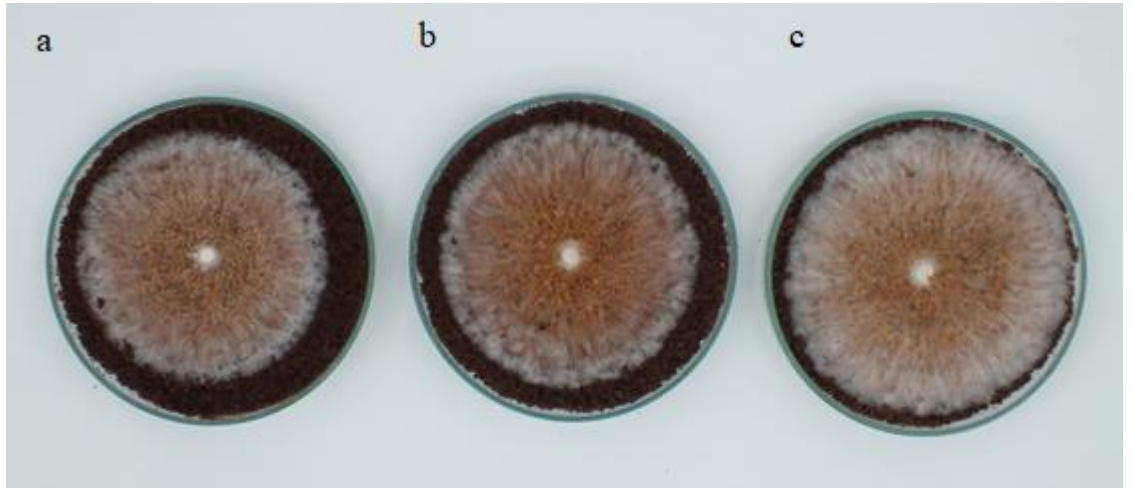
Şekil 4.15. *Lentinus arcularius* türüne ait suşlar. a. BO 79, b. T 815, c. BP 268, d. Ç 2

Trametes trogii türü için BS 62 en başarılı suştur. Koloni çapı ve büyüme hızı açısından en yüksek değerlere sahip olup misel yoğunluğu 5,00 ve misel yapısı sert olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 4.16. *Trametes trogii* türüne ait suşlar. a. BP 57, b. M 336, c. BS 62

Trametes ochracea suşları içerisinde T 850 kodlu suş en iyi koloni çapı (87,13 mm) ve büyüme hızına (9,26 mm/gün) sahiptir. Misel yoğunluğu 4,80 olsa da misel yapısı kırılkan olduğu için başarılı olarak değerlendirilmemiştir. BP 328 suşu sert misel yapısı ile T 850 ve D 36 suşlarına göre daha başarılıdır.



Şekil 4.17. *Trametes ochracea* türüne ait suşlar. a. T 850, b. BP 328, c. D 36

Araştırmada aynı türe ait farklı suşlar arasında büyüme hızı, misel yoğunluğu ve sertliği bakımından farklılıklar görülmektedir. Bu durum, tür içi çeşitliliğin miselyal kompozit üretimi için önemini vurgulamaktadır. *Pleurotus ostreatus* ve *Trametes ochracea*

gibi türlerin meşe talaşı üzerinde etkin bir misel gelişimi sergilediği yapılan çalışmalarda da belirtilmiştir (Appels vd., 2019). Ancak, yapılan bu çalışmalarda genellikle türler arası genetik çeşitliliği üzerinde yoğunlaşmış, tür içi genetik çeşitliliği göz ardı edilmiştir.

Meşe talaşı, lignin ve selüloz içeriği sayesinde funguslar için uygun bir karbon kaynağı olmasına rağmen her tür bu substratı başarılı bir şekilde kullanamamaktadır. Bu nedenle, türler arası ve tür içi biyolojik çeşitlilik, miselyal kompozit üretiminin verimi ve ürün kalitesi açısından belirleyici bir rol oynamaktadır. Ayrıca, suşlar arasında miselin substrata hızlı kolonize olma yeteneğine ek olarak, miselin yoğunluğu ve sertliği de değerlendirilmelidir. Bu özellikler üretilecek kompozitin dayanıklılığı ve işlevselliği açısından belirleyicidir (Islam et al., 2018). Benzer şekilde bu çalışmada aynı türün farklı suşları arasında misel yoğunluğu ve misel sertliği değerleri açısından dikkat çeken farklar bulunmaktadır. Örneğin *Lentinus tigrinus* türüne ait Ç 2 suşu misel yoğunluğu 5,00 ve sert misel yapısına sahipken T 815 şusunun misel yoğunluğu 1,00 ve misel yapısı kırılığandır. Aynı şekilde *Ganoderma resinaceum* D 154 suş misel yoğunluğu 5,00 ve sert misel yapısına sahipken 6068 şusunun misel yoğunluğu 3,00 ve misel yapısı kırılığandır.

Aynı türe ait farklı suşların araştırılacak biyoteknolojik özellik açısından farklı cevap vermesi mikrobiyal biyoteknoloji çalışmalarının çok bilinen bir özelliğidir. Tür içi çeşitliliğinin araştırılması, miselyal kompozit üretiminde türler arası biyolojik çeşitliliğin yeterli olmadığını, ayrıca suş düzeyinde detaylı tarama çalışmalarının önemini ortaya koymaktadır.

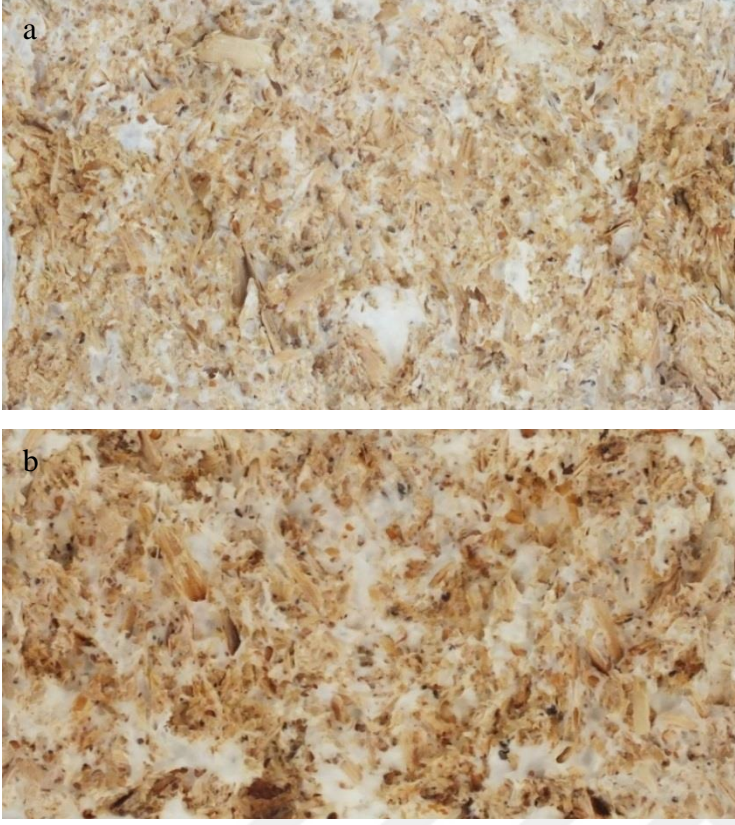
4.3. Miselyal kompozit üretimi

Miselyal kompozit üretimi amacıyla meşe talaşı üzerinde gerçekleştirilen tarama çalışması sonucunda araştırma parametreleri açısından başarılı olarak değerlendirilen türler arasından *Lentinus tigrinus* SV 12 ve *Ganoderma resinaceum* SV 19 türleri seçilmiş ve farklı boyutlardaki kalıplar kullanılarak miselyal kompozit üretilmiştir. Üretilen miselyal kompozit biyolojik, kimyasal, fiziksel ve mekaniksel parametreler açısından değerlendirilerek karakterize edilmiştir. *Lentinus tigrinus* SV 12 ve *Ganoderma resinaceum* SV 19 izolatları kalıba ekim yapıldıktan 10 gün sonra kalıptan çıkartılarak

kalıpsız inkübe edilmiştir (Şekil 4.18). Misel yüzdesi % 70'e ulaştığında (Şekil 4.19) ise inkübasyon sonlandırılmıştır ve deaktivasyon işlemi gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.20-4.21). *Lentinus tigrinus* SV 12 kalıba ekimden 24 gün sonra %70 misel yoğunluğuna ulaşırken *Ganoderma resinaceum* SV 19 kalıba ekimden 17 gün sonra %70'e ulaşmıştır. Şekil 4.21' de sunulan canlılık testi sonucunda PDA ve MEA besiyerinde üreme gözlenmemiştir.



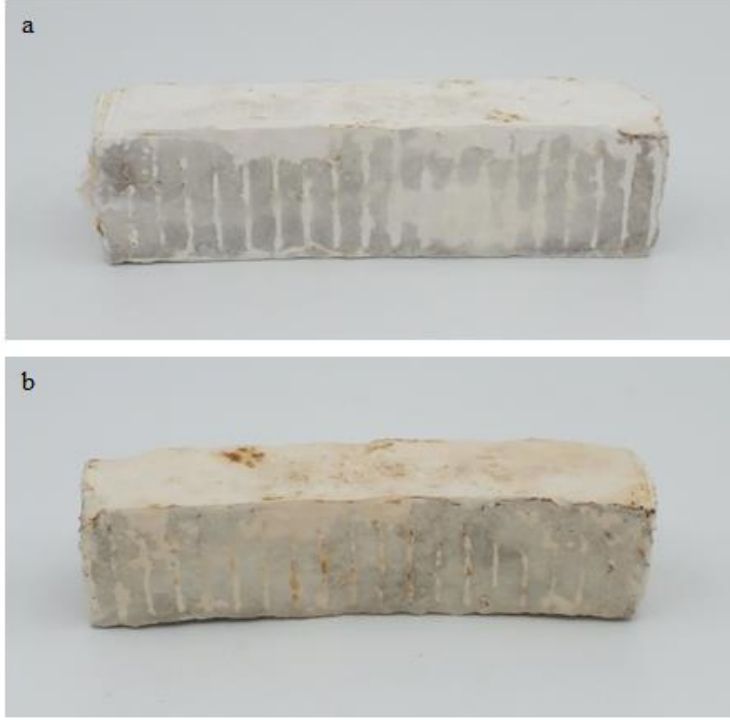
Şekil 4.18. SV 12 izolatının (a) ve SV 19 izolatının (b) kalıptan çıkartılmış görüntüsü.



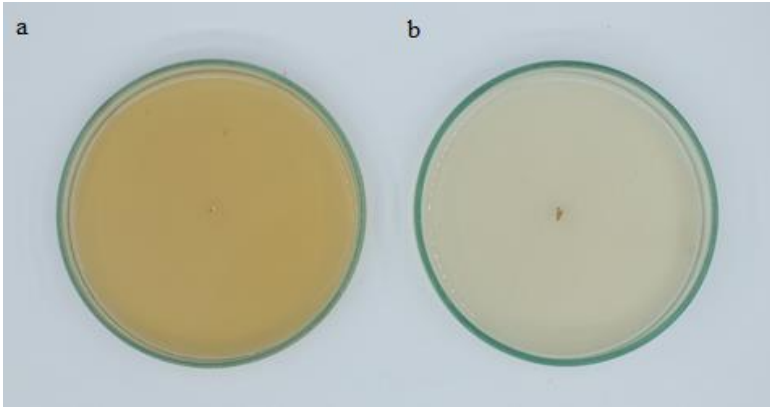
Şekil 4.19. SV 12 izolatının (a) ve SV 19 izolatının (b) %70'e ulaşan misel yoğunluğu.



Şekil 4.20. SV 12 izolatının deaktivasyondan önceki (a) ve sonraki (b) görüntüleri.



Şekil 4.21. SV 19 izolatının deaktivasyondan önceki (a) ve sonraki (b) görüntüleri.



Şekil 4.22. SV 12 izolatının MEA (a) ve SV 19 izolatının PDA (b) besiyerindeki canlılık testi sonuçları.

4.3.1. Miselyal kompozit üretim aşamaları

Miselyal kompozit üretim aşamaları üç ana başlık altında toplanmıştır. Bu aşamalar inokülasyon, inkübasyon ve deaktivasyon aşamasıdır. Miselyal kompozit üretimi aşamasında kullanılan üretim ortamı kombinasyonları oldukça geniştir. Talaş, odun yongaları, saman ve tarımsal atıklar miselyal kompozit üretimi için yaygın substratlardır. Bu substratların yaygın kullanılmasının sebebi sahip oldukları lignoselülozik içerikleri sayesinde fungus gelişimi destekler. Substrat seçilirken besin değeri, bulunabilirliği, parçalanabilirliği, maliyeti, dokusal ve yapısal nitelikleri dikkate alınmalıdır. Seçilen substrat büyüme hızını iyileştirmek için gerekli besin maddelerine sahip olmalıdır. Funguslar, yüksek selüloz içeriğine sahip substrat ortamlarında hızla bir şekilde büyür. Talaş ve kombinasyonları saman gibi substratlara göre iyi bir miselyum gelişme oranı sağlamaktadır. Bunun nedeni ise talaşın glukan içermesidir ve miselyum enzim sistemi ile substrat ortamındaki bileşimleri kullanılabilen basit bileşenlere ayırır ve bu besinleri kullanarak substrat üzerinde büyüyerek ve substrata kolonize olarak biyokütlelerini artırır (Sreerag vd., 2025). Ayrıca, meşe talaşı polyster reçine ile birleştirildiğinde, üretilen miselyal kompozit malzemelerin mekanik özelliklerinde belirgin oranlarda iyileşmeler kaydedilmiştir. Bu bulgular, meşe talaşının biyolojik ve mekanik açıdan miselyal kompozit üretimi için uygun bir substrat olduğunu göstermektedir. Fungus talaş gibi lignoselülozik substratları tüketerek, miselyumun karmaşık ağı substratı bağlayarak sert bir kompozit malzeme oluşturur ve kayın talaşından yapılan kompozitlerle karşılaştırıldığında, meşe talaşı üzerinde üretilen kompozitler daha yüksek çekme dayanımı göstermiştir (Kartal ve Tunç, 2024). Bu sebeple üretim ortamı olarak meşe talaşı ve meşe yongası karışımı tercih edilmiştir.

4.3.2. Karakterizasyon

Üretilen miselyal kompozitin karakterizasyonu aşamasında biyolojik, kimyasal, fiziksel ve mekaniksel araştırma parametreleri incelenmiştir. Bu araştırma parametrelerine ek olarak mikroskopik incelemeler, SEM analizleri ile gerçekleştirilmiştir ve SEM görüntülerinde miselyum çapı hesaplanmıştır. Biyolojik araştırma parametreleri ve kimyasal parametrelerde negatif kontrol olarak inoküle edilmemiş üretim ortamı olan meşe talaşı ve meşe yongası karışımı kullanılmıştır.

Biyolojik araştırma parametrelerinde lignoselülozik enzim aktivitesi sonuçları Çizelge 4.3.'de sunulmuştur.

Çizelge 4.3. Lignoselülozik enzim sonuçları.

Deney grupları		Lakkaz (U/L)	Mangan perosidaz (U/L)	Mangan bağımsız peroksidaz (U/L)	Lignin Peroksidaz (U/L)	Ksilanaz (U/L)	Selüloz (U/L)
<i>Lentinus tigrinus</i> SV 12	Torba	10,00±0,00	-	-	-	10,64±0,68	6,50±0,01
	Kalıp	4,00±0,00	-	-	-	0,84±0,01	369,02±0,01
<i>Ganoderma resinaceum</i> SV 19	Torba	26,00±0,00	34,00±0,00	4,00±0,00	-	3,17±0,05	-
	Kalıp	-	3,00±0,00	5,00±0,00	-	-	120,84±0,00

(-) Aktivite saptanamadı.

Lentinus tigrinus SV 12 ve *Ganoderma resinaceum* SV 19 türleriyle üretilen miselyal kompozitlerin enzimatik aktiviteleri, türlerin enzim üretme yeteneklerine göre farklılık göstermektedir. *Ganoderma resinaceum* SV 19 türünün yüksek ligninolitik enzim aktiviteleri, ligninin bozunmasında daha etkili olduğunu göstermektedir. *Lentinus tigrinus* SV 12 türünün selüloz ve hemiselülozun hidrolizinde daha başarılı olduğunu görülmektedir. Bu farklılıklar, miselyal kompozitin özelliklerini ve karakterizasyonu anlamak için önemlidir. Her iki türün torba aşamasında elde edilen enzim aktiviteleri kalıp aşamasında elde edilen değerlerden daha yüksektir. Bunun sebebi fungusun torbalarda inokülasyon aşamasında hızlı bir şekilde üreme potansiyeli göstererek üretim ortamına hızlı bir şekilde kolonize olmasıyla ilişkilendirilebilir.

Lakkaz ve mangan peroksidaz gibi ligninolitik enzimler, lignin polimerlerinin oksidatif yıkımında önemli rol oynamaktadır ve *Ganoderma resinaceum* SV 19 türünün torba aşamasında yüksek lakkaz (26,00 u/L) ve mangan peroksidaz (34,00 u/L) aktiviteleri, lignin bozunmasında etkin bir rolü olduğunu göstermektedir (Şekil 4.22 ve Şekil 4.23) Literatürde, *Ganoderma* türlerinin yüksek ligninolitik enzim aktivitelerine sahip olması ve

bu enzimlerin lignin bozunmasında önemli rol oynadığı bilinmektedir (Kirk ve Farrell, 1987).



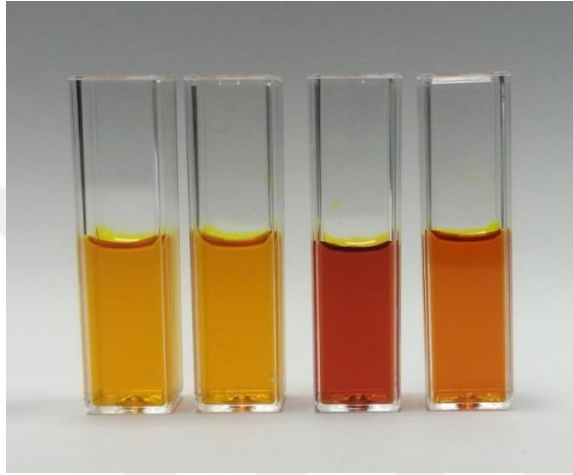
Şekil 4.23. *Ganoderma resinaceum* SV 19 lakkaz enzim aktivitesi



Şekil 4.24. *Ganoderma resinaceum* SV 19 mangan peroksidaz enzim aktivitesi

Ksilanaz ve selüloz gibi enzimler, hemiselüloz ve selülozun hidrolize edilmesini sağlamaktadır. *Lentinus tigrinus* SV 12 türünün torba aşamasındaki ksilanaz aktivitesi (10,64 u/L) hemiselülozun torba aşamasında parçalandığını göstermektedir (Şekil 4.24) Kalıp aşamasında selüloz aktivitesinin artması, fungusun besin ve enerji ihtiyacına göre enzim üretiminin düzenlediğini göstermektedir. Literatürde, farklı fungus türlerinin lignoselülozik enzim üretim profilleri çeşitlilik göstermektedir (Kobayashi vd., 2023). *Lentinula edodes* türünün talaş ortamında ligninolitik ve lignoselülozik enzim aktivitelerinin miselyumun farklı bölgelerinde değişiklik gösterdiği ve bu durumun

fungusun substrat üzerindeki dağılımıyla ilişkili olduğu belirtilmiştir. Bu bulgular *Lentinus tigrinus* SV 12 ve *Ganoderma resinaceum* SV 19 türlerinin enzim aktivitesi sonuçları paralellik göstermektedir. *Ganoderma resinaceum* SV 19 türünde ise ksilanaz aktivitesi düşük olup, selüloz aktivitesi kalıp aşamasında artmıştır. Bu durum, *Ganoderma resinaceum* SV 19'un hemiselüloz yerine doğrudan selülozu hedef aldığını ve lignin bozunmasından sonra selülozun hidrolizine odaklandığını göstermektedir.



Şekil 4.25. *Lentinus tigrinus* SV 12 ksilanaz enzim aktivitesi

Kimyasal araştırma parametrelerinden pH, nem, kül ve organik madde içeriği, torbadan ve kalıptan alınan yaş numuler ile analiz edilmiştir. Çizelge 4.4'de pH, kül ve organik madde içeriğine ait veriler negatif kontrol ile birlikte sunulmuştur.

Çizelge 4.4. *Lentinus tigrinus* SV 12 ve *Ganoderma resinaceum* SV 19 türlerine ait kimyasal araştırma parametrelerine ilişkin veriler

DeneySEL gruplar		pH	Kül (%)	Organik madde miktarı (%)
Negatif Kontrol		6,44 ± 0,08	4,80 ± 0,39	95,16 ± 0,39
<i>Lentinus tigrinus</i> SV 12	Torba	4,84 ± 0,07	5,58 ± 0,11	94,41 ± 0,11
	Kalıp	4,39 ± 0,06	7,22 ± 0,27	92,77 ± 0,27
<i>Ganoderma resinaceum</i> SV 19	Torba	4,62 ± 0,05	5,03 ± 0,11	94,96 ± 0,11
	Kalıp	4,53 ± 0,03	5,88 ± 0,17	94,11 ± 0,13

Üretim ortamının pH değeri 6,44 olarak ölçülmüştür. *Lentinus tigrinus* SV 12 ve *Ganoderma resinaceum* SV 19 türlerinin torba ve kalıptaki pH değeri düşmüştür. Bunun sebebi fungus misellerinin geliştiği ortamlarda üretim ortamının pH seviyesinin düşmesidir. pH'ın düşmesi üretim ortamı üzerindeki fungusun aktif olarak ürettiğinin ve substrat üzerinde büyüme sürecinde organik asit salgılaması olarak değerlendirilebilir. En düşük pH 4,39 *Lentinus tigrinus* SV 12 kalıp aşamasında ölçülmüştür. Kalıpta inkübasyon aşamasında daha yoğun metabolik aktivite gerçekleştirmesi ve yüksek selüloz enzim aktivitesi ile ortamın pH'ını düşürmüştür.

Kül oranı, numunedeki organik bileşenlerin uzaklaştırılması sonrası kalan inorganik madde miktarını göstermektedir. Negatif kontrol grubunda kül yüzdesi % 4,84 olarak hesaplanmıştır. Bu değer, miselyal gelişim olmayan bir ortamda substrattaki doğal mineral içeriği yansıtmaktadır.

Lentinus tigrinus SV 12 ile üretilen miselyal kompozitlerde kül oranı torba aşamasında %5,58 iken, kalıp aşamasında %7,22'e yükselmiştir. Benzer şekilde *Ganoderma resinaceum* SV 19 türü için torbada %5,03 kalıpta ise %5,88'e yükselmiştir. Her iki türde de kül yüzdesi kalıp aşamasında artış göstermiştir. Miselyumun substrata kolonize olmasıyla birlikte organik bileşiklerin parçalanması sonucu mineral içeriği artış göstermiştir. Özellikle *Lentinus tigrinus* SV 12 türü, kalıp aşamasında daha yüksek kül oranı ile *Ganoderma resinaceum* SV 19'a kıyasla substratı daha etkili ayrıştırmış olabilir.

Organik madde miktarı lignoselülozik yapıya ve miselyal biyokütleyle karşılık gelen kısımdır. *Lentinus tigrinus* SV 12 türüyle üretilen miselyal kompozitlerde organik madde oranı, torba aşamasında %94,41 olarak hesaplanmıştır. Kalıp aşamasında ise bu oran %92,77'ye düşmüştür. Bu düşüş, miselyal üremenin artmasıyla substrattaki organik bileşiklerin parçalandığını göstermektedir. Kalıp aşamasında misel yapısının daha yoğun ve homojen olması, substratın daha etkin ayrışmasına ve buna bağlı olarak organik madde oranında azalmaya neden olmuştur. Bu durum, *Lentinus tigrinus* SV 12 türünün kalıp aşamasında yüksek selüloz enzim aktivitesiyle ilişkilendirilebilir. *Ganoderma resinaceum* SV 19 türü için organik madde oranı torba aşamasında %94,96 iken, kalıp aşamasında %94,11 olarak ölçülmüştür. *Lentinus tigrinus* SV 12 ile karşılaştırıldığında, bu türde organik madde yüzdesindeki azalma daha sınırlı düzeydedir. Bu durum, *Ganoderma*

resinaceum SV 19'un substrat üzerindeki ayrıştırma kapasitesinin daha düşük olduğunu veya miselyal gelişimin *Lentinus tigrinus* SV 12'ye kıyasla daha az yoğun gerçekleştiğini gösterebilir. Organik madde oranının torba ve kalıp arasında daha az değişim göstermesi, substrat yapısının *Ganoderma resinaceum* SV 19 tarafından daha az modifiye edildiğine işaret etmektedir.

Negatif kontrol grubunda organik madde oranı %95,160 olarak belirlenmiştir. Bu yüksek oran, miselyal gelişim olmayan örneklerde meşe talaşının büyük oranda organik yapıda olduğunu göstermektedir. Substratın işlenmemiş formda olması, organik bileşiklerin mikrobiyal ayrışmaya uğramadığını ve yapısal bütünlüğünü büyük ölçüde koruduğunu düşündürmektedir.

pH'daki düşüş, kül miktarındaki artış ve organik madde oranındaki küçük değişiklikler, miselyal kompozit üretimi aşamasında biyolojik aktivitenin yoğunlaştığını göstermektedir. *Lentinus tigrinus* SV 12 kalıp ve *Ganoderma resinaceum* SV 19 kalıbın torbalara göre daha düşük pH ve torbalara göre yüksek kül oranına sahip olması, kalıp üretiminde biyolojik dönüşüm sürecinin daha etkin biçimde gerçekleştiğini göstermektedir.

Miselyal kompozit üretimi aşamasında özellikle *Lentinus tigrinus* SV 12 kalıpta en düşük 4,39 pH değerine sahiptir. Bunun sebebi *Lentinus tigrinus*'un lignoselülozik substratlar üzerinde yoğun enzimatik aktivite göstermesi ve ortamın pH değerini düşürmesidir. Literatürde *Lentinus tigrinus*'un lakkaz ve peroksidaz gibi lignin parçalayıcı enzimleri yüksek düzeyde ürettiği bildirilmiştir (Bogdan vd., 2018).

Ganoderma resinaceum SV 19 torbada kül oranı %5,04 ile daha düşük bir değere sahiptir. *Ganoderma resinaceum*'un üretim ortamının mineralizasyonundaki etkisinin *Lentinus tigrinus*'a göre daha sınırlı olduğunu göstermektedir.

Üretilen miselyal kompozitlerin fiziksel ve mekanik özelliklerine ilişkin veriler Çizelge 4.5.'de görülmektedir.

Çizelge 4.5. Fiziksel ve mekaniksel araştırma parametrelerine ilişkin veriler

Deney grupları	Isıl iletkenlik (W/mk)	Yoğunluk (g/cm ³)	Basınç (MPa)	Büzülme Oranı (%)
SV 12	0,047±0,001	0,250±0,002	0,172±0,062	%22,022 ±3,560
SV 19	0,050±0,265	0,260±0,040	0,355±0,037	%28,175 ± 2,928

İki tür arasında ısıl iletkenlik olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Üretilen miselyal kompozitlerin düşük ısıl iletkenlik değerlerine sahip olması bu malzemelerin ısı yalıtım uygulamalarında değerlendirilmeye potansiyel ürünler olduğunu göstermektedir. Literatürde, *Ganoderma lucidum*, *Trametes versicolor* ve *Pleurotus ostreatus* gibi türlerle yapılan çalışmalarda ısıl iletkenlik değerleri 0,029–0,065 W/mK arasında değişmektedir (Appels vd. 2019; Haneef vd., 2017). *Lentinus tigrinus* SV 12 ve *Ganoderma resinaceum* SV 19 türleri ile elde edilen değerler literatür ile uyumludur. Özellikle yapı sektöründe izolasyon malzemesi olarak kullanım potansiyeli olan malzemelerdir. Isıl iletkenliğinin düşük olması, kompozit matrisindeki miselyum ağ yapısının mikro gözenek düzeyiyle doğrudan ilişkilidir (Islam vd., 2018). *Lentinus tigrinus* SV 12'nin daha düşük ısıl iletkenliğe sahip olmasının nedeni miselyumun kompozit içerisinde daha homojen yayılması ve gözenekli yapının daha iyi korunmasıyla ilişkilendirilebilir.

Lentinus tigrinus SV 12 ile üretilen kompozitin yoğunluğu 0,250 g/cm³ iken, *Ganoderma resinaceum* SV 19 ile üretilen kompozitte bu değer 0,260 g/cm³ olarak hesaplanmıştır. Her iki türde yoğunluk değerleri açısından birbirine yakın sonuçlar elde edilmiştir. Yoğunluk, miselyal kompozitlerin mekanik performansını doğrudan etkileyen bir faktördür. Kompozitin yüksek yoğunluk değerine sahip olması, fungusun üretim ortamına kolonizasyon derecesi ve kolonizasyon hızı, enzim aktivitesi gibi parametrelerden kaynaklı olarak etkilenebilir (Jones vd., 2020). *Ganoderma resinaceum* SV 19 kullanılarak üretilen kompozitin yoğunluk farkı bu parametrelerle açıklanabilir. *Ganoderma resinaceum* SV 19'un ligninolitik enzim aktivitesinin daha yüksek olması, lignin parçalanmasının daha fazla olması ve miselyumun üretim ortamında daha yoğun ve

kompakt bir yapı oluşumunu desteklemiştir. Lignin bozunması, miselyumun hifleri arasında daha sıkı bağ oluşturarak yapının daha sağlam olmasına olanak sağlamaktadır (Elsacker vd., 2021). Jones vd. (2020) tarafından yapılan çalışmada, *Pleurotus ostreatus* ile üretilen kompozitlerde yoğunluk değerleri 0,200–0,350 g/cm³ aralığında değişmektedir, kompozitin mekanik özelliklerin de yoğunlukla orantılı olarak değiştiği gözlenmiştir.

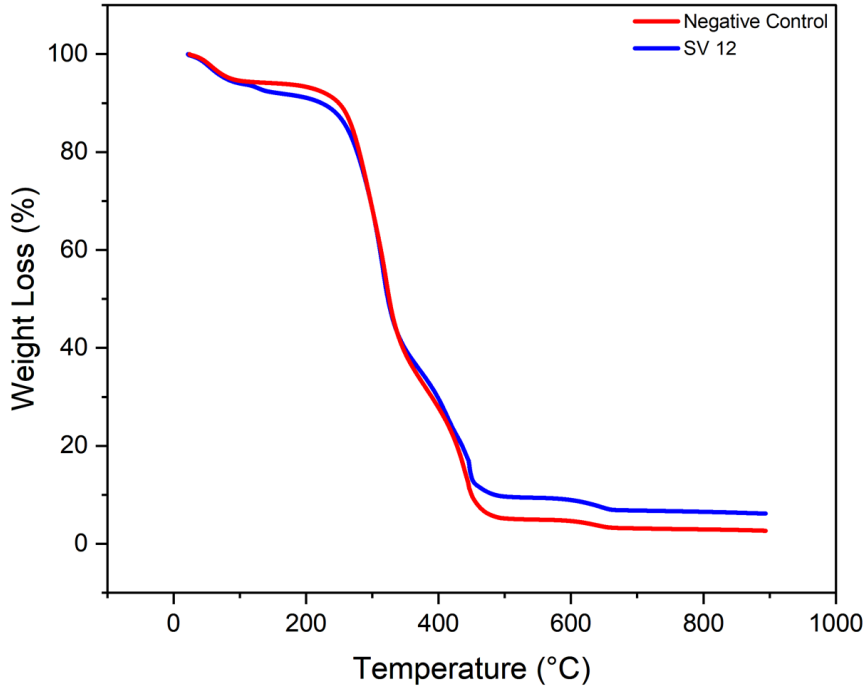
Ganoderma resinaceum SV 19 ile üretilen kompozitlerin basınç dayanımı 0,355 MPa, *Lentinus tigrinus* SV 12 ile üretilene 0,172 MPa kıyasla yaklaşık 2 kat daha fazladır. Bu önemli fark, *Ganoderma resinaceum* SV 19 türünün substrat içinde daha homojen bir şekilde yayılması ve hif yapısını daha sıkı ve kompakt bir yapı oluşturmasıyla açıklanabilir. *Ganoderma* türleri, yoğun ve trimitik miselyal yapıları sayesinde mekanik olarak daha dayanıklı kompozitler üretmektedir (Islam vd., 2018). Appels vd., (2019) *Trametes versicolor* ile üretilen kompozitlerde 0,59–1,0 MPa eğilme dayanımı ve 0,1–0,4 MPa basınç dayanımı elde etmiştir ve sonuçların türe substrat tipine ve üretim koşullarına bağlı olarak değiştiğini belirtmiştir.

Ganoderma resinaceum SV 19 yüksek basınç dayanımı ve yoğunluk değerleri ile birçok sektörde ürün üretimine aday bir türdür. *Lentinus tigrinus* SV 12 ise daha düşük yoğunluk ve düşük ısı iletkenliğe sahip yapısıyla ısı yalıtım veya paketleme gibi sektörlerde alternatif biyomalzeme potansiyeli taşımaktadır. Bu çalışma, tür seçiminin miselyal kompozitlerin performansı üzerinde önemli etkileri olduğunu ortaya koymakta ve miselyum temelli sürdürülebilir malzeme geliştirme sürecinde tür ve substrat özelliklerinin dikkate alınması gerektiğini vurgulamaktadır. Miselyum kompozitler gibi çevre dostu biyomalzemeleri kullanımın yaygınlaşması ile polistiren köpüklerin kullanımı azalabilir. Polistiren köpüklerin yoğunluğu yaklaşık 10-30 kg/m³ iken , talaş kullanılarak üretilen miselyal kompozitlerin ortalama 178,5 kg/m³ hacim yoğunluğuna sahip olduğu bulunmuştur (Sreerag vd., 2025).

Üretilen miselyal kompozitlerin hacimsel olarak boyutlarındaki küçülme yüzdesi *Lentinus tigrinus* SV 12 için, %22,022 *Ganoderma resinaceum* SV 19 için %28,175 olarak hesaplanmıştır. Bu türler ile üretilen kompozitlerin büzülme oranları arasındaki farklılıklar türler arası morfolojik ve fizyolojik farklılıkların kompozitin boyutsal karakterizasyonu üzerinde etkili olduğunu göstermektedir. Miselyal kompozitlerde kuruma

sonrası boyutsal küçülme, substratın nem içeriği, miselyum yoğunluğu ve tür özellikleri ile açıklanabilir. Kurutma sırasında suyun buharlaşması hifler arasında gerilim yaratarak, boyut küçülmesine neden olmaktadır. Boyutsal stabilite, miselyal kompozitlerin kullanılabilirliğini doğrudan etkileyen bir parametredir. Düşük ve homojen büzülme oranları, malzemenin üretim sonrasında deformasyona uğramadan kullanılabilmesini etkilemektedir. Appels vd. (2019) *Trametes versicolor* türüyle üretilen kompozitlerde %5–10 arasında değişen boyutsal büzülme oranları görüldüğünü ve bu büzülmenin özellikle yüksek nem içeriğine sahip substratlarda daha fazla olduğunu belirtmiştir.

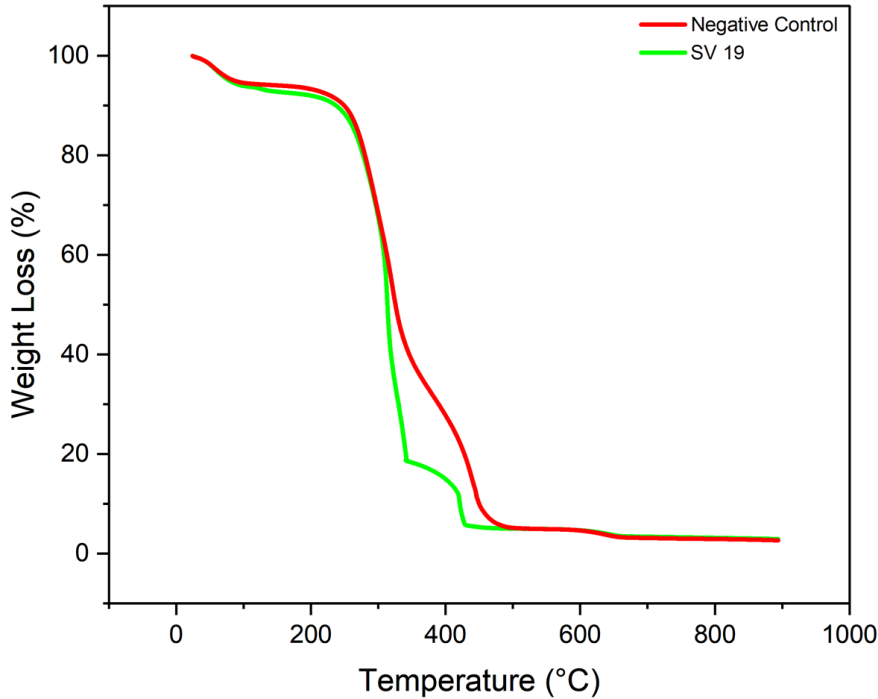
Miselyal kompozitlerin termal bozunma davranışlarını değerlendirmek amacıyla gerçekleştirilen TGA analizleri, *Lentinus tigrinus* SV 12 ve *Ganoderma resinaceum* SV 19 izolatları ile üretilen miselyal kompozit örnekleri, meşe talaşı içeren negatif kontrol ile karşılaştırılarak incelenmiştir (Şekil 4.22 ve 4.23) ve Şekil 4.24 de iki tür ve negatif kontrol birlikte incelenmiştir. Ağırlık kaybına ilişkin değişimler, sıcaklıkla ilişkili olarak analiz edilmiş ve materyalin ısıl kararlılığı hakkında veriler elde edilmiştir.



Şekil 4.26. *Lentinus tigrinus* SV 12 miselyal kompozitinin termogravimetrik analiz sonucu

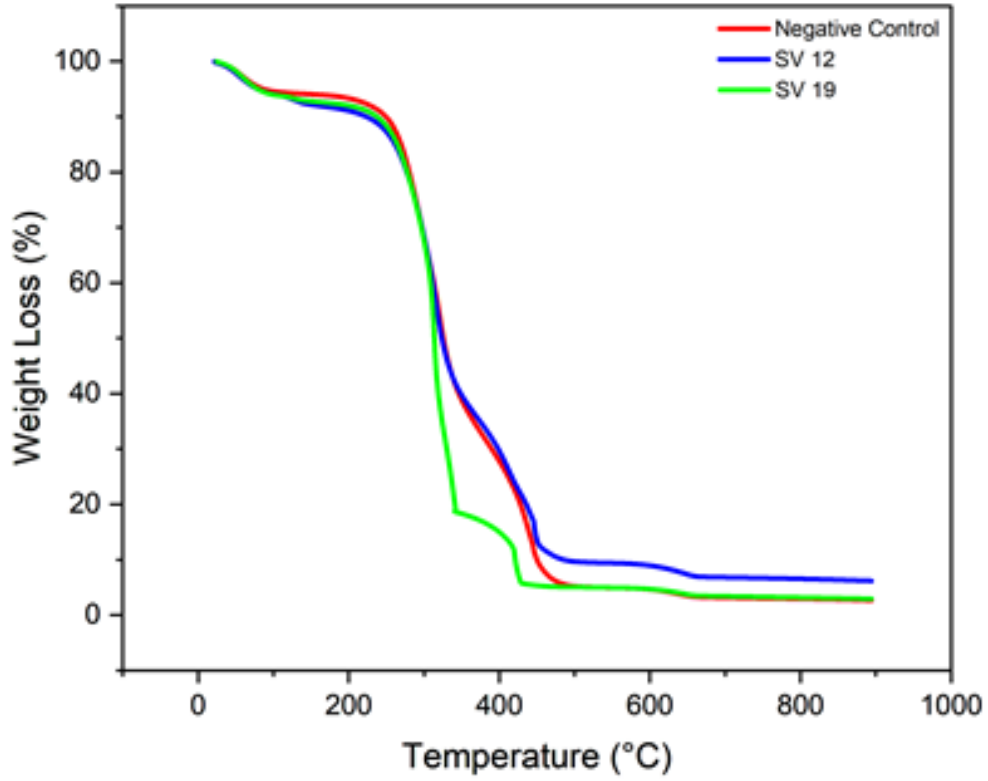
Talaş gibi lignoselüloz malzemelerin, termal bozunma özellikleri kimyasal bileşimlerinden (selüloz, hemiselülozlar ve lignin içerikleri) büyük ölçüde etkilenmektedir. Negatif kontrol (meşe talaşı ve meşe yongası) yaklaşık 100 °C'ye kadar olan ilk kütle kaybı serbest suyun buharlaşmasının kaynaklanmaktadır ve bu yaklaşık %10'luk bir kütle kaybına karşılık gelmektedir. Daha sonra 200-400°C'de biyokütlenin başlıca bileşenleri olan hemiselüloz, selüloz ve ligninin ayrışmasından kaynaklanmaktadır (Findorák vd., 2016). Negatif kontrolde 500°C sonrasında bozunma daha stabil hale gelmiş ve geri kalan ağırlık miktarı %10'un altına düşmüştür.

Lentinus tigrinus SV 12 ile üretilen kompozitlerde ise ağırlık kaybı profili negatif kontrole benzer bir eğilim göstermesine rağmen, termal bozunmanın daha yavaş gerçekleştiği gözlemlenmiştir. Özellikle 300–500 °C aralığında, *Lentinus tigrinus* SV 12 içeren örneklerin termal kararlılığının arttığı görülmektedir.



Şekil 4.27. *Ganoderma resinaceum* SV 19 miselyal kompozitinin termogravimetrik analiz sonucu

Ganoderma resinaceum SV 19 türü ile üretilen kompozitler, yaklaşık 350–450 °C aralığında çok daha ani bir kütle kaybı sergilemiştir. Bu durum, *Ganoderma resinaceum* SV 19'un misel yapısının sıcaklıkta bozunmaya karşı daha az dirençli olduğunu veya substrat yapısındaki lignin ve selüloz ayrışımını kolaylaştıran enzimatik modifikasyonlar gerçekleştirmesi ile ilişkilendirebilir.



Şekil 4.28. *Lentinus tigrinus* SV 12 ve *Ganoderma resinaceum* SV 19 termogravimetric analiz sonucu

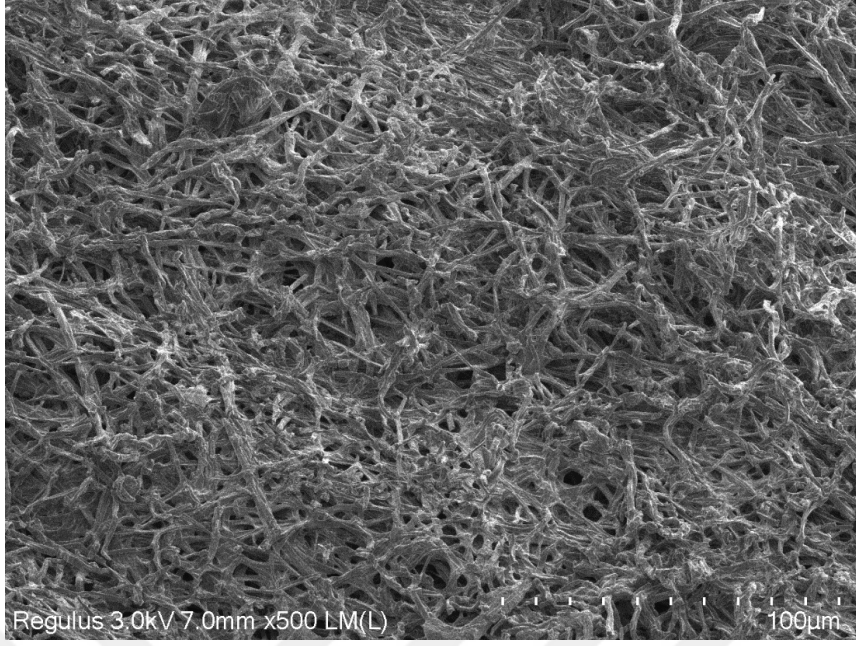
Yapılan TGA analizleri sonucunda *Lentinus tigrinus* SV 12 ile üretilen miselyal kompozitlerin, *Ganoderma resinaceum* SV 19 ile üretilenlere kıyasla daha yüksek termal stabilite sergilediğini ortaya koymaktadır. *Lentinus tigrinus* SV 12 kompozitlerinde, 300–500 °C aralığında daha düşük kütle kaybı ve 500 °C sonrasında daha yüksek kalıntı oranı gözlemlenmiştir. Bu durum, SV12' nin miselyal yapısının, lignoselülozik matrisle daha etkili bir şekilde etkileşime girerek termal bozunmaya karşı direnç sağladığını düşündürmektedir. Shebani vd. (2008) Yüksek selüloz ve lignin içeriğinin farklı sıcaklık

rejimlerinde odunun daha iyi termal kararlılığına yol açtığını vurgulamaktadır. *Lentinus tigrinus* SV 12 türünün en yüksek kalıntı oranı sahip olması 369,024 U/L selüloz enzim aktivitesi ile ilişkilendirilebilir.

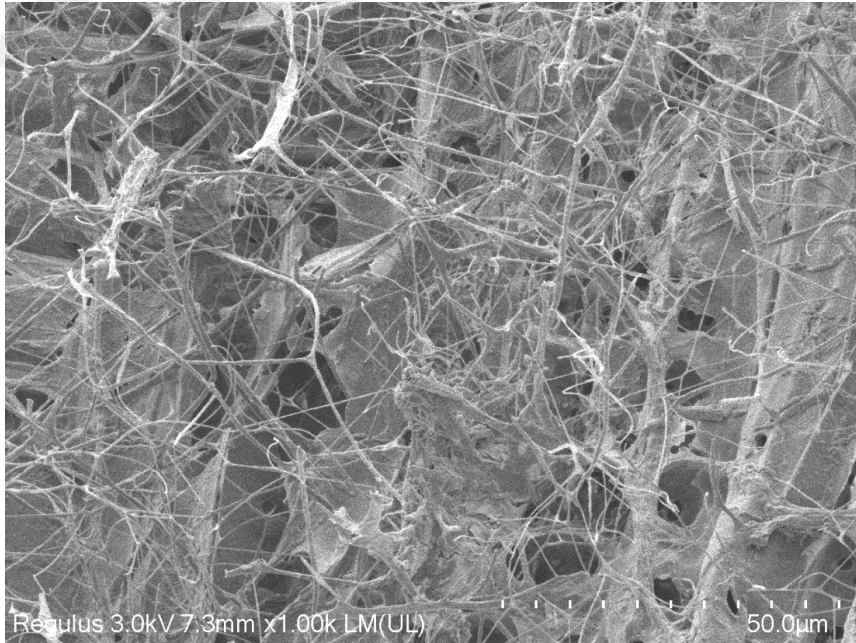
Ganoderma resinaceum SV 19 kompozitlerinde 300–450 °C aralığında daha ani ve yüksek oranlı bir kütle kaybı meydana gelmiştir. Bu durum, *Ganoderma resinaceum* SV 19 izolatının substrat içerisindeki lignin ve selüloz yapılarını daha çok ayrıştırmasıyla ilişkilendirilebilir. *Ganoderma resinaceum* SV 19 enzim aktivitesi sonuçlarını değerlendirdiğimizde selüloz, mangan peroksidaz ve mangan bağımsız peroksidaz enzim aktivitelerinin, sırasıyla 120,840 U/L, 3,00 U/L ve 5,00 U/L olması durumu desteklemektedir.

Bitkisel hammaddelerin ana kimyasal bileşenleri selüloz, hemiselüloz ve ligninden oluşmaktadır ve 100 °C/dakikanın altındaki ısıtma hızlarında bitkisel hammaddelerin termal ayrışmasında dört aşama vardır. Bu aşamalar mevcut olan suyun buharlaşması, ekstraktiflerin uçması, hemiselülozların ayrışması ve selülozun ayrışması, lignin ise daha yüksek bir sıcaklık aralığında daha yavaş ayrışmaktadır (Poletto vd.,2010). Miselyal kompozitlerin termal davranışları üzerine yapılan çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Moinuddin vd. (2022) pirinç kabuğundan üretilen kompozitlerin TGA analizinde, miselyal kütlelerin yaklaşık 250 °C'de bozunmaya başladığını ve 500 °C'de %25 oranında stabil kömürleşmiş kalıntı bıraktığını rapor etmişlerdir. Bu durum, *Lentinus tigrinus* SV 12 kompozitlerinin gösterdiği yüksek kalıntı oranlarıyla uyumludur. Benzer şekilde, Jones vd. (2020) miselyal kompozitlerinin TGA analizinde üç aşamalı bir bozunma profili gözlemlemişlerdir: 25–200 °C aralığında suyun buharlaşması, 200–375 °C aralığında organik bileşenlerin ayrışması ve 375 °C sonrasında kömürleşme sürecidir.

SEM analizleri fungusun morfolojisini ve yüzey topografisini karakterize etmek ve görüntülemek için yapılmıştır (Şekil 4.25 - 4.28). Miselyal kompozit malzemenin SEM görüntüleri miselin matris boyunca homojen dağılımını ve üretim ortamına kolonizasyonunu göstermektedir.

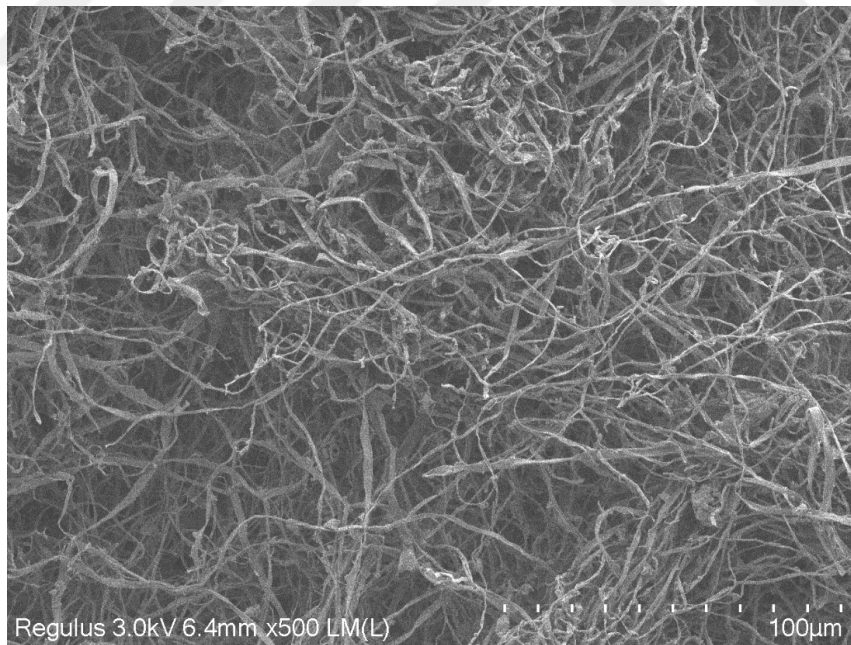


Şekil 4.29. *Lentinus tigrinus* SV 12 ile üretilen miselyal kompozitin dış yüzeyinin SEM mikrografi

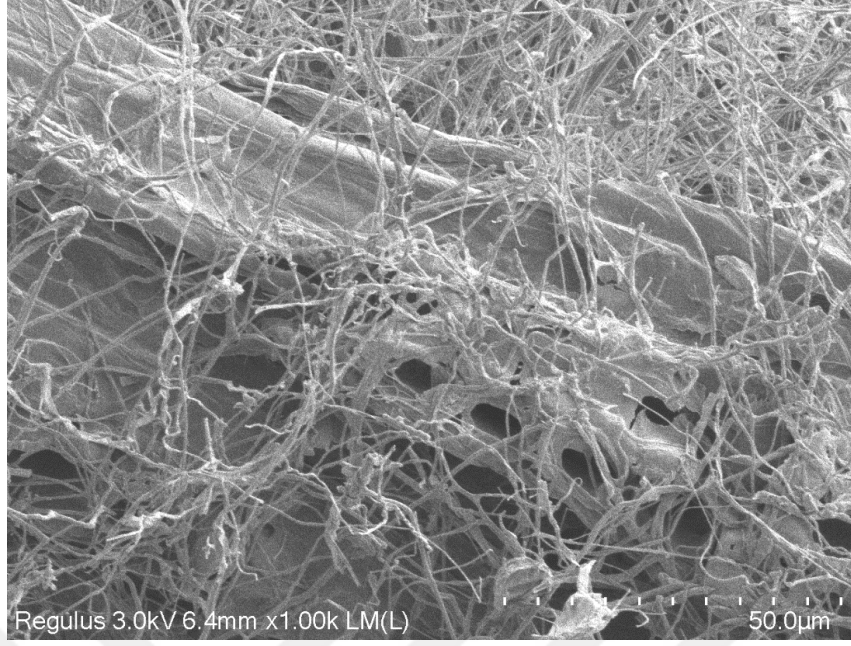


Şekil 4.30. *Lentinus tigrinus* SV 12 ile üretilen miselyal kompozitin merkezi kısmının SEM mikrografi

Lentinus tigrinus ile üretilen miselyal kompozitin dış yüzeyinde homojen ve yoğun bir miselyum yapısı oluşumu görülmektedir. Miseller, yüzey boyunca birbirine sıkı şekilde bağlanmıştır ve bu durum dış yüzeyin mekanik dayanıklılığını artıran kompakt bir miselyal yüzey oluşturmuştur. Bu morfoloji, *Lentinus tigrinus*'un hızlı yüzey kolonizasyon kapasitesi ile ilişkilendirilebilir. Literatürde *Lentinus tigrinus*'un hızlı büyüyen türler arasında yer aldığı, özellikle selüloz ve ligninin bozunmasında etkin rol oynayarak enzim sistemi sayesinde substratın hem fiziksel hem de kimyasal yapısını etkileyerek yoğun yüzey örtüsü oluşturabildiği bildirilmiştir (Kalaw vd., 2023; Bogdan vd., 2018). Merkezi iç kısmın SEM görüntüsünde ise daha düzensiz ve hifler arası boşlukların daha belirgin olduğu bir yapı oluşumu gözlenmiştir. Miselyum substrat partikülleri arasında bağlayıcı yapılar oluşturmaktadır, ancak bu yapılar dış yüzeye kıyasla daha seyrek ve heterojen bir dağılım göstermiştir. Bu durum, kompozitin iç kısmında daha fazla gözenekli bir yapının oluştuğuna ve düşük yoğunluğa sahip olduğunu göstermektedir. *Lentinus tigrinus*'un karbon kaynaklarını etkili şekilde kullanarak hifler arasında bağlayıcı yapı oluşturması, bu gözenekli yapının işlevselliğini de artırmaktadır (Pekşen vd., 2009).



Şekil 4.31. *Ganoderma resinaceum* SV 19 ile üretilen miselyal kompozitin dış yüzeyinin SEM mikrografı



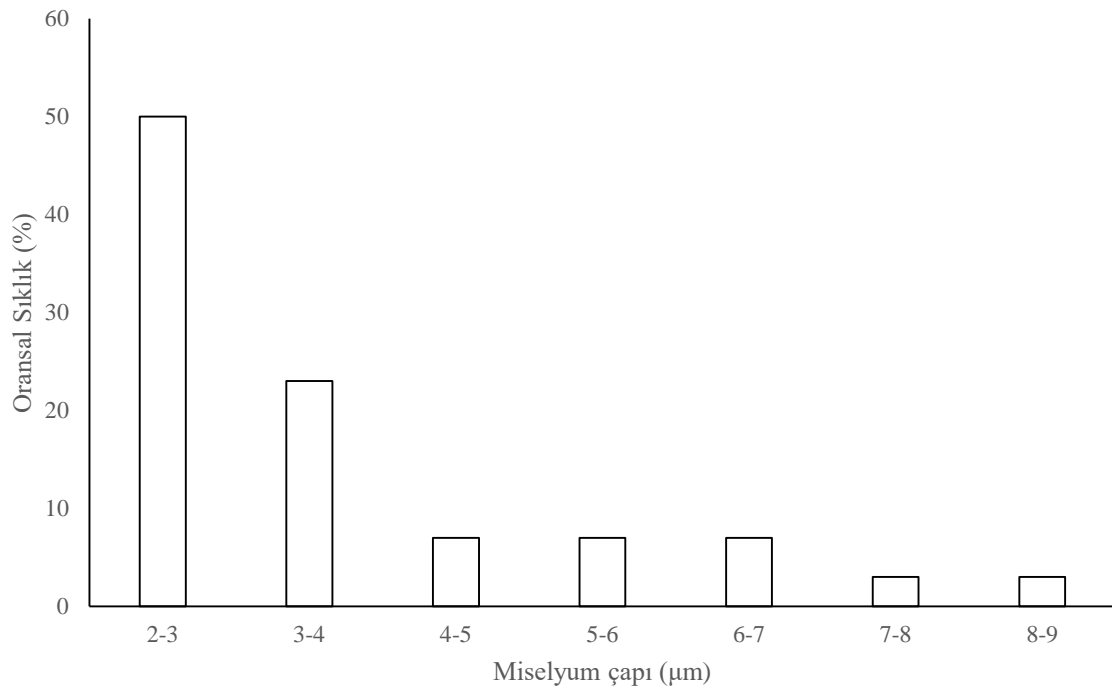
Şekil 4.32. *Ganoderma resinaceum* SV 19 ile üretilen miselyal kompozitin merkezi kısmının SEM mikrografı

Ganoderma resinaceum türüne ait miselyal kompozitin dış yüzey SEM görüntüsü, yoğun bir miselyal ağ oluşumunu göstermektedir. Kompozitin dış yüzeyinde görülen miselyum yapılarının sıkı ve homojen bir şekilde yayıldığı gözlenmiştir ve miselyumun üretim ortamının dış yüzeyine etkili biçimde kolonize olduğunu ve mekanik bütünlüğü sağlayarak bağlayıcı bir işlev gördüğünü göstermektedir. Hiflerin birbirine sıkıca bağlanması, dış yüzeyin potansiyel olarak daha düşük geçirgenliğe ve daha yüksek fiziksel dayanıklılığa sahip olduğunu göstermektedir. Yoğunluk ve basınç testleri sonuçları ile bu durum desteklenmektedir. Benzer şekilde, *Ganoderma* türlerinin yoğun dış yüzey miselyal örtü oluşturarak su geçişini sınırladığı ve biyolojik bariyer oluşturduğu literatürde de vurgulanmaktadır (Kumar ve Sharma, 2023).

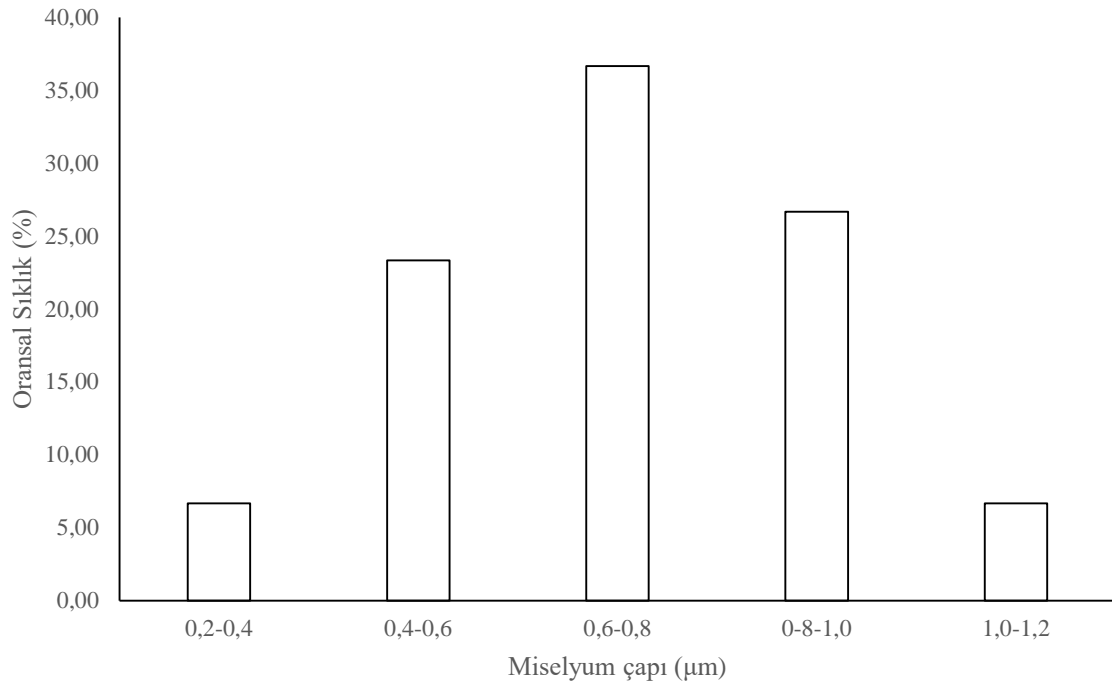
Merkezi iç kısmın SEM görüntüsünde ise miselyal hiflerin daha gevşek ve düzensiz bir dağılım gösterdiği görülmektedir. Miseller arasında gözenekli bir yapı oluşmuş, bu da kompozitin iç kısmında daha fazla hava boşluğu bulunduğunu ve bu nedenle düşük yoğunluklu ve yüksek yalıtım özelliklerine sahip olabileceğini göstermektedir. Miselyumların üretim ortamı partikülleri arasında köprü oluşturarak fiziksel bağlayıcılık sağladığı görülmektedir.

Literatürde *Ganoderma lucidum* ve *Ganoderma resinaceum* türleriyle üretilen miselyal kompozitlerde gözenekli ve hifli ağ yapılarıyla yüksek izolasyon kapasitesine sahip biyomalzeme üretimine olanak sağladığı bildirilmiştir (Angelova vd., 2022).

İzolatların kompozit yapısında yer alan miselyum çapları, SEM mikrograflarının Image J programında analiz edilmesi ile hesap edilmiştir. Her iki izolatın miselyumlarının farklı çaplara sahip olduğu belirlenmiş olup (Şekil 4.33 ve 4.34) Buna göre *Lentinus tigrinus* SV 12 izolatının 3,76 μm , *Ganoderma resinaceum* SV 19 izolatının ise 0,69 μm miselyum çapına sahip olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.33. *Lentinus tigrinus* SV 12 izolatının miselyum çaplarının oransal dağılımı



Şekil 4.34. *Ganoderma resinaceum* SV 19 izolatının miselyum çaplarının oransal dağılımı

4.3.4. İstatistiksel analiz

Farklı hif yapısına ve çürüklük tipine sahip olan toplam 72 makrofungus izolatının meşe talaşı ortamındaki büyüme verilerinin istatistiksel analizi koloni çapı ve büyüme hızı verileri dikkate alınarak MANOVA testi ile analiz edilmiştir. Elde edilen verilerin MANOVA testi sonuçları Çizelge 4.6' da sunulmuştur.

Çizelge 4.6. MANOVA çizelgesi

Etki	Test İstatistiği	Test istatistiği değeri	F dönüşüm değeri	Serbestlik derecesi	Serbestlik derecesi hatası	p
Hif Yapısı	Pillai's Trace	,000		,000	,000	.
	Wilks' Lambda	1,000		,000	133,500	.
	Hotelling's Trace	,000		,000	2,000	.
	Roy's Largest Root	,000	,000	2,000	132,000	1,000

Çizelge 4.6. MANOVA çizelgesi (devam)

Çürüklük Tipi	Pillai's Trace	,000		,000	,000	.
	Wilks' Lambda	1,000		,000	133,500	.
	Hotelling's Trace	,000		,000	2,000	.
	Roy's Largest Root	,000	,000	2,000	132,000	1,000
Hif Yapısı * Çürüklük Tipi	Pillai's Trace	,000		,000	,000	.
	Wilks' Lambda	1,000		,000	133,500	.
	Hotelling's Trace	,000		,000	2,000	.
	Roy's Largest Root	,000	,000	2,000	132,000	1,000
İzolat	Pillai's Trace	1,981	237,182	118,000	268,000	< 0.001
	Wilks' Lambda	,000	310,472	118,000	266,000	< 0.001
	Hotelling's Trace	363,083	406,161	118,000	264,000	< 0.001
	Roy's Largest Root	300,183	681,773	59,000	134,000	< 0.001

Çizelge 4.6.' da sunulan verilerin incelenmesi sonucunda $p < 0,001$ değerine sahip olan izolat değişkeninin düzeyleri koloni çapı ve büyüme hızı değişkenleri açısından anlamlı bir farka sahip olduğu görülmektedir. Elde edilen verilerin çoklu karşılaştırmaları (Post Hoc) sonucu ikili karşılaştırmalarda anlamlı farklılıklar elde edilmiştir. Bu sonuçlar homojen altsetler yardımıyla değerlendirilmiştir. Homojen altsetlere ilişkin istatistiksel analiz sonuçları hif yapısı için Çizelge 4.7. ve 4.8.' te, çürüklük tipi için ise Çizelge 4.9. ve 4.10' da sunulmuştur.

Çizelge 4.7. Hif yapısının koloni çapı üzerine etkisi açısından Tukey testi ile istatistiksel analiz sonuçları

	Alt set			
Hif yapısı	1	2	3	4
Diğer (4)	45,989			
Monomitik hif (1)		51,457		
Dimitik hif (2)			65,681	
Trimitik hif (3)				88,649
Sig.	1,000	1,000	1,000	1,000

Çizelge 4.8. Hif yapısının büyüme hızı üzerine etkisi açısından Tukey testi ile istatistiksel analiz sonuçları

	Alt set			
Hif yapısı	1	2	3	4
Diğer (4)	4,659			
Monomitik hif (1)		5,3439		
Dimitik hif (2)			6,449	
Trimitik hif (3)				9,732
Sig.	1,000	1,000	1,000	1,000

Çizelge 4.9. Çürüklük tipinin koloni çapı üzerine etkisi açısından Tukey testi ile istatistiksel analiz sonuçları

	Alt set		
Çürüklük tipi	1	2	3
Yumuşak çürükçül (3)	23,692		
Diğer (4)		45,989	
Kahverengi çürükçül (2)		46,776	
Beyaz çürükçül (1)			69,881
Sig.	1,000	,839	1,000

Çizelge 4.10. Çürüklük tipinin büyüme hızı üzerine etkisi açısından Tukey testi ile istatistiksel analiz sonuçları

Hif yapısı	Alt set		
	1	2	3
Yumuşak çürükçül (3)	2,211		
Diğer (4)		4,603	
Kahverengi çürükçül (2)		4,659	
Beyaz çürükçül (1)			
Sig.	1,000	,975	1,000

Hif yapısının koloni çapı üzerine etkisine ilişkin analiz sonuçları incelendiğinde en yüksek koloni çapı ortalamasına (88,649 mm) trimitik hif yapısına sahip olan fungusların ulaştığı görülmektedir. Benzer olarak bu hif yapısına sahip olan fungusların en yüksek büyüme hızı ortalaması (9,732 mm/gün) değerlerini sunmuştur. İstatistiksel olarak % 95 güven sınırında onaylanan bu veriler, koloni çapı ve büyüme hızı değerleri açısından trimitik hif yapısına sahip olan fungusların meşe talaşı ve yongasından oluşan üreme ortamı için tercih edilebileceğini göstermektedir.

Çürüklük tip değişkeni ele alındığında ise beyaz çürükçül fungusların hem koloni çapı hem de büyüme hızı açısından en yüksek değerlere sahip olduğu görülmektedir (sırası ile 69,881 mm ve 7,359 mm/gün). İstatistiksel olarak diğer çürüklük tiplerinden farklı bir altsette yer alan beyaz çürükçül funguslar her iki değişken açısından oldukça ümit verici sonuçlar sunması nedeni ile tercih edilmesi gereken çürüklük tipidir.

Her iki değişkenin (hif yapısı ve çürüklük tipi) birlikte değerlendirilmesi ile meşe talaşı ve yongasından oluşan üreme ortamının trimitik ve beyaz çürükçül funguslar için en uygun olduğu anlaşılmaktadır. Bu nedenle araştırmanın sonraki aşamaları bu grubu temsil eden iki fungus türü seçilerek gerçekleştirilmiştir. Bu üreme ortamı ile daha sonra araştırma yapmak isteyen araştırmacılara trimitik hif yapısına sahip beyaz çürükçül funguslara odaklanmalarını tavsiye ediyoruz.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmanın asıl amacı miselyal kompozit üretim aşamalarının biyolojisinin araştırılmasıdır. Literatürde var olan çalışmaların baskın çoğunluğu uygulamalı bilimler ve özellikle mimarlık/inşaat mühendisliği alanlarından sunulmakta olup, sürecin biyolojisini anlamaya yönelik temel bilimler seviyesindeki araştırmalar oldukça sınırlı kalmıştır. Miselyal kompozit üretimi için 72 farklı makrofungus türü ile meşe talaşı ortamında tarama çalışması gerçekleştirilmiştir. Çalışmada literatürde yaygın olarak kullanılan cins ve türlerin dışında daha önce literatürde çalışılmamış türlere de yer verilmiştir. Bu türlere örnek olarak *Auriscalpium vulgare*, *Cerrena unicolor*, *Clavulina cinerea*, *Cyanosporus caesius*, *Cyclocybe cylindracea*, *Ganoderma carnosum*, *Leucogyrophana pseudomollusca*, *Fomitopsis serialis*, *Panus neostrigosus*, *Pholiota populnea* gibi türler örnek verilebilir.

Türler belirlenirken farklı hif yapısı ve çürüklük tipine sahip türler olmasına özen gösterilmiştir. Hif yapısının ve çürüklük tipinin miselyal kompozit üretimine etkisini anlamaya yönelik gerçekleştirilen bu çalışmada yapılan istatistiksel analizler sonucunda trimitik ve beyaz çürükcül fungusların meşe talaşı üretim ortamında miselyal kompozit üretimi için potansiyel türler olduğu anlaşılmıştır. Tür içi genetik çeşitliliğin araştırılması amacıyla başarılı türlerin farklı suşları ile yeniden bir tarama çalışması gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma tür içi genetik çeşitliliğinin etkisinin detaylı bir şekilde yansıtan ilk çalışma olma niteliği taşımaktadır. Miselyal kompozit üretimi için potansiyel türler içerisinde *Lentinus tigrinus* SV 12 ve *Ganoderma resinaceum* SV 19 türleri ile miselyal kompozit üretimi aşamasına taşınmıştır. Üretilen miselyal kompozitin biyolojisi ve karakterizasyonu incelenmiştir. Üretilen miselyal kompozitin ligninolitik ve lignoselülozik enzim aktivitesi araştırılmıştır. pH, kül, organik madde içeriği analizi edilmiştir. Üretilen miselyal kompozit kalıpların yoğunluk, basınç, ve ısı iletkenlik analizleri gerçekleştirilerek detaylı bir araştırma gerçekleştirilmiştir.

Lentinus tigrinus SV 12 ve *Ganoderma resinaceum* SV 19 ile üretilen miselyal kompozitlerde yapılan analizler sonucunda *Ganoderma resinaceum* SV 19 0,260 g/cm³ yoğunluk ve 0,354 MPa basınç dayanımı, 0,050 W/mk ısı iletkenliği ve yüksek ligninolitik enzim aktivitesi sonuçları ile *Lentinus tigrinus* SV 12 türüne göre daha başarılıdır. Aynı zamanda SEM analizleri, *Ganoderma resinaceum*'un kompozit dış yüzeyinde daha kompakt bir misel yapısı ve iç yüzeyde ise gözenekli bir mikro yapı oluşturduğunu göstermiştir.

Bu veriler ışığında meşe talaşında *Ganoderma resinaceum* ile üretilen miselyal kompozitler, yapı sektörü, ses emici paneller ve biyobozunur ambalaj gibi uygulamalarda alternatif biyomalzeme olarak kullanılma potansiyeli taşımaktadır. Özellikle yüksek yoğunluk ve basınç dayanımı ile hafif, çevre dostu ve enerji verimli malzemelerin geliştirilmesine olanak sağlamaktadır. Ayrıca, elde edilen veriler ışığında, farklı ağaç türleri ve endüstriyel atıklar ile substrat çeşitliliği araştırılabilir. Miselyal kompozitlerin hidrofobiklik, UV dayanımı ve alev geciktiriciliği ses absorpsiyonu gibi fonksiyonel özellikleri araştırılarak yapı endüstrisinde daha geniş kullanım alanlarına uyarlanabilir. Miselyal kompozit üretim aşamasındaki adımlar optimize edilerek amaca uygun özelliklerde dayanıklı ve kaliteli miselyal kompozitler üretilebilir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Aiduang, W., Kumla, J., Srinuanpan, S., Thamjaree, W., Lumyong, S., Suwannarach, N. (2022) Mechanical, Physical, and Chemical Properties of Mycelium-Based Composites Produced from Various Lignocellulosic Residues and Fungal Species. *Journal of Fungi*, 8, 1125.
- Almeida, H., Vasco, J. (eds) *Progress in Digital and Physical Manufacturing. ProDPM 2019. Lecture Notes in Mechanical Engineering*. Springer, Cham.
- Alves, R. M., Alves, M. L., & Campos, M. J. (2019, September). Morphology and thermal behaviour of new mycelium-based composites with different types of substrates. In *International Conference of Progress in Digital and Physical Manufacturing* (pp. 189-197). Cham: Springer International Publishing.
- Angelova, N., Tsekova, S., Velkova, Z., & Petrov, K. (2022). Mechanical, Physical, and Chemical Properties of Mycelium-Based Composites Produced from Various Lignocellulosic Residues and Fungal Species. *Journal of Fungi*, 8(8), 842.
- Appels, F. V. W., Camere, S., Montalti, M., Karana, E., Jansen, K. M. B., Dijksterhuis, J., & Wösten, H. A. B. (2019). Fabrication factors influencing mechanical, moisture- and water-related properties of mycelium-based composites. *Materials & Design*, 161, 64–71
- Aquino, M., Rugolo, M., Robledo, G., Kuhar, F. (2022) Evaluation of mycelium composite materials produced by five Patagonian fungal species, *Maderas. Ciencia y tecnología*, 24, 35, 1-14.
- Attias, N., Danai, O., Ezov, N., Tarazi, E., Grobman, Y.J. (2017) Developing novel applications of mycelium based biocomposite materials for design and architecture, In: *Building with bio-based materials: Best practice and performance specification*, Zagreb, Croatia, 9–16 September 2017; pp. 1–10.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Attias, N., Danai, O., Tarazi, E., Pereman, I., Grobman, Y.J. (2019) Implementing bio-design tools to develop mycelium-based products, *The Design Journal*, 22:sup1, 1647-1657, DOI: 10.1080/14606925.2019.1594997
- Balaes, T., Radu, B.-M., Tanase, C. (2023) Mycelium-Composite Materials—A Promising Alternative to Plastics? *J. Fungi* 2023, 9, 210
- Baldrian, P. (2006). Fungal laccases—occurrence and properties. *FEMS microbiology reviews*, 30(2), 215-242.
- Bayburt C, Karaduman AB, Yenice Gürsu B, Tuncel, M, Yamaç M, (2020) Decolourization and detoxification of textile dyes by *Lentinus arcularius* in immersion bioreactor scale, *International Journal of Environmental Science and Technology* 17,945–958
- Bayburt, C., Karaduman, A., Çelik, U., & Yamaç, M. (2014). Farklı gelişim dönemlerinde *Pleurotus ostreatus* kompostundan ligninolitik enzim ekstraksiyonu için uygun yöntem seçimi. *Mantar Dergisi*, 5(2), 17-24.
- Bhat, T., Jones , M., Kandare, E., Yuen, R., Wang, C.H., John, S. (2018) Biomass and Waste-derived Sustainable Mycelium Composite Construction Materials with Enhanced Fire Safety, ECCM18 - 18th European Conference on Composite Materials, Athens, Greece, 24-28th June 2018
- Bilay, V.T., Solomko, E.F. and Buchalo A.S.. (2000) Growth of edible and medicinal mushrooms on commercial agar. In: Van Griensven, L.J.L.D.(ed.). 15nd International Congress of Science and Cultivation of Edible Fungi, Maastricht. Balkena, Rotterdam. Nedherlands, pp 779-780.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Bogdan, V. I., Sergeeva, Y. E., Lunin, V. V., Perminova, I. V., Konstantinov, A. I., Zinchenko, G. E., & Bogdan, K. V. (2018). Bioconversion of phenolic monomers of lignin and lignin-containing substrates by the basidiomycete *Lentinus tigrinus*. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 54(2), 198–205.
- Bruscato, C., Malvessi, E., Brandalise, R.N., Camassola, M. (2019) High performance of macrofungi in the production of mycelium-based biofoams using sawdust d Sustainable technology for waste reduction, *Journal of Cleaner Production*, 234, 225-232
- Carcassi, O.B., Minotti, P., Habert, G., Paoletti, I., Claude, S., Pittau, F. (2022) Carbon Footprint Assessment of a Novel Bio-Based Composite for Building Insulation. *Sustainability*, 14, 1384.
- Cerimi, K., Akkaya, KC, Pohl, C. . Yeni biyobazlı malzemeler için kaynak olarak: bir patent incelemesi. *Fungal Biol Biotechnol* 6, 17 (2019).
- Chang, J.H. , Chan, P.L., Xie, Y.C. , Ma, K.L., Cheung, M.K. , Kwan, H.S. , 2019. Modified recipe to inhibit fruiting body formation for living fungal biomaterial manufacture.
- Elsacker, E., Vandelook, S., Brancart, J., Peeters, E., & De Laet, L. (2020). Mechanical, physical and chemical characterisation of mycelium-based composites with different types of lignocellulosic substrates.
- Farinas, C. S., Damaso, M. C. T., & Couri, S. (2013). Cellulase Activity Assays: A Practical Guide. In *Methods to Determine Enzymatic Activity* (pp. 68-99). Bentham Science Publishers.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Findorák, R., Fröhlichová, M., Legemza, J., & Findoráková, L. (2016). Thermal degradation and kinetic study of sawdusts and walnut shells via thermal analysis. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 125, 689–694.
- Haneef, M., Ceseracciu, L., Canale, C., Bayer, I. S., Heredia-Guerrero, J. A., & Athanassiou, A. (2017). Advanced materials from fungal mycelium: fabrication and tuning of physical properties. *Scientific Reports*, 7(1), 41292.
- Islam, M. R., Tudryn, G., Bucinell, R., Schadler, L., & Picu, R. C. (2017). Morphology and mechanics of fungal mycelium. *Scientific Reports*, 7(1), 13070.
- Jones, M., Mautner, A., Luenco, S., Bismarck, A., & John, S. (2020). Engineered mycelium composite construction materials from fungal biorefineries: A critical review. *Materials & Design*, 187, 108397.
- Jones, M.P., Lawrie, A.C., Huynh, T.T., Morrison, P.D., Mautner, A., Bismarck, A., John, S. (2019) Agricultural by-product suitability for the production of chitinous composites and nanofibers utilising *Trametes versicolor* and *Polyporus brumalis* mycelial growth, *Process Biochemistry*, 80, 95–102.
- Kalaw, S. P., Dulay, R. M. R., Reyes, R. G., & Cabrera, E. C. (2023). Culture conditions for mycelial growth of eight Philippine wild strains of tiger sawgill mushroom, *Lentinus tigrinus*. *CLSU International Journal of Science and Technology*, 7(2), 1–10.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Kalaw, S. P., Dulay, R. M. R., Reyes, R. G., & Cabrera, E. C. (2023). Culture conditions for mycelial growth of eight Philippine wild strains of tiger sawgill mushroom, *Lentinus tigrinus*. *CLSU International Journal of Science and Technology*, 7(2), 1–10.
- Karaca, C., & Karaca, G. (2023). Comparison of Fungi with Sclerotia as Sustainable Materials for Product Design. In *E3S Web of Conferences* (Vol. 436, p. 03004). EDP Sciences.
- Kartal, İ., & Tunç, M. (2024). Investigation of Mechanical Properties of Oak Sawdust Filled Polyester Composites. *International Journal of Computational and Experimental Science and Engineering*, 10(3) ss.282-287.
- Khoo, S.C., Peng, W.X., Yang, Y., Ge, S.B., Soon, C.F., Ma, N.L., Sonne, C. (2020) Development of formaldehyde-free bio-board produced from mushroom mycelium and substrate waste, *Journal of Hazardous Materials*, 400, 123296.
- Kırbağ, S., Akyuz, M. (2008) Effect of various agro-residues on growing periods, yield and biological efficiency of *Pleurotus eryngii*, *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 3-4,402-405.
- Kirk, T. K., & Farrell, R. L. (1987). Enzymatic “combustion”: The microbial degradation of lignin1, 2. *Ann. Rev. Microbiol*, 41, 465-505.
- Kobayashi, N., Wada, N., Yokoyama, H., Tanaka, Y., Suzuki, T., Habu, N., & Konno, N. (2023). Extracellular enzymes secreted in the mycelial block of *Lentinula edodes* during hyphal growth. *AMB Express*, 13(1), 36.
- Kumar, A., & Sharma, S. (2023). Fireproofing flammable composites using mycelium: Investigating the effect of deacetylation on the thermal stability and fire reaction properties of mycelium. *Polymer Degradation and Stability*, 203, 110081.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Manan, S., Ullah, M.W., Ul-Islam, M., Atta, O.M., Yang G. (2021) Synthesis and applications of fungal mycelium-based advanced functional materials, *Journal of Bioresources and Bioproducts*, 6, 1–10.
- Mojumdar, A., Behera, H.T., Ray, L. (2021) Mushroom mycelia-based material: an environmental friendly alternative to synthetic packaging. In: Vaishnav, A., Choudhary, D.K. (Eds) *Microbial polymers*.
- Pekşen, A., Yakupoğlu, G., & Kibar, B. (2009). Influence of various sawdust-based substrates from different wood species and supplementary wheat bran on yield and fruiting body size of *Lentinus tigrinus*. *Acta Horticulturae*, 830, 319–326.
- Pelletier, M.G., Holt, G.A. , Wanjura, J.D. , Bayer, E. , McIntyre, G. (2013) An evaluation study of mycelium based acoustic absorbers grown on agricultural by-product substrates, *Industrial Crops and Products*, 51, 480– 485.
- Poletto, M., Dettenborn, J., Pistor, V., Zeni, M., & Zattera, A. J. (2010). Materials produced from plant biomass: Part I: Evaluation of thermal stability and pyrolysis of wood. *Materials Research*, 13, 375–379.
- Priyamvada, H., Akila, M., Singh, R.K., Ravikrishna, R., Verma, R.S., Philip, L., Marathe, R.R., Sahu, L.K., Sudheer, K.P., Gunthe S.S. (2017) Terrestrial Macrofungal Diversity from the Tropical Dry Evergreen Biome of Southern India and Its Potential Role in Aerobiology. *PLoS ONE* 12(1), e0169333.
- Rajendran, R.C. (2022). Packaging Applications of Fungal Mycelium-Based Biodegradable Composites. In: Deshmukh, S.K., Deshpande, M.V., Sridhar, K.R. (eds) *Fungal Biopolymers and Biocomposites*. Springer, Singapore

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Sariay, E., Cörüt, A., & Büyükakıncı, B. Y. (2023). Miselyum Kompozitlerinin Sürdürülebilir Yapı Malzemesi Olarak Kullanımı. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 14(1), 196-207.
- Shao, G.-B., Yang, P., Jiang, W.-X. (2016) Research and Preparation of Mycelium-Soybean Straw Composite Materials, 2nd Annual International Conference on Advanced Material Engineering (AME 2016), 9–15.
- Shebani, A. N., Van Reenen, A. J., & Meincken, M. (2008). The effect of wood extractives on the thermal stability of different wood species. *Thermochimica Acta*, 471(1–2), 43–50.
- Sreerag, N. K., Kashyap, P., Shilpa, V. S., Thakur, M., & Goksen, G. (2025). Recent Advances on Mycelium Based BioComposites: Synthesis, Strains, Lignocellulosic Substrates, Production Parameters. *Polymer Reviews*, 65(1), 169-198.
- Sydor, M., Bonenberg, A., Doczekalska, B., Cofta, G. (2022) Mycelium-Based Composites in Art, Architecture, and Interior Design: A Review. *Polymers* 2022, 14, 145.
- Sydor, M., Cofta, G., Doczekalska, B., & Bonenberg, A. (2022). Fungi in mycelium-based composites: usage and recommendations. *Materials*, 15(18), 6283.
- Tacer-Caba, Z., Varis, J.J., Lankinen, P., Mikkonen, K.S., (2020) Comparison of novel fungal mycelia strains and sustainable growth substrates to produce humidity-resistant biocomposites, *Materials and Design*, 192, 108728.
- Takcı, H. A. M., & Sertbaş, G. Bacillus spp. Suşlarından Ksilanaz Enziminin Kısmi Saflaştırılması ve Karakterizasyonu. *Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi*, 9(2), 335-348.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Uzar, S.S., Karaduman, A.B., Yamaç, M. (2017) Increasing of Laccase and Manganese Peroxidase Activity by Co-Culture of Immobilized *Pleurotus ostreatus* and *Lentinus tigrinus* Mycelia, *The Journal of Fungus*, 8(2), 152-162.
- Vašatko, H., Gosch, L., Jauk, J., & Stavríc, M. (2022). Basic research of material properties of mycelium-based composites. *Biomimetics*, 7(2), 51.
- Wimmers, G., Klick, J., Tackaberry, L., Zwiesigk, C., Egger, K., Massicotte, H. (2019) Fundamental Studies for Designing Insulation panels from Wood Shavings and Filamentous Fungi, *Bioresources*, 14(83), 5506-5520.
- Xiao, Z., Storms, R., & Tsang, A. (2004). Microplate-based filter paper assay to measure total cellulase activity. *Biotechnology and bioengineering*, 88(7), 832-837.
- Xing, Y., Brewer, M., El-Gharabawy, H., Griffith, G., Jones, P., (2018) Growing and testing mycelium bricks as building insulation materials, *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, 121,022032