

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Işıl ÜNTAÇ

**DİKARYON *Pleurotus ostreatus* MİSELLERİNİN FARKLI pH
DÜZEYLERİNDE GELİŞME HIZLARININ SAPTANMASI VE *Pseudomonas*
sp. SUŞLARININ *Pleurotus ostreatus* MİSEL GELİŞİM HIZINA OLASI
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ADANA, 2012

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DİKARYON *Pleurotus ostreatus* MİSELLERİNİN FARKLI pH
DÜZEYLERİNDE GELİŞME HIZLARININ SAPTANMASI ve *Pseudomonas*
sp. SUŞLARININ *Pleurotus ostreatus* MİSEL GELİŞİM HIZINA OLASI
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Işıl ÜNTAÇ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Bu Tez 30/11/2012 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri tarafından Oy Birliği / Oy
Çokluğu ile Kabul Edilmiştir.

.....
Prof. Dr. Ömer ÇOLAK
DANIŞMAN

.....
Prof. Dr. Burhan ARIKAN
ÜYE

.....
Doç. Dr. Ashabil AYGAN
ÜYE

Bu Tez Enstitümüz Biyoloji Anabilim Dalında Hazırlanmıştır.
Kod No:

**Prof.Dr. Selahattin SERİN
Enstitü Müdürü**

**Bu Çalışma Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
desteklenmiştir.
Proje No: FEF2012YL10**

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların
kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere
tabidir.

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DİKARYON *Pleurotus ostreatus* MİSELLERİNİN FARKLI pH DÜZEYLERİNDE GELİŞME HIZLARININ SAPTANMASI ve *Pseudomonas* sp. SUŞLARININ *Pleurotus ostreatus* MİSEL GELİŞİM HIZINA OLASI ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Işıl ÜNTAÇ

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

Danışman : Prof. Dr. Ömer ÇOLAK

Yıl: 2012 Sayfa: 83

Jüri : Prof. Dr. Ömer ÇOLAK

: Prof. Dr. Burhan ARIKAN

: Doç. Dr. Ashabil AYGAN

Bu çalışmayla birlikte, ekonomik değeri olan önemli bir mantar türünü oluşturan *Pleurotus ostreatus* üreticilerinin hazırlayacakları yapay misel ve meyve ortamlarına katılabilecek katkı maddeleri ile elde edilen pH düzeyinin en uygun ve bol ürün elde edilmesi yönünde kullanılabilirliği şeklinde endüstriyel bir katkı sağlanacaktır. Bunun yanı sıra *Pseudomonas* sp.'nin gelişim desteği, görünüm ve lezzet bakımından olduğu kadar ürün kalite ve kitlesinde de pozitif katkılar sağladığı taktirde bu da bu yöndeki endüstriye üst düzey bir katkı sağlayacaktır.

Bu çalışmada, öncelikle pH düzeyinin *Pleurotus ostreatus*'un misellerine etkisi araştırılmıştır. Mantarın gelişimi için en uygun pH değerinin 7 civarında olduğu tespit edilmiş ve mantarın kültürün pH düzeyini değiştirerek, kendi gelişimi için gerekli optimum pH değerine dönüştürdüğü gözlenmiştir. Bunun yanı sıra, düşük pH değerlerinde gelişen misellerin morfolojik görünümü yüksek pH düzeylerine göre daha zayıf bir yapıda olup, besiyeri yüzeyini tamamen kaplama süresi ise daha uzundur.

Diğer taraftan, izole edilen *Pseudomonas* suşlarının misel gelişimi üzerine pozitif yönde önemli bir katkısı ortaya çıkmamıştır. Bununla birlikte, bazı suşlarla beraber geliştirilen misellerin, bakterilerin bulunduğu bölgede daha sıkı ve güçlü bir misel örtüsü meydana getirdikleri tespit edilmiştir. Ayrıca birçok bakteri suşu ile mantar birlikteliği sonucu, besiyerinin yüzeyinin tamamını kaplama süresinin bakteri ekilmemiş, sadece mantar ekilen petri kutularında gelişen misellere göre (kontrol grubu) daha kısa sürdüğü tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Pleurotus ostreatus*, Misel, pH, *Pseudomonas*, MGPB

ABSTRACT

MSc THESIS

DETERMINATION OF EFFECTS OF DIFFERENT pH LEVELS ON THE GROWTH RATES OF DIKARYON *Pleurotus ostreatus* MYCELIA AND POSSIBLE EFFECTS OF *Pseudomonas* sp. STRAINS ON THE GROWTH RATES OF *Pleurotus ostreatus* MYCELIA

Işıl ÜNTAÇ

**UNIVERSITY OF ÇUKUROVA
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF BIOLOGY**

Supervisor : Prof. Dr. Ömer ÇOLAK

Year: 2012 Pages: 83

Jury : Prof. Dr. Ömer ÇOLAK
: Prof. Dr. Burhan ARIKAN
: Doç. Dr. Ashabil AYGAN

This study will be an industrial contribution to the growers of an important edible mushroom *Pleurotus ostreatus* which have enonomic value. After adding some additives to prepared artificial mycelium and fruitbody spawns for obtaining the optimum pH level can be benefit for producing the most suitable and abundant products. In addition to these, the *Pseudomonas* strains' growth promotion can be a high industrial contribution to the appearance, taste and also the quality of products.

In this study, firstly the effects of pH levels on mycelia of *Pleurotus ostreatus* were investigated. The results showed that, *Pleurotus ostreatus* has an ability to utilize the pH level of culture medium, which is optimum for its growth and pH 7 was found to be optimum value for its mycelial growth. In addition to these, the results indicated that at low pH levels, the morphological appearance of mycelia were more weak than morphological appearance of mycelia at high pH levels and also at low pH levels, the duration of mycelia's covering of whole medium surface was more long.

Secondly, the isolated *Pseudomonas* strains had not significant positive effects on the mycelial growth of *Pleurotus ostreatus*. However, the results indicated that, at the region which mycelia grewed with some of the *Pseudomonas* strains, there was more thick and strong mycelial cover. In addition to this, the duration of mycelia's covering of whole medium surface was more short at bacteria inoculated mycelia of petri dishes than the control group (without bacterial inoculation).

Keywords: *Pleurotus ostreatus*, mycelium, pH, *Pseudomonas*, MGPB

TEŞEKKÜR

Çalışmamın her aşamasında desteğini esirgemeyen ve her zaman yanımda olan çok değerli danışman hocam Prof. Dr. Ömer ÇOLAK'a çok teşekkür ediyorum.

Jüri üyelerim Prof. Dr. Burhan ARIKAN ve Doç. Dr. Ashabil AYGAN'a çok teşekkür ediyorum.

Çalışmalarım sırasında yardımlarını gördüğüm Dr. Emel KARADENİZ, uzman biyolog Fatma Esen SARIGÜLLÜ, biyolog Seda KILINÇ, biyolog Nazan BOĞA ve biyolog Fatma AZGIN'a teşekkür ediyorum.

Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Fonuna, çalışmalarına katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında bana maddi ve manevi destekte bulunan aileme ayrıca teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	X
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	XII
1. GİRİŞ.....	1
1.1. <i>Pleurotus ostreatus</i>	2
1.1.1. Genel Özellikleri.....	2
1.1.1. Yaşam Döngüsü.....	3
1.1.3. Kültür.....	6
1.1.4. Gelişim Parametreleri.....	8
1.1.5. Medikal Özellikleri.....	9
1.2. Mantarlarda Misel Gelişimini Etkileyen Faktörler.....	11
1.2.1. Besin İhtiyacı.....	11
1.2.2. Fiziksel Faktörler.....	12
1.2.2.1. Sıcaklık.....	12
1.2.2.2. Işık.....	13
1.2.2.3. Nem.....	13
1.2.2.4. Havalandırma.....	13
1.2.2.5. pH.....	14
1.3. <i>Pseudomonas</i> spp.....	15
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	17
2.1. pH Parametresinin Önemi ile İlgili Yapılan Çalışmalar.....	17
2.2. <i>Pseudomonas</i> spp. ile Yapılan Çalışmalar.....	19

3. MATERYAL VE METOD.....	23
3.1. Materyal.....	23
3.1.1. Kullanılan Organizmalar.....	23
3.1.2. Kullanılan Besiyerleri.....	23
3.1.2.1. <i>Pleurotus ostreatus</i> için Kullanılan Besiyerleri.....	23
3.1.2.1.(1). CYM (Complete Yeast Medium) Agar.....	23
3.1.2.1.(2). CYM (Complete Yeast Medium).....	24
3.1.2.2. <i>Pseudomonas</i> sp. İzolasyonu ve Gelişimi için Kullanılan Besiyerleri.....	25
3.1.2.2.(1). GSP (Glutamate Starch Phenol Red) Agar.....	25
3.1.2.2.(2). GSP (Glutamate Starch Phenol Red).....	26
3.1.2.2.(3). Nutrient Agar.....	27
3.1.2.3. Biyokimyasal Testlerde Kullanılan Besiyerleri.....	27
3.1.2.3.(1). SIM Agar.....	27
3.1.2.3.(2). Clark-Lubs Besiyeri.....	28
3.1.2.3.(3). TSI (Triple Sugar Iron).....	28
3.1.2.3.(4). Simmons Sitrat Besiyeri.....	29
3.1.2.3.(5). Jelatin Besiyeri.....	29
3.1.2.3.(6). Nutrient Buyyon Besiyeri.....	30
3.1.2.3.(7). DLA (Desoxycholat Lactose Agar).....	30
3.1.2.3.(8). King's Medium B.....	31
3.1.2.3.(9). King's Medium A.....	31
3.1.2.3.(10). Nitrat Besiyeri.....	32
3.1.3. Kullanılan Çözeltiler.....	32
3.1.3.1. Metil Kırmızısı Çözeltisi.....	32
3.1.3.2. Kovacs Çözeltisi.....	33
3.1.3.3. Gram'ın İyot Çözeltisi.....	33
3.1.3.4. Kristal Viyole Çözeltisi.....	33

3.1.3.5. Karbol Füksin Çözeltisi.....	34
3.2. Metod.....	34
3.2.1. <i>Pleurotus ostreatus</i> Misellerinin Farklı pH Düzeylerinde	
Gelişiminin Gözlemlenmesi.....	34
3.2.1.1. Farklı pH Düzeylerinin Misel Gelişimine Etkisinin Sıvı	
CYM Besiyerinde Gözlemlenmesi.....	34
3.2.1.2. Farklı pH Düzeylerinin Misel Gelişimine Etkisinin Katı	
CYM Besiyerinde Gözlemlenmesi.....	35
3.2.2. Bakteri İzolasyonu.....	35
3.2.3. Bakterilerin İdentifikasyonu İçin Yapılan Testler.....	36
3.2.3.1. Gram Boyama.....	36
3.2.3.2. Katalaz testi.....	36
3.2.3.3. Oksidaz Testi.....	37
3.2.3.4. Jelatin Hidrolizi Testi.....	38
3.2.3.5. Metil Kırmızısı Testi.....	38
3.2.3.6. Sitrat Testi.....	39
3.2.3.7. SIM Testi.....	39
3.2.3.8. TSI Deneyi.....	40
3.2.3.9. DLA Testi.....	41
3.2.3.10. 42°C ve 4°C’de Üreme Testi.....	42
3.2.3.11. Pigment Testi.....	42
3.2.3.12. Nitrat Testi.....	43
3.2.3.13. Voges-Proskauer Testi.....	44
3.2.4. <i>Pseudomonas</i> suşlarının <i>Pleurotus ostreatus</i> ’un Misel Gelişimi	
Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi.....	45
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	47
4.1. Bulgular.....	47
4.1.1. <i>Pleurotus ostreatus</i> ’un Farklı pH Düzeylerindeki Misel Gelişimi.	47

4.1.1.1. <i>Pleurotus ostreatus</i> 'un Katı Besiyerinde Farklı pH'lardaki Misel Gelişiminin Belirlenmesi.....	47
4.1.1.2. <i>Pleurotus ostreatus</i> 'un Sıvı Besiyerinde Farklı pH'lardaki Misel Gelişiminin Belirlenmesi.....	54
4.1.2. Bakteri İdentifikasyon Testlerinin Sonuçları.....	57
4.1.3. <i>Pseudomonas</i> Suşlarının <i>Pleurotus ostreatus</i> Misel Gelişimi Üzerine Etkisinin Belirlenmesi.....	60
4.2. Tartışma.....	67
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	71
KAYNAKLAR.....	73
ÖZGEÇMİŞ.....	83

ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 4.1. <i>P.ostreatus</i> 'un CYM-Agar besiyerinde farklı pH düzeylerindeki günlük misel gelişim çaplarının ölçüm sonuçları	48
Çizelge 4.2. Yedinci günde farklı pH düzeylerinde gelişen misellerin cm olarak ölçülen çaplarına ait bulguların grafiği.....	49
Çizelge 4.3. Sekizinci günde farklı pH düzeylerinde gelişen misellerin cm olarak ölçülen çaplarına ait bulguların grafiği.....	50
Çizelge 4.4. <i>P.ostreatus</i> 'un CYM besiyerinde farklı pH düzeylerindeki misel gelişim farklılıklarına ait bulgular.....	54
Çizelge 4.5. İdentifikasyon test sonuçları.....	58
Çizelge 4.6. İdentifikasyon test sonuçları.....	59
Çizelge 4.7. Bakterilerin <i>P.ostreatus</i> 'un misel gelişimi üzerine etkisine ait bulgular.....	60
Çizelge 4.8. <i>Pseudomonas</i> suşları ile ekilen <i>P.ostreatus</i> misellerinin petri kutusundaki besiyerinin yüzeyini kaplama süreleri.....	62

ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 1.1. <i>Pleurotus ostreatus</i> 'ta primordia oluşumu.....	5
Şekil 1.2. <i>Pleurotus ostreatus</i> 'un meyvesi.....	6
Şekil 1.3. Buğday taneleri içeren torbada <i>Pleurotus ostreatus</i> 'un misel gelişimi.....	7
Şekil 1.4. Saman içeren torbada <i>Pleurotus ostreatus</i> meyvesi.....	8
Şekil 3.1. <i>Pleurotus ostreatus</i> misellerinin gelişiminin CYM-Agar besiyerindeki görünümü.....	24
Şekil 3.2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 'nın GSP-Agar besiyerindeki görünümü.....	26
Şekil 3.3. Farklı pH düzeylerindeki sıvı CYM besiyerlerinde gelişen misellerin görünümü.....	35
Şekil 3.4. %30'luk H ₂ O ₂ damlatılması sonucu kabarcık oluşturan katalaz pozitif bakterilerin görünümü.....	37
Şekil 3.5. Oksidaz pozitif (koyu mavi renk) ve oksidaz negatif (sarı renk) bakterilerin görünümü.....	38
Şekil 3.6. Sitrat pozitif (mavi renk) ve sitrat negatif (yeşil renk) bakterilerin görünümü.....	39
Şekil 3.7. TSI besiyerinde hem üst kısımda hem de dip kısımda kırmızı renk veren bakterilerle, besiyerinde renk değişiminin gerçekleşmediği bakterilerin görünümü.....	41
Şekil 3.8. King's Medium B'de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 'nın fluorescein pigmentinin görünümü.....	42
Şekil 3.9. Pembe-kırmızı renk veren nitrat pozitif bakterilerin görünümü...	44
Şekil 3.10. CYM-Agar besiyerine bakteri ve mantarın karşılıklı olarak ekilmesi.....	45
Şekil 4.1. pH 3'te <i>P.ostreatus</i> misellerinin 14. günde petri kutusunda gösterdiği gelişim.....	51

Şekil 4.2. pH 5'te <i>P.ostreatus</i> misellerinin 9. günde petri kutusunda gösterdiği gelişim.....	51
Şekil 4.3. pH 7.5'te <i>P.ostreatus</i> misellerinin 8. günde petri kutusunda gösterdiği gelişim.....	52
Şekil 4.4. pH 10'da <i>P.ostreatus</i> misellerinin 8. günde petri kutusunda gösterdiği gelişim.....	52
Şekil 4.5. pH 12'de <i>P.ostreatus</i> misellerinin 9. günde petri kutusunda gösterdiği gelişim.....	53
Şekil 4.6. pH 14'de <i>P.ostreatus</i> misellerinin 11. günde petri kutusunda gösterdiği gelişim.....	53
Şekil 4.7. pH 3, 4 ve 5'te <i>P.ostreatus</i> misellerinin 15. günde CYM besiyeri içeren erlende gösterdiği gelişim.....	55
Şekil 4.8. pH 6, 7 ve pH'sı ayarlanmamış, normal değerinde bırakılan (7.62) CYM besiyeri içeren erlende <i>P.ostreatus</i> misellerinin 15. günde gösterdiği gelişim.....	55
Şekil 4.9. pH 8, 9 ve 10'da <i>P.ostreatus</i> misellerinin 15. günde CYM besiyeri içeren erlende gösterdiği gelişim.....	56
Şekil 4.10. pH 11, 12, 13 ve 14'te <i>P.ostreatus</i> misellerinin 15. günde CYM besiyeri içeren erlende gösterdiği gelişim.....	56
Şekil 4.11. 3. günde kontrol grubu ile 3 numaralı bakterinin olduğu petri kutusunda <i>P.ostreatus</i> 'un misel gelişimi.....	62
Şekil 4.12. 7. günde <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 'nın <i>P.ostreatus</i> miselinin gelişmesine olumsuz etkisinin görünümü.....	63
Şekil 4.13. 9. günde Y ₄ bakterisinin olduğu petri kutusunda <i>P.ostreatus</i> misellerinin gelişiminin görünümü.....	63
Şekil 4.14. 14. günde 2 numaralı bakterinin olduğu petri kutusunda <i>P.ostreatus</i> misellerinin gelişiminin görünümü.....	64
Şekil 4.15. 10. ve 15. günde Z ₁ bakterisinin olduğu petri kutusunda <i>P.ostreatus</i> misellerinin gelişiminin görünümü.....	64

Şekil 4.16. 10. ve 15. günde 23 numaralı bakterinin olduğu petri kutusunda <i>P.ostreatus</i> misellerinin gelişiminin görünümü.....	65
Şekil 4.17. 7. günde kontrol grubu ile F bakterisinin olduğu petri kutusunda <i>P.ostreatus</i> misellerinin gelişiminin görünümü.....	65
Şekil 4.18. 7. günde kontrol grubu ile Z ₁₀ bakterisinin olduğu petri kutusunda <i>P.ostreatus</i> misellerinin gelişiminin görünümü.....	66
Şekil 4.19. 7. günde kontrol grubu ile E ₅ bakterisinin olduğu petri kutusunda <i>P.ostreatus</i> misellerinin gelişiminin görünümü.....	66

SİMGELER VE KISALTMALAR

atm.	: Atmosfer
°C	: Santigrat Derece
cm	: Santimetre
CYM	: Complete Yeast Medium
dk.	: Dakika
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
g	: Gram
L	: Litre
µL	: Mikrolitre
mg	: Miligram
MGPB	: Mushroom Growth Promoting Bacteria (Mantar büyümesini teşvik eden bakteriler)
mL	: Mililitre
PGPR	: Plant Growth Promoting Rhizobacteria (Bitki büyümesini teşvik eden rizobakteriler)
pH	: Power of Hydrogen (Hidrojenin gücü)
ppm	: Parts per million (Milyonda bir)
<i>P.ostreatus</i>	: <i>Pleurotus ostreatus</i>
sp.	: Tür
spp.	: Türler

1. GİRİŞ

Yenilebilen mantarlar, hoş tatları ve önemli protein kaynağı olmaları sebebiyle insanların daha iyi beslenmelerine yardımcı olan temel bir besin kaynağıdır. Bu mantarlardan bazıları medikal mantarlar olup, insan sağlığına faydalı birçok tıbbi özelliğe sahiptirler. Bunların yanı sıra, mantarlar yetiştirilirken tarımsal ve endüstriyel organik atık materyallerinin kullanılması, son yıllarda dünya genelinde mantarların araştırılmasına ve endüstriyel üretimine olan taleplerin artmasına neden olmuştur (Chang ve ark., 1999).

Yenilebilen mantarlar gelişen ülkelerde yetiştirilmek için birçok sebepten ötürü oldukça cazip bir üründür. Bu sebeplerin en önemlilerinden biri de, tarımsal atıklarda yetişiyor olabilmeleridir. Bize substrat materyallerini çok ucuza, hatta bedava olarak temin edebilmemizi sağlarken, atıkların geri dönüşümünü sağlayarak çevremizi korumamıza da yardımcı olmaktadır. Birçok *Pleurotus* suşları, diğer mantarlara kıyasla çeşitli substrat materyallerini kullanarak fayda sağlamaktadırlar (Poppe, 2004).

Şu anda yıllık mantar üretimi toplam 6 milyar kg'dır. 6 milyar insan için, üretilen mantar insan başına yılda 1 kg veya günde 3 gr'a denk gelmektedir. Fakat tarımdaki (500 milyar kg) ve ormancılıktaki (100 milyar kg) yıllık atıkları göz önünde bulundurursak, 600 milyar kg'lık kuru atıktan 360 milyar kg mantarı kolaylıkla üretebiliriz. Bu da bize kişi başına yıllık 60 kg mantar (%4 protein içeren) üretmemize yarar sağlayacaktır. Biliyoruz ki, dünya popülasyonunun %30'u protein eksikliği çekmektedir. Son zamanlarda yapılan analizler göstermiştir ki, 200 gr'lık bir mantar 100 gr etin yerine protein kaynağı olarak kullanılabilir (Poppe, 2004).

Günümüzde daha ucuz bir protein kaynağı olan mantarların yetiştirilebilmesi için mantar yetiştiricilerinin ve araştırmacılarının amacı, yüzey alanındaki verimi arttırabilmek, hasat zamanını azaltmak, meyve üretiminin ritmik döngüsünü arttırmaktır. Bunları başarabilmek için ise, ihtiyaç duyulan substrat materyallerinin seçimi ve onların hazırlanması, spawn için uygun besiyerinin seçimi, mantarlarda hastalık yapıcı mikroorganizmaların kontrolü ve yüksek verimde gelişebilen kaliteli suşların üretimi için birçok araştırmalar yapılmaktadır (Chang ve ark., 1999).

Mantarlar arasında *Pleurotus*, büyük çeşitlilikteki substratları kullanıp, hızlı misel gelişimi ve çok yönlü enzim sistemi ile neredeyse tüm atıkları parçalayabilmektedir (Poppe, 2004). *Pleurotus* türleri, birçok lignoselülozik substratların başarılı bir şekilde parçalanmasına, biyolojik olarak dönüştürülmesine olanak sağlayan geniş çeşitlilikte hidrolitik ve oksidatif enzimler üretmektedirler. Bu tür parçalanma olayları endoglukanaz, ekzoglukanaz, laminarinaz, β -glukosidaz, ksilanaz, lakkaz ve polifenol oksidaz gibi birçok enzimin ortak sinerjistik birlikteliği ile sonuçlanır (Mandee ve ark., 2005).

1.1. *Pleurotus ostreatus*

Basidiomycota şubesinde yer alan (Sümer, 2006), Pleurotaceae familyasından *Pleurotus* mantarları yenilebilen mantarlar arasında oldukça popülerdirler. *Pleurotus ostreatus* gibi birçok *Pleurotus* cinsleri meşe ağaçlarının birincil ayrıştırıcıları olup, dünya genelinde bulunmaktadır. Çeşitli iklimlere ve substrat materyallerine oldukça iyi adapte olmaları sebebiyle, *Agaricus bisporus*'tan sonra dünya genelinde en çok üretilen mantar türüdür (Kong, 2004).

1.1.1. Genel Özellikleri

Şapkasının kenarı düzgün dalgalı olmasıyla istiridye kabuğuna benzediğinden istiridye mantarı olarak da adlandırılan *Pleurotus ostreatus*, suşlar arasında farklılık gösteren ve sıcaklık ve ışık gibi koşullara göre değişen beyaz, sarı, pembe, gri ve kahverengi tonlarındaki renklere sahiptir. Evrimsel bakış açısından baktığımız zaman, bu mantarların çeşitli ağaç türlerinde saprofit olarak yaşayabilecek yeteneğe sahip olduklarını görebiliriz. Ölmekte olan ağaçlarda görülmeleri, bu mantarların öncelikli olarak saprofit olduklarını düşündürtse de, uygun koşulları elde ettikleri zaman fakültatif parazit olarak davranış göstermektedirler (Stamets, 2000).

Genellikle beyaz renkli, az sıklıkta leylak, gri tonlarında ve 7.5-9.5 x 3-4 μ büyüklüğünde sporlara sahiptir. Clamp connectionları (bağlantı kancası) vardır. Miselleri beyazımsı, uzunlamasına radial, pamuksu olup, misel geliştikçe kalın ve

kuvvetli keçe halini almaktadır. Misel yaşlandıkça sarımsı turuncu bir damlacık şeklinde metabolit salgılar ki bu metabolit nematodlar için toksiktir (Stamets, 2000).

1.1.2. Yaşam Döngüsü

Mantarların yaşam döngüsünün önemli bir kısmını vejetatif çoğalma dediğimiz misel gelişimi kapsar. Seksüel üreme davranışı ise üç ana evreyi kapsar: plazmogami, karyogami ve mayoz. Plazmogami, protoplast füzyonu şeklinde gerçekleşir ve farklı nukleusların aynı hücrede bir arada bulunmasını ifade eder. Karyogami ise nukleusların füzyonudur. Mayoz, karyogami sonucu oluşan, diploid hücrelerde gerçekleşen redüksiyon bölünmesidir. Mayoz sonucu 4 tane haploid nukleus meydana gelir (Chang ve ark., 1999).

Birkaç gramlık bir mantar bir milyondan fazla spor oluşturur. Spor, mantarın yaşam çizgisinin başlangıç noktasıdır. Spordan çimlenen tüpçükler hif adını alırlar. Hifler mitoz bölünme ile sürekli olarak büyüyüp gelişmeye devam ederler. Hiflerin dallanıp budaklanmasıyla misel adı verilen örgüler meydana gelir (Stamets, 2000). İşte tek çekirdekli haploid sporun çimlenmesi sonucu meydana gelen misel monokaryon miseldir. Birbirleriyle genetik olarak uyumlu iki hifin füzyonu sonucu iki farklı nukleusa sahip dikaryon miseller meydana gelir ki (Lee ve ark., 2011), bunlar tekrar uygun bir evrede bazidiokarp adı verilen meyveyi yapacak ve spor oluşturacaktır (Stamets, 2000). Dikaryon miseller mikroskop altında incelendiğinde monokaryonlardan farklı olarak “clamp connection” denilen yuvarlak şekilli, kanca yapılarının varlığı keşfedilmiştir ki, uyumlu iki monokaryonun bir araya gelerek oluşturdukları clamp connection’lı yapılar içeren miseller “dikaryon” şeklinde isimlendirilmiştir (Karadeniz, 2007). Clamp connection’lar, yeni oluşacak hif hücresine nukleusun aktarımını sağlayan köprü yapılarıdır (Stamets, 2000).

Misellerin salgıları çok güçlü enzimlerdir. Dolayısıyla mantarların büyük çoğunluğu doğadaki en güçlü selüloz ve fibrin tüketicileridir. Misel gelişirken ısı ve bol miktarda karbondioksit açığa çıkar. *Pleurotus* yetişen bir buğday samanında karbon karakterli materyalin yaklaşık %50’si karbondioksit gazına dönüştürülerek

ortamdan uzaklaştırılmaktadır. Sadece %10 substrat kitlesi mantara dönüşmektedir (Kuru ağırlık). Ortalama %20 düzeyinde genel anlamda protein sentezlendiği bulunmuştur. Miselin bir substratta ortamı işgal edecek şekilde gelişmesi vejetatif büyüme olarak tanımlanır. Misel bütün substratı kapladığında geçici olarak bir duraklama devrine girer. Isı ve karbondioksit üretimi nerede ise durur. Kitle, mantara faydalı ürünleri bakımından fakirleşir. Artık bundan sonraki aşamaya sıra gelmiştir (Stamets, 2000).

Doğada ışık, nem, soğuk veya oksijen gibi faktörler bundan sonraki aşamaya geçmek üzere miseli tetiklerler. Birçok mantarda bu koşullar pek anlaşılamaz. Sadece biyolojik anahtar şeklinde tanımlanırlar. Bazıları ortamdaki besin maddelerinin tükenmiş olmasının biyolojik tetikleyici olarak etken olduğuna inanır ve o ana kadar homojen bir görüntü sergileyen misel bazı noktalarda yoğun hif yumakları oluşturmaya başlar. Bu agregatlar kısa sürede primordia denilen mantar taslaklarına dönüşürler. Primordia oluşumu mantar üreticiliğinin en rizikolu evresidir. En yüksek başarıyı elde etmek için bu devrenin çok iyi geçirilmesi lazımdır. Yani mikosfer denilen çevresel bölgede koşullar optimum olmalıdır. Primordiumlar görününce üretme odaları sise benzer bir nemle kapatılmalıdır. Burada evaporasyondan dolayı yüzeyden buharlaşan su substratın içlerinden su çekilmesine yol açar. Bu da primordiumlara besin maddesi ulaşımı demektir. Buna ek olarak çevresel ışık ve oksijen gibi faktörler primordia oluşumunun güçlenmesini sağlarlar. Bir defa ortaya çıktıktan sonra mantarın türüne de bağlı olan bir davranışla birkaç gün veya birkaç haftalık bir duraklama evresine girilir. Sonra primordiumlar birden olgunlaşıverirler. Primordiyayı asıl besleyen iletişim kanallarının rhizomorf dediğimiz kalın kök benzeri hif demetleri olduğu kabul edilir. Bazidiokarp adı verilen meyve büyüdükçe ciddi görüntü ve fonksiyon farklılıkları ortaya çıkmaya başlar. Şapka dediğimiz şemsiye kısmı spor üretecek olan lamelleri veya tüpleri koruyan bir görev üstlenir. Birçok mantar ışığa doğru bir gelişme eğilimindedir. Bazı mantarlarda meyvenin durumu ve konumu önce hava akımına (oksijene), sonra ışığa, sonra da yer çekimine bağlıdır. Lamellerin yüzeylerinde nerede ise çok düzgün ve homojen dağıtılmış halde bazidium adı verilen spor üreten hücreler belirginleşmeye başlar. Bazidium hücreleri hymenium denilen bir tabakanın döl veren bölümleridir

(Diğerleri kısır ve sadece destek hücrelerdir.). Meyveler gençken şapka genellikle kapalıdır. Daha sonra açılır. Açılışın arkasından yavaş yavaş, fakat giderek artan bir hızla spor oluşturma başlamaktadır. Bazidiumda önce dört kol meydana gelir. Sonra bunların uçlarında sporlar gelişir. Bir hücre bazidium olarak seçildiğinde içinde birbirinden ayrı iki nukleus taşıyan bir hücredir. Bu iki nukleus önce karyogami denilen bir proses ile füzyon yaparlar, yani kaynaşırlar. Bunun arkasından hemen mayoz tamamlanır ve sonuçta dört tane haploid nukleus oluşur. Bu nukleuslar uzamakta olan stigmaların içine doğru ilerler. Uca vardıklarında irileşmeye başlayan spor, çevre dokularıyla beraber gelişimini tamamlayınca sterigmal appendage denilen bir yapı ile henüz bazidiuma bağlı kalırlar. Sonra bu bölgenin kasılmasıyla spor boşluğa doğru fırlatılmış olur. Her bir bazidium dört spor yapmaktadır. Bazidiumdaki sporlar olgunlaşmaları sırasında birbirleriyle aynı yüklerde örtü taşıdıklarından birbirlerine yapışmazlar (Stamets, 2000).



Şekil 1.1. *Pleurotus ostreatus*'ta primordia oluşumu (Laboratuvar koşullarımızda üretilmiştir.)



Şekil 1.2. *Pleurotus ostreatus*'un meyvesi (Laboratuvar koşullarımızda üretilmiştir.)

1.1.3. Kültür

İlkbahar ve sonbahar mevsiminde sıklıkla görülen bu mantarların doğal habitatları geniş yapraklı sert ağaçlar olup, özellikle kavak ağacı, meşe ağacı, kızılgağaç, akçaağaç, dişbudak, kayın ağacı, huş ağacı, karaağaç, söğüt ağacı ve akkavak gibi ağaçlar örnek olarak verilebilir (Stamets, 2000).

P.ostreatus mutfaktaki kullanımı ve lezzeti, zengin mineral içeriği, tıbbi faydaları, kısa yaşam döngüsü, çeşitli tarımsal ve endüstriyel atıklarda üretilebilirliği, az talep gerektiren üretim koşullarına sahip olması sebepleriyle dünyanın farklı bölgelerinde kültürü yapılan bir mantardır. Bunun yanı sıra ileriye dönük değerli bir protein kaynağıdır. Birçok çeşitte lignoselülozik atıkları kullanabilecek yeteneğe sahip olmaları bu mantarları özel kılmaktadır. Mantarların hasatından sonra kullanılan substratlar gübre ve toprak kondisyonlayıcısı olarak bitkilerin gelişmesini sağlamak amacıyla değerlendirilebilir. Buna ek olarak, fermente olan kalıntılar hayvan yemi olarak da kullanılabilir. Ayrıca kırsal bölgelerde yaşayan insanlara, buğday, fındık ve pirinç tarımında çalışmak üzere ek gelir sağlamaktadır. Atık kağıtlardan kültür mantarı üretimi için faydalanma, önemli problemlerden bir tanesi olan katı atıkları uzaklaştırma sorununa da çözüm sağlamaktadır. Bu durumla birlikte

ekonomik kazanç sağlanırken, besleyici yiyecek kaynağı olan mantarların üretimiyle çevrenin korunması da sağlanacaktır (Yıldız ve ark., 2002).

Geniş çeşitlilikteki lignoselülozik kalıntıları parçalayabilen bu mantar (Dundar ve ark., 2009), talaş, buğday samanı, çeşitli ağaçların yapraklarında (Shah ve ark., 2004), çığit kabuğu, fıstık kabuğu, Kavak ağacı talaşı, Meşe ağacı talaşı, sıkılmış zeytin küspesi (Zervakis ve ark., 2001), pirinç samanı, Paşa ağacı talaşı, muz yaprakları, mısır koçanı, mısır kabuğu, pirinç kabuğu, fil otunda (Obodai ve ark., 2003), meşe palamudu atıklarında (Şen ve Yalçın, 2011), kahve bitkisinin artıkları, kakao ve hindistan cevizi kabuğunda (Bermudez ve ark., 2001), pamuk artıklarında (Philippoussis ve ark., 2001), kartonlarda (Mandeel ve ark., 2005) ve hatta tek kullanımlık bebek bezlerinde (Maria ve ark., 2011) bile yetiştirilebilmektedir.

P.ostreatus'un yetiştiriciliğinde, optimal gelişimi sağlamak amacıyla ürün verimini ve mantarın besinsel değerini arttırmak adına birçok çalışma yapılmıştır. Dundar ve ark. (2009) yaptıkları çalışmada darı sapı, buğday sapı, pamuk sapı ve soya sapı substratları arasında en optimal gelişimi ve besinsel değeri sağlayan substratın soya sapı olduğunu belirtmişlerdir. Mandeel ve ark. (2005) kartonlardan kağıtlara göre daha iyi verim alındığını kanıtlamışlardır. Obodai ve ark. (2003) *P.ostreatus*'un pirinç samanında en iyi gelişme gösterdiğini belirtirken, Philippoussis ve ark. (2001) pamuk atıklarının optimal substrat olduğunu, Shah ve ark. (2004) ise talaşın, buğday sapına göre daha iyi bir substrat olduğunu göstermişlerdir.



Şekil 1.3. Buğday taneleri içeren torbada *Pleurotus ostreatus*'un misel gelişimi (Laboratuvar koşullarımızda üretilmiştir.)



Şekil 1.4. Saman içeren torbada *Pleurotus ostreatus* meyvesi (Laboratuvar koşullarımızda üretilmiştir.)

1.1.4. Gelişim Parametreleri (Stamets, 2000)

1. Sıcaklık: Misel 24°C’de iyi bir gelişim gösterir. Primordia oluşumu için 10-15.6°C, meyve oluşumu için ise 10-21°C gereklidir.
2. Nem: Misel gelişimi için %85-95, primordia oluşumu için %95-100 ve meyve oluşumu için ise %85-90 oranında nem gerekir.
3. CO₂: Misel gelişiminde 5000-20000 ppm, primordia oluşumunda <1000 ppm ve meyve oluşumunda ise <1000 ppm gereklidir.
4. Taze hava: Misel gelişimi esnasında saatte bir kez, primordia oluşumu aşamasında saatte 4-8 kez ve meyve oluşum aşamasında ise saatte 4-8 kez taze hava gerekir.
5. Işık: Misel gelişim aşamasında ışığa ihtiyaç duyulmazken, primordia oluşum aşamasında 1000-1500 lüks ve meyve oluşumu aşamasında ise 1000-1500(2000) lüks ışık gereklidir.
6. Süre: Misel gelişim aşaması 12-21 gün, primordia oluşum aşaması 3-5 gün, meyve oluşumu ise 4-7 gün sürmektedir.
7. Hasat siklusu: 7-14 gün aralıklarla, 45-55 gün arasında 3-4 hasat.

1.1.5. Medikal Özellikleri

Pleurotus ostreatus nefis tadı, yüksek oranda protein içeriği, karbonhidratları, mineralleri (kalsiyum, fosfor, demir), vitaminleri (thiamin, riboflavin ve niacin) ve aynı zamanda düşük yağ içeriğiyle ticari önemi olan yenilebilen mantarlardandır. Tıbbi olarak faydalı özelliklerine örnek olarak anti-kanser aktivitesi, immünmodülatör etkileri, antiviral, antibiyotik, anti-enflamatuar ve kolesterol düşürücü aktiviteleri tüm dünyada bilinmektedir (Xia ve ark., 2011).

Alam ve ark. (2011), yaptıkları bir çalışmada hiperkolesterolemik fareleri %5 oranında toz haline getirilmiş *P.ostreatus* meyveleri ile beslediklerinde plazmadaki total kolesterol, trigliserid, düşük dansiteli lipoprotein (LDL), total lipid, fosfolipid ve yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) miktarının sırasıyla %30.18, %52.75, %59.62, %34.15, %28.89 ve %50 oranında azaldığını kanıtlamışlardır. Ayrıca bu mantarın insanlardaki lipid profili üzerinde de pozitif bir etkisi olduğu kanıtlanmıştır (Schneider ve ark., 2011).

P.ostreatus'un kansere karşı önleyici ve tedavi edici bir potansiyel etkisinin olduğu Jedivak ve Sliva (2008)'nın yaptığı bir araştırmada tespit edilmiştir. Yaptıkları çalışmada *P.ostreatus*'un epitel meme MCF-10A hücrelerini ve normal kolon FHC hücrelerinin proliferasyonunu etkilemeden, insanlardaki meme kanseri (MCF-7, MDA-MB-231) ve kolon kanserini (HT-29, HCT-116) baskıladığı kanıtlanmıştır. Wolff ve ark. (2008) yaptıkları çalışmada Ehrlich ascitic tümörlü dişi İsviçreli albino farelere, *P.ostreatus*'tan elde edilen ekstraktları intraperitoneal olarak enjekte ettikleri zaman, %70 oranında tümör inhibisyonu meydana geldiğini kanıtlamışlardır.

Jayakumar ve ark. (2011) yaptıkları bir çalışmada, *P.ostreatus*'un etanolik ekstraktının etkili antioksidan aktivitesinin olduğunu göstermişlerdir. Hidroksil ve süperoksit radikallerinin temizlenmesi, lipid peroksidasyonunun önlenmesi, ferrik iyonların gücünün azaltılması, ferruz iyonlarıyla şelat oluşumu ve DBO'nun durdurulması yardımıyla antioksidan aktivitesi göstermektedir. Ayrıca *P.ostreatus* lipid peroksidasyonunun şiddetini azaltarak ve hem enzimatik hem de enzimatik olmayan antioksidanları geliştirerek mükemmel bir in vivo antioksidan aktivitesi

göstermektedir. Xia ve ark. (2011) yaptıkları çalışmada *P.ostreatus*'un meyvelerinden antioksidan aktivitesi gösteren suda çözünebilen proteine bağlı polisakkarit (POPPS-a) izole etmişlerdir. Ayrıca Sun ve Liu (2009) yaptıkları araştırmada *P.ostreatus*'un meyvelerinden izole edilen suda çözünebilen polisakkaritin (POP) fonksiyonel yiyecekler ve ilaçların kullanımında potansiyel bir immünoestimülatör ajan olduğu ve kansere ve patojenlere karşı etkili olduğu tespit edilmiştir. Emanuel (2012) yaptığı çalışmada, *P. ostreatus*'un misel ekstraktlarından elde edilen fenoller, flavonoidler ve β -karotenlerin bazı hastalıkların önlenmesinde görev aldıklarını ve bu misel ekstraktlarının zengin bir antioksidan kaynağı olarak farmasötik tipteki ürünlerde kullanılabileceğini vurgulamaktadır.

Iwalokun ve ark. (2007) *P.ostreatus* ile yaptıkları çalışmada antimikrobiyal potansiyeli olan iki ekstrakt (petrol eteri ve aseton) elde etmişlerdir. Bu her iki ekstraktın *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Lactobacillus acidophilus* gibi Gram (+) bakterileri, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Proteus* sp., *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae* gibi Gram (-) bakterileri ve hatta *Candida* sp. ve *Saccharomyces cerevisiae* gibi mantarları da inhibe ettiğini tespit etmişlerdir. Dolayısıyla bu çalışmayla, *P.ostreatus*'un geniş spektrumlu antibakteriyel ve antifungal aktivitelere sahip bileşikler içerdiğini kanıtlamışlardır.

P.ostreatus'un misellerinden elde edilen proteoglikanların makrofaj stimülasyonu ve farelerde doğal killer hücre sitotoksitesini artırılması yoluyla immünomodülatör etkilere sahip oldukları kanıtlanmıştır. Ayrıca *P.ostreatus*'un meyvelerinden izole edilen DNA'ların farelerde doğal killer sitotoksik aktiviteyi in vitro olarak stimüle ettiği kanıtlanmıştır (Gregori ve ark., 2007).

1.2. Mantarlarda Misel Gelişimini Etkileyen Faktörler

1.2.1. Besin İhtiyacı

Mantarlar heterotrof organizmalar olduklarından, karbon kaynağı olan maddelere ihtiyaç duyarlar. Karbon kaynağı olarak bazı türlerin belirli tercihleri olsa da, genellikle glikoz en çok tercih edilen şekerlerdendir. Basit şekerlere ek olarak selüloz gibi çözülmez polisakkaritler de karbon kaynağı olarak kullanılabilir. Bu tip polisakkaritler mantarlardaki ekstraselüler enzimler tarafından ozmotrofik beslenme yoluyla basit şekerlere kadar parçalanabilirler. Tüm karbon kaynağı bileşikler (karbonhidratlar, amino asitler, yağlar, nükleik asitler) iskelet çerçevesi için gerekli olmasının yanında, metabolik aktiviteleri için gerekli enerjiyi sağlamaktadır (Chang ve ark., 1999). Adebayo-Tayo ve ark. (2011) *Pleurotus ostreatus* ile ilgili yaptıkları çalışmada kullanılan karbon kaynakları içerisinde mannitol ve rafinozdan en iyi misel veriminin ve ekzopolisakkarit üretiminin sağlandığını belirtirken, en az biyomas üretiminin rafinoz kullanıldığında gerçekleştiğini tespit etmişlerdir.

Diğer bir element nitrojen olup, fungal proteinlerin, pürinlerin, primidinlerin sentezi ve kitin (N-asetilglukozamin birimlerinden oluşan mantar hücre duvarı polisakkariti) üretimi için gerekli bir kaynaktır. Nitrojen kaynağı bileşiklere örnek olarak nitrat ve amonyum tuzları ve organik nitrojen bileşikleri verilebilir (Chang ve ark., 1999). Adebayo-Tayo ve ark. (2011) *Pleurotus ostreatus* ile ilgili yaptıkları çalışmada, misel gelişimi ve ekzopolisakkarit üretimi için optimal verimin üretiltiğinde gerçekleştiğini tespit etmişlerdir. Emanuel (2012) *P.ostreatus* ile ilgili yaptığı bir çalışmada nitrojen kaynağı olarak kullandığı mısır ekstraktı, pepton, maya ekstraktı ve amonyum sülfat içerisinde en iyi misel gelişimi sağlayan amonyum sülfat olduğunu tespit etmiştir. Ayrıca kullanılan bu dört nitrojen kaynağının mantarın antimikrobiyal aktivitesine olumlu yönde katkı sağladığını da göstermişlerdir.

Mantarların diğer bir ihtiyacı minerallerdir. Bazı mantarlar sülfürün indirgenmiş formuna ihtiyaç duyarken, bazıları da sülfat (Ör: Magnezyum sülfat) olarak kullanılmaktadır. Sülfür, sülfür içeren amino asitler (Sistein, Metionin),

vitaminler (Tiamin, Biotin) için gerekli olmasının yanında, sekonder metabolizma ürünlerinde (Ör: Penisilin) de gereklidir. Fosfor ATP’de, nükleik asitlerde ve membranların fosfolipidlerinde gerekli iken, potasyum birçok enzim sisteminde kofaktör olarak rol oynamaktadır. Birçok enzim ise magnezyum ile aktive edilebilmektedir (Chang ve ark., 1999). Adebayo-Tayo ve ark. (2011) *Pleurotus ostreatus* ile ilgili yaptıkları çalışmada misel gelişimi ve ekzopolisakkarit üretiminde glisin aminoasidinin en iyi verimi sağladığını belirtmişlerdir. Enzimlerin bileşenlerinden olan demir, çinko, manganez, bakır, molibden gibi iz elementler ise düşük konsantrasyonlarda kullanılabilirse de, mantarlar için gerekli olan genel bir ihtiyaç değildir.

Koenzim olarak görev alan ve katalitik aktiviteye sahip vitaminler az miktarda kullanılmaktadır. Vitaminler enzim aktiviteleriyle yakından ilgili olduklarından, vitamin ihtiyacı sıcaklık ve pH’dan etkilenmektedir. Birçok mantar kendi vitaminlerini sentezleyebilmelerine rağmen, bazen az miktarda sentezlemeleri optimal gelişimi sağlamakta problem yaratmaktadır. Tiamin, birkaç Basidiomycetes mantarlarının (Ör: *Lentinus edodes*, *Flammulina velutipes*) doğal eksikliği iken, biotin ise bazı Ascomycetes mantarların (*Neurospora*, *Sordaria*) doğal eksikliğidir (Chang ve ark., 1999). Adebayo-Tayo ve ark. (2011) *Pleurotus ostreatus* ile ilgili yaptıkları çalışmada askorbik asit ve folik asitin misel gelişimi ve ekzopolisakkarit üretimi üzerine stimüle edici etkilerinin yüksek olduğunu kanıtlamışlardır.

1.2.2. Fiziksel Faktörler

1.2.2.1. Sıcaklık

Sıcaklık, mantarların hayatta kalmasını ve dağılımını etkilemesinin yanında, enzim aktivitelerini de etkilediği için birçok araştırmacı ve mantar yetiştiricileri için önemli bir faktördür (Chang ve ark., 1999). Uddin ve ark. (2011) yaptıkları çalışmada 14-25°C sıcaklıkta *Pleurotus ostreatus* mantarının primordia oluşum süresinin azalmasının yanında, verdikleri meyve sayısı, hasat sayısı ve biyolojik verimliliğin de arttığını göstermişlerdir. Zervakis ve ark. (2001) yaptıkları bir

çalışmada PDA (Potato Dextrose Agar) besiyerinde yetiştirdikleri *P.ostreatus* misellerinin en iyi gelişimi 25-30°C sıcaklıkta görüldüğünü tespit etmişlerdir. Adebayo-Tayo ve ark. (2011) yaptıkları çalışmada *P.ostreatus*'un misel gelişimi için optimal sıcaklığın 25°C olduğunu kanıtlamışlardır.

1.2.2.2. Işık

Güçlü ışık misel gelişimini inhibe edebilmesine ve hatta mantarın ölümüne yol açabilmesine rağmen, birçok mantarda misel gelişimi ışığa karşı hassas değildir (Chang ve ark., 1999). Mantarın vejetatif gelişmesi karanlıkta gerçekleşirken, üreme yapılarının oluşumunda ışık gerekli olmaktadır (Sümer, 2006).

Lee ve ark. (2011) yaptıkları bir çalışmada ışığın primordia gelişimini ve dikaryon miselden meyve üretimini stimüle ettiğini kanıtlamışlardır. Işığa hızlı bir yanıt olarak, L-askorbik asit, eritro askorbik asitin glikozitleri ve onların metil bileşikleri vejetatif misellerde oluşmaktadır. Bu tür bileşiklerin indirgenmiş halleri meyve oluşumunu başlatmaktadır. Normalde bu tür bileşiklerin vejetatif miselden meyve oluşumuna geçişini sağlayıcı özellikleri olmasına rağmen, ışığın etkisiyle indirgenmeleri sonucu meyve üretim safhasına geçiş hızlanmaktadır.

1.2.2.3. Nem

Mantarların birçoğu yüksek neme ihtiyaç duyar. Birçok Basidiomycetes mantarları %95-100 oranında bir nemle maksimum gelişim göstermektedirler (Chang ve ark., 1999). Uddin ve ark. (2011) yaptıkları çalışmada *Pleurotus ostreatus* mantarının %70-80 nem bulunan bir ortamda yetiştirilmesi durumunda meyve oluşum süresi ve hasat açısından optimal verimin sağlanabileceğini belirtmişlerdir.

1.2.2.4. Havalandırma

Havanın bileşenlerinden olan oksijen ve karbondioksit, mantarlar için büyük öneme sahiptir. Oksijenli solunum yapan yenilebilen mantarlar için, oksijen oldukça

önemlidir. %0.3-0.5 oranından yüksek karbondioksit konsantrasyonu mantarların primordia oluşturmalarını inhibe ederken, %0.1-0.5 oranındaki karbondioksit konsantrasyonu misel gelişimini arttırmaktadır (Chang ve ark., 1999).

1.2.2.5. pH

Mantarların çoğu, başka şartlar elverişli olduğu takdirde, geniş bir hidrojen iyonu yoğunluğu sınırları aralığına dayanma gücü göstermektedir. Tahmin edileceği gibi, farklı türler değişik biçimde tepki vermektedir. Genel olarak, hafifçe asit bir ortam, spor çimlenmesini ve genç miselin hızlı büyümesini teşvik eder. Mantar gelişmesi bir kere başladıktan sonra, metabolizma ürünlerinin birikmesinden dolayı, ortamın pH'sı çoğunlukla değişikliğe uğratılır. Özellikle *Penicillium* ve *Aspergillus* gibi birçok mantar büyük miktarlarda oksalik asit ve sitrik asit gibi organik asitler ve glukonik asitler oluşturur. Kuvvetle asit özellikli olan metabolizma ürünlerinin yokluğu durumunda, üzerinde yaşanan ortamın pH'sındaki değişme, büyük ölçüde mevcut olan inorganik tuzların çeşidine bağlı kalır. Mesela sodyum nitrattan veya potasyum nitrattan azotun kullanılması, bazik özellikte maddelerin serbest kalmasına ve pH'nın artmasına; amonyum sülfattan azotun kullanılması ise asidik maddelerin serbest kalmasına ve pH'nın düşmesine yol açar (Sümer, 2006).

Sarker ve ark. (2007) mantarın yetiştirildiği ortamın pH düzeyinin meyve sayısı ve ağırlığını, biyolojik verimliliği ve ekonomik verimi etkilediğini belirtmişlerdir. Medeiros ve ark. (1999) ve Neto ve ark. (2009) yaptıkları çalışmada ise Basidiomycetes'lerin optimal lakkaz enzim aktivitesini pH parametresinin etkilediğini vurgulamışlardır. Adebayo-Tayo ve ark. (2011) çalışmalarında pH parametresinin *P.ostreatus'un* ekzopolisakkaritlerinin ve biyomas üretiminin üzerinde de büyük bir etkisinin olduğunu tespit etmişlerdir.

1.3. *Pseudomonas* spp.

1894'te tanımlanan *Pseudomonas* cinsi, birçok çeşitlilikteki bölgelerden türleri izole edilen ve Antartika'dan Tropik'lere kadar tüm dünyada yaygın olarak bulunan bakteri cinslerinden biridir. Bu bakteriler klinik örneklerinde, sedimanlarda, bitki, mantar ve hastalıklı hayvan örneklerinde, su, toprak, bitki rizosferi, deniz ve çöllerde bulunmaktadır (Peix ve ark., 2009).

Pseudomonas'lar Proteobacteria şubesinde yer alan, Gram negatif bakterilerdir. Bu bakteriler düz ya da kıvrık basil şeklinde olup, sporsuz ve polar kamçılıdır. Solunum metabolizmaları vardır. Ayrıca aerobik olarak glukozdan az miktarda asit üretirler. Açık tüpte asit üretip, kapalı tüpte üretememeleri, glikozdan gaz oluşturmamaları ve neredeyse daima oksidaz pozitif olmaları, onları enterik bakterilerden kolaylıkla ayırt etmemizi sağlar. Katalaz pozitiflerdir. İdentifikasyonu için gerekli biyokimyasal testlerden birkaçı olan indol, metil kırmızısı ve Voges-Proskauer testlerinde negatif sonuç vermektedirler (Madigan ve Martinko, 2010).

Tüm *Pseudomonas*'lar doğada çok yaygın olarak bulunurlar. Toprakta, yüzey sularında, okyanuslarda, bitkilerde ve az sayıda olmak koşuluyla insan ve hayvanların barsaklarında bulunurlar. İnsan sağlığı açısından önemli olan *Pseudomonas aeruginosa* türüdür. Bu bakteri bağışık sistem defekti olan kişilerde enfeksiyonlara neden olur (Kayser ve ark., 2002).

Su ve toprakta bulunan pseudomonadlar hayvan ve bitki materyallerinin oksijenli habitatlarda yıkılması sonucu oluşan çözünabilir bileşiklerinin parçalanmasından sorumlu oldukları için ekolojik olarak çok önemlidirler. Bu organizmalar pestisidler ve diğer zehirli kimyasallar gibi doğal olmayan ve ksenobiyotikler olarak adlandırılan birçok bileşiği de yıkma yeteneğine sahip olduklarından önemli biyoremediyasyon ajanlarıdır (Madigan ve Martinko, 2010). Arun ve ark. (2008) yaptıkları bir çalışmada, yağ dökülmüş topraktan izole edilen *Pseudomonas* sp. gibi bakterilerin pirenin parçalanmasında Basidiomycetes mantarlardan çok daha etkili olduklarını tespit etmişlerdir. Dolayısıyla polisiklik aromatik hidrokarbonların serbest kalmasının günden güne artması ve bunların insan

kaynaklarına ve çevreye olan tehlikeleri nedeniyle, bu bakterilerin doğal yetenekleri önem arz etmektedir.

Birçok *Pseudomonas* spp. PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) grubunda yer almaktadır (Kloepper ve ark., 1980; Liu ve ark., 1995; Ramamoorthy ve ark., 2001; Wang ve ark., 2011). PGPR grubu bakteriler bitki sağlığı ve beslenmesinde anahtar rolü oynayan, patojen olmayan, yararlı toprak rizobakterileridir (Barriuso ve ark., 2008). Yapılan birçok çalışmada özellikle *Pseudomonas putida* ve *Pseudomonas fluorescens* türlerinin bitki büyümesini hızlandırıcı etkilerinin olduğu kanıtlanmıştır (Kloepper ve ark., 1991). Ayrıca *Pseudomonas* spp. MGPR (Mushroom Growth Promoting Bacteria) grubunda yer almakta olup, birçok mantarın gelişimini hızlandırıcı özelliklere sahiptirler (Zarenejad ve ark., 2012). Floresan pseudomonadlar rizosferde sık rastlanan ve toprak kökenli hastalıkların elimine edilmesi ve kontrolünde potansiyel olarak kullanılmaları sebebiyle birçok araştırmacının odak noktası haline gelmiş bakterilerdir (Chapon ve ark., 2002).

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. pH Parametresinin Önemi ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Furlan ve ark. (1997) yedi tane yenilebilir mantar suşuyla çalışmışlardır. Petrideki misel gelişim hızlarını gözlemledikleri çalışmada, *Pleurotus ostreatus*'un pH 5, 5.6 ve 6.4'te misel gelişim hızlarının aynı olduğunu belirtirlerken, pH 4'te diğer pH'lara göre daha yavaş bir gelişimin gözlemlendiğini tespit etmişlerdir.

Medeiros ve ark. (1999) *Pleurotus ostreatus* ile ilgili yaptıkları bir çalışmada, düşük pH düzeyinin lakkaz aktivitesi üzerine pozitif bir etkisinin olduğunu ve en yüksek lakkaz enzim düzeyinin pH 6.0-6.5 arasında gerçekleştiğini tespit etmişlerdir.

Weitz ve ark. (2001) ışıldayan Basidiomycetes mantarlarla yaptıkları bir çalışmada, pH'nın gelişimi etkilediği gibi, ışıldamayı da etkilediğini tespit etmişlerdir. Gelişimlerdeki optimum pH *Armillaria mellea* ve *Omphalotus olearius* (sinonim *Pleurotus olearius*, *Clitocybe illudens*) için 3.5 iken, *Mycena citricolor* (sinonim *Omphalia flavida*) için 4 ve *Panellus (Panus) stipticus* için 3.5-4'tür. Bu dört mantar arasında pH aralığı en fazla sınırlı olan *P.stipticus* olup, pH 4.5 ve yukarısında çok zayıf gelişim göstermektedir. Dört mantar da pH 6'da çok zayıf gelişme gösterirken, pH 7'de hiç gelişim göstermemektedir. Işıldama için optimum pH, *O.olearius* için 3, *A.mellea* ve *P.stipticus* için 3.5 ve *M.citricolor* için 5-6'dır. *M.citricolor*'ın aksine pH 5.5 ve yukarısında diğer üç mantarın da ışıldaması zayıftır.

Lu-Chau ve ark. (2004) yaptıkları bir çalışmada, bir Basidiomycetes olan *Pleurotus eryngii*'deki peroksidaz genini, bir Ascomycetes mantarı olan *Emericella nidulans*'a aktarmışlardır. Eksprese olan bu geni taşıyan rekombinant *E. nidulans* kültürlerinde, peroksidaz üretiminde pH parametresinin önemli bir rolü olduğunu kanıtlamışlardır. Peroksidaz bazik pH düzeylerinde inaktive olurken, asidik pH düzeylerinde kararlı olmaktadır. Bu çalışmada, pH 6.8'de uzun bir gelişim döneminin yanında, peroksidaz düzeyinde önemli oranda artış gözlenmiştir.

Shu ve Lung (2004) bir medikal Basidiomycetes olan *Antrodia camphorata* ile yaptıkları bir çalışmada pH düzeyinin hücre gelişiminde, ekzopolisakkaritlerin üretiminde ve biyopolimerlerin moleküler ağırlıklarının dağılımında etkili olduğunu

tespit etmişlerdir. Biyomas oluşumunda optimum pH 4 civarında iken, ekzopolisakkaritler için pH 5 civarındadır. Düşük pH değerlerinde yüksek moleküler ağırlıklı ekzopolisakkaritler ve düşük verim elde edilirken, yüksek pH değerlerinde düşük moleküler ağırlıklı ekzopolisakkaritle daha yüksek verim elde edilmiştir.

Berne ve ark. (2005) *Pleurotus ostreatus* ile ilgili yaptıkları bir çalışmada pH değerinin ostreolysin isimli proteinin por oluşturmada ve konformasyonel stabilitesinde etkili olduğunu kanıtlamışlardır. Ostreolysin, por oluşumunda görev alan bir protein olup, lipidleri birbirine bağlayarak ve kolesterolca zengin lipid bölgeleriyle özel bir etkileşim içerisinde bulunmaktadır. Bu proteinin bu görevini yerine getirebilmesi için sık ve doğal halini koruması gerekmektedir. Kolesterol veya sfingomiyelinleri birbirine bağlaması için pH'nın 6.0-7.0 arasında olması ve por oluşumunu sağlamak için ise pH değerinin 7-8 arasında olması gerekmektedir.

Sarker ve ark. (2007) *Pleurotus ostreatus* ile ilgili yaptıkları çalışmada, meyva sayısının pH 5.40'a kadar olan değerlerde arttığını, 5.40'dan yükseldikçe de azaldığını tespit etmişlerdir. Biyolojik verimlilik ve ekonomik verimliliğin pH 5.04'e kadar olan değerlerde arttığını, 5.04'ten sonrasında ise azaldığını belirtmişlerdir. Yüksek ekonomik verimin en yüksek pH 5.40'ta elde edildiğini, ikinci en yüksek verimin 5.62'de elde edildiğini ve en düşük ekonomik verimin ise pH 6.51'de görüldüğünü tespit etmişlerdir. Bunun yanı sıra bu mantarın üretimi için en uygun pH düzeyinin 5.40 olduğunu saptamışlardır.

Neto ve ark. (2009) Basidiomycetes mantarların kültür besiyerinde pH düzeyini modifiye ederek, kendi gelişimleri için optimum değer haline getirdiklerini tespit etmişlerdir. pH parametresinin hem mantarın gelişiminde hem de Remazol Brilliant Blue R (RBBR) boyasının dekolorizasyonunda rol alan enzim sistemlerinde önemli rolü olduğunu belirtmişlerdir. Yaptıkları çalışmada, *Lentinus crinitus*'un en zayıf gelişimi pH 5.9'da gösterdiğini, yüksek lakkaz aktivitesinin ise pH 3.5'ta görüldüğünü tespit etmişlerdir. *Psilocybe castanella*'nın en zayıf gelişimi pH 2.7'de gösterdiğini, yüksek lakkaz aktivitesinin ise pH 4.5'ta görüldüğünü tespit etmişlerdir. RBBR'nin dekolorizasyonu pH 2.5-3.5'ta maksimum düzeyde gerçekleşirken, her iki mantarın en iyi gelişim gösterdiği pH ise 4.5'a yakındır.

Adebayo-Tayo ve ark. (2011) yaptıkları bir çalışmada, birçok mantar türünün asidik pH düzeylerinde gelişmesinin aksine, *Pleurotus ostreatus*'un pH 4.0-8.0 arasında gelişebilecek yeteneğe sahip olduğunu ve gelişimi için optimum pH değerinin 8.0 olduğunu tespit etmişlerdir.

2.2. *Pseudomonas* spp. ile Yapılan Çalışmalar

Cho ve ark. (2003) *Pleurotus ostreatus* ile ilgili yaptıkları bir çalışmada, bu mantarın bulunduğu ortama floresan pseudomonadların inoküle edilmesi sonucu, hem primordia oluşumunun teşvik edilmesi hem de basidiumların gelişiminin artırılması yönünde pozitif gelişmelerin meydana geldiğini tespit etmişlerdir. Floresan pseudomonadların “sarı leke hastalığı” (Bessette ve ark., 1985) ve “kahverengi leke hastalığı” (Munsch ve Alatosava, 2002) denilen ve mantar kalitesini düşüren ve verimini azaltan bir negatif etkiye sahip olduğu ile ilgili yapılan önceki çalışmaların aksine, Cho ve ark. test ettikleri 10 farklı *Pseudomonas putida* suşunun 7'sinin gelişimi teşvik edici özelliğe sahip olduklarını belirtmişlerdir. Sonuç olarak *Pseudomonas putida*'nın *P.ostreatus* misellerinin gelişimini ve primordia oluşumunu hızlandırıcı etkilere sahip olduğunu tespit etmişlerdir.

Cho ve ark. (2008) *Pleurotus ostreatus* ile ilgili yaptıkları bir çalışmada, spesifik bakteri popülasyonları içeren casing layerın (örtü katmanı), primordia oluşumunda ve basidiumların gelişiminde önemli bir rol oynadığını tespit etmişlerdir. En iyi hasat veriminin steril edilmemiş casing layer içeren topraktan elde ettiklerini belirtmişlerdir. Ayrıca meyva oluşumunun steril edilmemiş casing layer içerenlerde, kontrol grubuna göre 9 gün daha erken ve steril edilmiş casing layer içerenlere göre de 6 gün daha erken başladığını tespit etmişlerdir. Steril edilmeyen casing layer içerenlerde floresan *Pseudomonas* popülasyonlarının, steril edilenlere göre çok daha fazla olduğunu belirten Cho ve ark., yaptıkları çalışmanın sonucundan yola çıkarak *Pseudomonas*'ların meyva oluşumu ile yakından bir ilişki içerisinde olduklarını ve *P.ostreatus*'un gelişimini teşvik edici bir özelliğe sahip olduklarını düşünmektedirler.

Kim ve ark. (2008) *Pleurotus eryngii* ile ilgili yaptıkları bir çalışmada, *Pseudomonas* sp.'ların misel gelişimi üzerine etkisini gözlemlemişlerdir. Bakteri inoküle edilmiş petri kutularında, oluşturulan kontrol gruplarına göre misel gelişiminin yaklaşık üç katı kadar daha hızlı gerçekleştiğini tespit etmişlerdir. Ayrıca mantar kültür süresinin bakteri inoküle edilmiş olanlarda, inoküle edilmemiş olanlara göre 5 ± 2 gün daha erken sürdüğünü belirlemişlerdir.

Ebadi ve ark. (2012) *Agaricus bisporus* ile ilgili yaptıkları çalışmada, IAA (Indole-3-acetic acid) üretme yeteneği olan B₃ (*Pseudomonas fluorescense*) ve B₄ (*Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli*) suşlarının mantar verimini sırasıyla %11.7 ve %12.7 oranında arttırdıklarını tespit etmişlerdir. Ayrıca B₃ suşunun mantardaki protein miktarını arttırdığını belirtmişlerdir. Ayrıca siderofor üretme yeteneği olan B₅ (*Pseudomonas fluorescense*) suşunun demir konsantrasyonunda artışa sebep olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca fosfat çözebilen bakteri suşlarının mantardaki fosfor miktarını arttırdıklarını belirtmişlerdir. Yaptıkları çalışmaya dayanarak, yenilebilen mantarların kültüründe büyümeyi teşvik edici bakterilerin kullanılması, mantarın veriminde ve kalitesinde artışa sebep olmasının yanında, sağlıklı yiyecek üretimine de fayda sağladığı sonucuna ulaşmışlardır.

Young ve ark. (2012) *Agaricus blazei* kültürü ile ilgili yaptıkları çalışmada, hiç bakteri aşılammış kültüre (kontrol) göre, *Pseudomonas resinovorans* ve *Pseudomonas alcaliphila* suşlarının bulunduğu kültürlerde misel gelişiminin pozitif yönde etkilendiğini tespit etmişlerdir. Misel gelişimine pozitif katkılarının olmasına karşın, *Pseudomonas alcaliphila* inoküle edilmiş kültürlerde toplam taze kültür veriminde ve biyolojik verimlilikte kontrole göre önemli oranda bir azalma olduğu tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra *Pseudomonas resinovorans* inoküle edilmiş kültürlerde toplam taze hasat veriminin kontrole göre %59 oranında arttığını tespit etmişlerdir. *Pseudomonas* suşları ile birlikte *Exiguobacterium* sp., *Microbacterium esteraromaticum* ve *Arthrobacter* sp. suşlarının inoküle edildiği kültürlerde, hasat zamanının 10-27 gün arasında değişen bir süre kadar kısaldığını belirtirlerken, *Pseudomonas alcaliphila* inoküle edilmiş kültürlerdeki mantarın hasat süresinin kontrolün aksine (67 gün) 40-41 gün sürdüğünü kanıtlamışlardır.

Zarenejad ve ark. (2012) yaptıkları çalışmada 14 çeşit yenilebilir mantarın yetiştirildiği çiftliklerden aldıkları toprak örneklerinden izole ettikleri bakterilerin çoğunun *Pseudomonas* olduğunu tespit etmişlerdir. Bu bakterileri *Agaricus bisporus* yetiştirilmesi için hazırlanan casing layerlı plastik torbalara aşılamışlardır. Sonuçta, mantar üretimi sırasında *Pseudomonas*'ların sayısının arttığını ve mantarın verimi ile *Pseudomonas* sayısı arasında pozitif bir ilişki olduğunu tespit etmişlerdir. İzole edilen bakterilerin %97'si yüksek konsantrasyondaki 1-octen-3-ol varlığında gelişme gösterebildikleri ve ayrıca izole edilen bakterilerin %52'sinin mineralleri ve %36'sının organik fosfatları çözebildiklerini belirlemişlerdir. *A.bisporus* mantarının üretiminde en iyi etkiyi *Pseudomonas*'lar içinde *Pseudomonas putida* suşlarının gösterdiği ve üretimde yaklaşık %14 oranında artış sağladıkları tespit edilmiştir. Ayrıca bu çalışmada, toplam bakteri sayısının *A.bisporus* kültürü sırasında sabit kalırken, pseudomonad popülasyonunun arttığını gözlemlemişlerdir.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan Organizmalar

Araştırma materyali olan *Pleurotus ostreatus* Biyoloji bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir. Test organizması olan *Pseudomonas* sp. suşları ise Çukurova Üniversitesi kampüsündeki kırsal özellikleri ve doğal yapısı fazla değişmemiş olan maki alanlarından ve özellikle toprakta doğal olarak yetişmiş mantarların bulunduğu alanlardan alınan toprak örneklerinden izole edilmiştir. *Pseudomonas aeruginosa* suşu ise Balcalı Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir.

3.1.2. Kullanılan Besiyerleri

Tüm besiyerleri hazırlandıktan sonra, otoklavda 121°C'de 1.2 atm'de 20 dk. steril edilmiştir ve steril edildikten sonra kullanılmıştır.

3.1.2.1. *Pleurotus ostreatus* için Kullanılan Besiyerleri

3.1.2.1.(1). CYM (Complete Yeast Medium) Agar

Miselin gelişimi için, stokların hazırlanmasında ve farklı pH düzeylerindeki misel gelişiminin katı besiyerinde gözlemlenmesi amacıyla kullanılmıştır. Besiyerinin içeriği Perkins (1969)'e göre belirlenmiştir.

Bileşimi	(g/L)
Pepton	2
Maya ekstraktı	2
Glikoz	20
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5
KH ₂ PO ₄	0,46
K ₂ HPO ₄	1
Agar	20



Şekil 3.1. *Pleurotus ostreatus* misellerinin gelişiminin CYM-Agar besiyerindeki görünümü

3.1.2.1.(2). CYM (Complete Yeast Medium)

Farklı pH düzeylerindeki misel gelişiminin sıvı besiyerinde gözlemlenmesi amacıyla kullanılmıştır. Besiyerinin içeriği Perkins (1969)'e göre belirlenmiştir.

Bileşimi	(g\L)
Pepton	2
Maya ekstraktı	2
Glikoz	20
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5
KH ₂ PO ₄	0,46
K ₂ HPO ₄	1

3.1.2.2. *Pseudomonas* sp. İzolasyonu ve Gelişimi için Kullanılan Besiyerleri

3.1.2.2.(1). GSP (Glutamate Starch Phenol Red) Agar

Bu besiyeri *Pseudomonas*'ların identifikasyonunda kullanılmıştır. Bu besiyerinde *Pseudomonas* ve *Aeromonas* türleri neredeyse tamamen selektif olarak üremektedir. *Pseudomonas*'lar bu besiyerinde 2-3 mm çaplı, mor renkli, çevresi kırmızı koloniler şeklinde ürerler (Anonymous, 1978). Besiyerinin selektivitesini arttırmak için hazırlanan besiyerine 30 mg/L Sefazolin eklenmiştir.

Bileşimi	(g\L)
Sodyum-L ⁺ -Glutaminat	10
Suda çözünür nişasta	20
KH ₂ PO ₄	2
MgSO ₄	0,5
Fenol kırmızısı	0,36
Agar	12



Şekil 3.2. *Pseudomonas aeruginosa*'nın GSP-Agar besiyerindeki görünümü

3.1.2.2.(2). GSP (Glutamate Starch Phenol Red Agar Base)

Bu besiyeri bakteri izolasyonunun ilk aşamasında toprak örneklerinin inkübe edilmesi için kullanılmıştır (Anonymous, 1978).

Bileşimi	(g\L)
Sodyum-L ⁺ -Glutaminat	10
Suda çözünür nişasta	20
KH ₂ PO ₄	2
MgSO ₄	0,5
Fenol kırmızısı	0,36

3.1.2.2.(3). Nutrient Agar

Saf kültür olarak seçilmiş bakteri suşlarının stoğu amacıyla kullanılmıştır (Anonymous, 1978).

Bileşimi	(g\L)
Pepton	10
Et özütü	10
Maya özütü	5
Glukoz	1
Agar	15

3.1.2.3. Biyokimyasal Testlerde Kullanılan Besiyerleri**3.1.2.3.(1). SIM Agar**

Bakterilerin hareketliliğini belirlemede, H₂S ve indol oluşumunu belirlemede kullanılan besiyeridir (Anonymous, 1978).

Bileşimi	(g\L)
Kazein peptonu	20
Et peptonu	6,6
Amonyum Fe(III) sitrat	0,2
Na-tiyosülfat	0,2
Agar	3

3.1.2.3.(2). Clark-Lubs Besiyeri

Bakteri identifikasyonunda metil kırmızısı testi ve Voges-Proskauer (VP) deneyi için kullanılmıştır (Çetin, 1968).

Bileşimi	(g\L)
Pepton	7
Glukoz	5
K ₂ HPO ₄	5

3.1.2.3.(3). TSI (Triple Sugar Iron)

Bu besiyeri ile yapılan testle birlikte bakterinin laktoz, sükroz ve glikozu kullanıp kullanmadığı belirlenir ve ayrıca asit, gaz, H₂S oluşumu tespit edilir (Çetin, 1968).

Bileşimi	(g\L)
Pepton	20
Laktoz	10
Sükroz	10
Glikoz	1
NaCl	5
Ferro amonyum sülfat	0,2
Sodyum tiyosülfat	0,2
Agar	13
Fenol kırmızısı	0,025

3.1.2.3.(4). Simmons Sitrat Besiyeri

Karbon kaynağı olarak yalnızca sodyum sitrat bulunan besiyerinde, bakterilerin sitratı parçalayıp parçalamadıklarını belirleyen bir test için kullanılan bir besiyeridir (Çetin, 1968).

Bileşimi	(g/L)
NaCl	5
Magnezyum sülfat	0,2
Amonyum dihidrojen fosfat	1
Dipotasyum fosfat	1
Sodyum sitrat	2
Agar	20

3.1.2.3.(5). Jelatin Besiyeri

Jelatinin hidrolizini belirlemek amacıyla kullanılan bir besiyeridir (Çetin, 1968). Bileşimi modifiye edilerek kullanılmıştır.

Bileşimi	(g/L)
Pepton	1
Et özütü	1
Jelatin	350

3.1.2.3.(6). Nutrient Buyyon Besiyeri

Bakterilerin 4°C ve 42°C’de üreme davranışlarını gözlemlemek amacıyla kullanılmıştır (Anonymous, 1978).

Bileşimi	(g\L)
Pepton	10
Et özütü	10
Maya özütü	5
Glukoz	1

3.1.2.3.(7). DLA (Desoxycholat Lactose Agar)

Bakterilerin laktozu kullanıp, kullanmadıklarını belirleyen bir besiyeridir (Anonymous, 1978).

Bileşimi	(g/L)
Pepton	10
Laktoz	10
NaCl	5
Sodyum sitrat	2
Sodyum dezoksikolat	0,5
Nötral kırmızısı	0,033
Agar	12,5

3.1.2.3.(8). King's Medium B

Pseudomonas spp.'ların pigment oluşumunu gözlemek amacıyla kullanılan bir besiyeridir (Nohit ve ark., 2008). Besiyerinin içeriği modifiye edilerek kullanılmıştır.

Bileşimi	(g/L)
Kazein peptonu	10
Et peptonu	10
K ₂ HPO ₄	1,5
MgSO ₄ .7H ₂ O	1,5
Agar	12

(10 ml gliserol eklenip, 990 ml distile su ile hazırlanır.)

3.1.2.3.(9). King's Medium A

Pseudomonas spp.'ların pigment oluşumunu gözlemek amacıyla kullanılan bir besiyeridir (Nohit ve ark., 2008). Besiyerinin içeriği modifiye edilerek kullanılmıştır.

Bileşimi	(g/L)
Jelatin peptonu	20
MgCl ₂	1,4
K ₂ SO ₄	10
Agar	12,6

(10 ml gliserol eklenip 990 ml distile su ile hazırlanır.)

3.1.2.3.(10). Nitrat Besiyeri

Bu besiyeri nitrat redüksiyonu için kullanılır. Bileşimi modifiye edilerek kullanılmıştır (Çetin, 1968).

Bileşimi	(g/L)
Tripton	5
Pepton	5
KNO ₃	1
Glikoz	0,1
Agar	10

3.1.3. Kullanılan Çözeltiler**3.1.3.1. Metil Kırmızısı Çözeltisi**

Metil kırmızısının önce alkolde eritilmesi, sonra damıtık suyun ilave edilmesiyle hazırlanan bir çözeltidir (Çetin, 1968).

Bileşimi	
Metil kırmızısı	0,2 g
%95'lik etil alkol	300 mL
Distile su	200 mL

3.1.3.2. Kovacs Çözeltisi

Para-dimetil-amino-benzaldehit alkolde eritildikten sonra HCl ilavesiyle hazırlanan bir çözeltidir (Çetin, 1968).

Bileşimi

Para-dimetil-amino-benzaldehit	5 g
Amil veya butil alkol	75 mL
%37'lik HCl	25 mL

3.1.3.3. Gram'ın İyot Çözeltisi

Gram boyama yapılırken kullanılan, mordan özelliği olan bir çözeltidir. İyot ve potasyum iyodürün bir havanda iyice ezilmesinden sonra, azar azar su ilave edilerek eritmeye çalışılır ve bir şişeye aktarılır. Hepsi eritilince damıtık su 300 mL'e tamamlanır (Çetin, 1968).

Bileşimi

İyot	1 g
Potasyum iyodür	2 g
Damıtık su	300 mL

3.1.3.4. Kristal Viyole Çözeltisi

Gram boyama yapılırken kullanılan ilk boyadır (Çetin, 1968).

Bileşimi

Kristal viyole	0,5 g
Damıtık su	100 mL

3.1.3.5. Karbol Füksin Çözeltisi

Gram boyama yapılırken kullanılan ikinci boyadır (Çetin, 1968).

Bileşimi

Karbol füksin	1 g
Damıtık su	19 mL

3.2. Metod

3.2.1. *Pleurotus ostreatus* Misellerinin Farklı pH Düzeylerinde Gelişiminin Gözlemlenmesi

Farklı pH düzeylerindeki misel gelişimlerinin gözlemlenmesi için CYM-Agar ve CYM sıvı besiyeri kullanılmıştır. *P.ostreatus* misellerinin gelişimi için 30°C'lik etüvde inkübasyon yapılmıştır. Besiyerinin pH düzeyi ayarlanırken %37'lik HCl ve NaOH çözeltileri kullanılmıştır.

3.2.1.1. Farklı pH Düzeylerinin Misel Gelişimine Etkisinin Sıvı CYM Besiyerinde Gözlemlenmesi

Hazırlanan CYM besiyerinden 100'er ml, 14 tane 250 ml'lik erlenlere konur. Her birinin pH düzeyi pH metre ile 1'den 14'e kadar olacak şekilde ayarlanır. Otoklavda sterilizasyon işleminden sonra, erlenlerin ısısının düşmesi beklenir. Bistüri yardımıyla eşit büyüklükte kesilen ve kenar uzunluğu 1 cm olan misel parçaları, erlenlere aktararak 30°C'de yaklaşık 15 gün boyunca gelişmeye bırakılır. Misel erlendeki besiyerinin yüzeyinin tamamını kapladıktan sonra, meydana gelen gelişim farklılıkları not edilir. Ayrıca her bir erlendeki besiyerinin pH düzeyinin gelişimden sonraki durumu ölçülür ve ilk baştaki pH düzeyi ile karşılaştırılır. Miseller alınarak o andaki ağırlıkları (yaş ağırlık) hesaplanır. 1 gün oda sıcaklığında

bekletilen misellerin ağırlıkları ise oda kuru ağırlık olarak hesaplanır. 1 günde kaybettikleri su miktarı % olarak hesaplanıp kaydedilmiştir.



Şekil 3.3. Farklı pH düzeylerindeki sıvı CYM besiyerlerinde gelişen misellerin görünümü

3.2.1.2. Farklı pH Düzeylerinin Misel Gelişimine Etkisinin Katı CYM Besiyerinde Gözlemlenmesi

CYM-Agar besiyeri için agar katılmadan önce pH düzeyi ayarlanır. 3'ten 14'e kadar değişen pH aralıklarında ayarlanmış erlenlerdeki CYM besi yerleri, otoklavda steril edilir. Otoklavdan çıkarılan besiyerleri petri kutularına dökülür. Bistüri yardımıyla eşit büyüklükte kesilen ve kenar uzunluğu 1 cm olan misel parçaları petri kutularının her birine yerleştirilir ve etüvde 30°C'de gelişmeye bırakılır. Ortalama değerler elde edilmesi için her bir pH düzeyinden 5 petri kutusu CYM-Agar besiyeri hazırlanmış ve 5 petri kutusundaki misel gelişimlerinin günlük hızları ölçülerek ortalama değerleri hesaplanmıştır. Farklı pH düzeylerindeki petri kutularında gelişen misellerin gelişim hızları günlük olarak ölçülüp kaydedilmiş ve gelişim durumları karşılaştırılmıştır.

3.2.2. Bakteri İzolasyonu

Kampüsün çeşitli yerlerinden alınan toprak örnekleri saf su ile karıştırılıp, bir gün boyunca toprağın dibe çökmesi için bekletilmiştir. Ertesi gün üst kısımdan alınan sıvı, örnek olarak kullanılmıştır. Farklı yerlerden hazırlanan toprak örneklerinden 100'er µL alınarak 5 mL'lik sıvı GSP besiyeri içeren tüplere konulmuştur. 48 saat

boyunca 37°C’de etüvde inkübasyona bırakılan tüpler içerisinde, besiyerinin renginin kırmızı-mora dönüştüğü tüpler seçilmiştir. GSP besiyerinde kırmızı-mor renk veren toprak örnekleri sulandırıldıktan sonra GSP-Agar içeren petrilere yayma metoduyla ekilmiştir. Tek düşen kırmızı-mor renkli koloniler seçilmiştir. Bu koloniler daha sonra kullanılmak üzere Nutrient Agar’lı eğik katı içeren tüplere ekilmiştir.

3.2.3. Bakterilerin İdentifikasyonu İçin Yapılan Testler

3.2.3.1. Gram Boyama

Gram boyama yapılmadan önce, ortasına bir damla su konulan lamın üzerine öze yardımıyla bakteri yayılır ve havada kurumaya bırakılır. Alevden geçirilerek tespit edilmiş preparasyonların üzerine ilk önce kristal viyole konur ve 2 dakika beklenir. Daha sonra boya dökülür ve Gram’ın iyot çözeltisi konur. 2 dakika bekletildikten sonra alkolle, ara sıra su ile yıkanarak, preparasyondan mor boya akmayıncaya kadar muamele edilir. Preparasyon tekrar su ile yıkanır. Zıt boya olarak karbol füksin ile 30 saniye boyanır ve tekrardan su ile yıkanır. Lamlar kurutma kağıtları arasında kurulanır. Boyamanın sonucunda Gram pozitif bakteriler mor, Gram negatif bakteriler kırmızı boyanırlar (Çetin, 1968).

Saf kültür halinde olan bakteri suşlarına Gram boyama yapılmıştır ve Gram negatif basil bakteriler seçilmiştir.

3.2.3.2. Katalaz testi

Bazı bakterilerin dehidrogenaze denilen solunum enzimleri vardır. Bu enzimlerin etkisi ile ilgili olarak oksijenin bir hidrojen akseptörü gibi iş görmesi ile hidrojen peroksit (H_2O_2) teşekkül eder. Katalaz enzimi hidrojen peroksiti parçalayan bir enzimdir. Zorunlu aerob bakterilerde en fazla olmak üzere bakterilerin çoğunda bu enzim vardır. Zorunlu anaerob bakterilerde bu enzim bulunmaz.

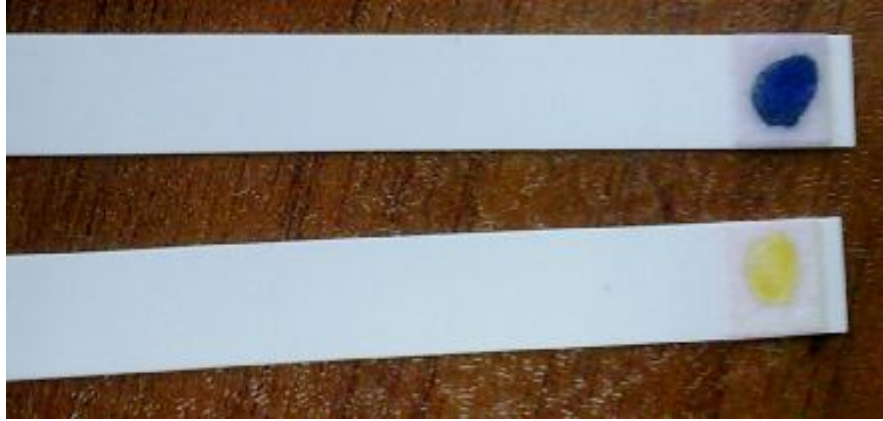
Katalaz deneyi için bakterinin 37°C'deki 24 saatlik kültürü kullanılır. Hidrojen peroksitin %30'luk çözeltisinden bir damla üreyen yüzeye akıtılır. Süratle gaz kabarcıklarının meydana gelmesi bu reaksiyonun pozitif olduğunu gösterir. Herhangi bir gaz kabarcığının oluşmaması negatif sonucu gösterir (Çetin, 1968).



Şekil 3.4. %30'luk H_2O_2 damlatılması sonucu kabarcık oluşturan katalaz pozitif bakterilerin görünümü

3.2.3.3. Oksidaz Testi

Sitokrom oksidaz demir porfirin grubundaki enzimlerden biri olup, doğada yaygın olarak bulunmaktadır. Bu enzim indirgenmiş sitokrom-C'yi okside eder ve böylelikle kendisini indirgenmiş ve inaktif forma dönüştürür. Elektronların moleküler oksijene transferi sayesinde, indirgenmiş sitokrom oksidaz tekrar değişime uğrar ve aktif forma dönüşür. Moleküler oksijenin varlığında sitokrom oksidaz (sitokrom-C sistem), organik maddelerin tüm gruplarını indirgeyebilmektedir. Bunlara örnek olarak, indofenol mavisi molekülünün yoğunlaşmasının oluşumu ile ilgili olan NaDi ayırıcı (1-naphtol+dimetilparafenilen diamin) verilebilir (Çetin, 1968). Bu test oxidase strip kit (Merck, 1.13300.0001) ile yapılmıştır. Bakterilerin 24 saatlik kültürleri kullanılmıştır ve bakteriler öze yardımı ile striplerin ucundaki reaksiyon zonuna sürülmüştür. 20-60 sn. sonrasında, oksidaz pozitif bakteriler mavi rengin meydana gelmesi ile anlaşılırken, oksidaz negatif bakteriler sarı rengin meydana gelmesiyle tespit edilmektedir.



Şekil 3.5. Oksidaz pozitif (koyu mavi renk) ve oksidaz negatif (sarı renk) bakterilerin görünümü

3.2.3.4. Jelatin Hidrolizi Testi

Bu test mikroorganizmaların, jelatini hidrolize eden jelatinaz enzim sentez yeteneğini ölçmede kullanılır. Jelatinli besiyeri yüksek tabakalı jeloz şeklinde tüplere hazırlanır ve bakterilerin 24 saatlik kültürlerinden iğne özeyle batırma kültür şeklinde ekim yapılır. Tüpler 37°C de 15 gün kadar inkübe edilir. Bu süre sonunda kontrollerle birlikte buzdolabına kaldırılır. Jelatinin hidrolize edildiği durumlarda, buzdolabından çıkarılınca, jelatinli ortamın sıvı halinde olduğu ve katılaşmadığı görülür. Bu, pozitif sonuç olarak değerlendirilir. Negatif durumlarda tüpteki sıvı jelatinli besiyeri katılaşır (Çetin, 1968).

3.2.3.5. Metil Kırmızısı Testi

Bu test, bakterilerin glikozu fermente ederek organik asit oluşturma yeteneğini saptamak amacıyla kullanılmıştır. Bu deney için tüpteki 5 mL Clark-Lubs besiyerine bakterinin 24 saatlik buyyon kültüründen bir öze ekilir ve 37°C'de 2-4 gün bekletilir. Kültüre, 5 damla turuncu renkteki metil kırmızısı ayracı damlatılır ve tüp çalkalanır. Kırmızı renk pozitif, sarı renk negatif reaksiyonu gösterir (Çetin, 1968).

3.2.3.6. Sitrat Testi

Bakterilerin sitratı parçalayıp, parçalayamadıklarını gösteren bir testtir. Bakterilerin 24 saatlik kültürleri, 5 ml'lik eğik katı şeklinde hazırlanan Simmon's sitrat besiyeri içeren tüplere öze ile ekilir. Tüpler 37°C'de 3-4 gün bekletilir. Bakteri sitratı kullanıyorsa indikatör mavi renk alır (Çetin, 1968).



Şekil 3.6. Sitrat pozitif (mavi renk) ve sitrat negatif (yeşil renk) bakterilerin görünümü

3.2.3.7. SIM Testi

5 ml'lik yumuşak agarlı besiyeri içeren (SIM agar) tüplere, bakterilerin 24 saatlik kültürleri iğne öze ile batırma şeklinde ekilir. Tüpler 37°C'de 1-4 gün inkübe edilir (Anonymous, 1978).

Hareketsiz bakteriler yalnız iğnenin batırıldığı çizgi boyunca ürer, besiyerinin diğer kısımları şeffaf kalır. Hareketli bakteri ise bu çizgiden besiyerinin içine doğru yayılarak ürer. Üremeden dolayı besiyeri hafif opak olur ve bunu gözle görmek mümkündür.

Bazı bakteriler sistin ve diğer kükürt ihtiva eden bileşiklerden bir kısmını kükürtlü hidrojen teşkil ederek parçalayabilirler. H₂S oluşturan bakterilerde, bakterilerin ürediği bölgede koyu siyah renk meydana gelir.

Bazı bakteriler triptofanı parçalayarak indol teşkil ederler. Triptofan indol halkası ihtiva eden ve kullanılan peptonlarda hemen daima bulunan bir aminoasittir. İndol oluşumunu test etmek için, 37°C’de bakterilerin ürediği tüplere birkaç damla Kovac’s ayracı ilave edilir ve tüpler çalkalanır. Koyu kırmızı bir rengin husulü indol mevcudiyetini gösterir (Çetin, 1968).

3.2.3.8. TSI Deneyi

Bu deney için 5 ml eğik katı TSI besiyeri içeren tüpler kullanılır. Bakterilerin 24 saatlik kültürlerinden iğne öze ile alınır ve tüpün dip kısmına bir iki defa batırılarak ekim yapıldıktan sonra, eğri yüzeyine de yayma ekim yapılır. Tüpler 37°C’de 24 saat bırakılarak bakterinin asit, gaz ve H₂S teşkili incelenir. Gaz teşkil ederek veya etmeyerek laktoz ve sakkarozdan asit teşkil eden bakteriler ürediğinde besiyerinin her tarafı sarı renk alır. Gaz teşekkül etmişse besiyeri parçalanır. Besiyerinde bulunan üç şekere de tesir etmeyen bakteri ürediğinde besiyerinin her tarafı kırmızı kalır. Böyle bir bakteri *Pseudomonas* olabilir. Gaz teşkil ederek ya da etmeyerek dip kısmı sarı, eğri yüzeyi kırmızı yapan bakterinin daha fazla incelenmesi lazımdır. Besiyerinde H₂S teşkil eden bakteriler, jelozun rengini siyahlaştırır. Fazla H₂S meydana geldiğinde jelozun her tarafı siyah renk alır (Çetin, 1968).



Şekil 3.7. TSI besiyerinde hem üst kısımda hem de dip kısımda kırmızı renk veren bakterilerle, besiyerinde renk değişiminin gerçekleşmediği bakterilerin görünümü

3.2.3.9. DLA Testi

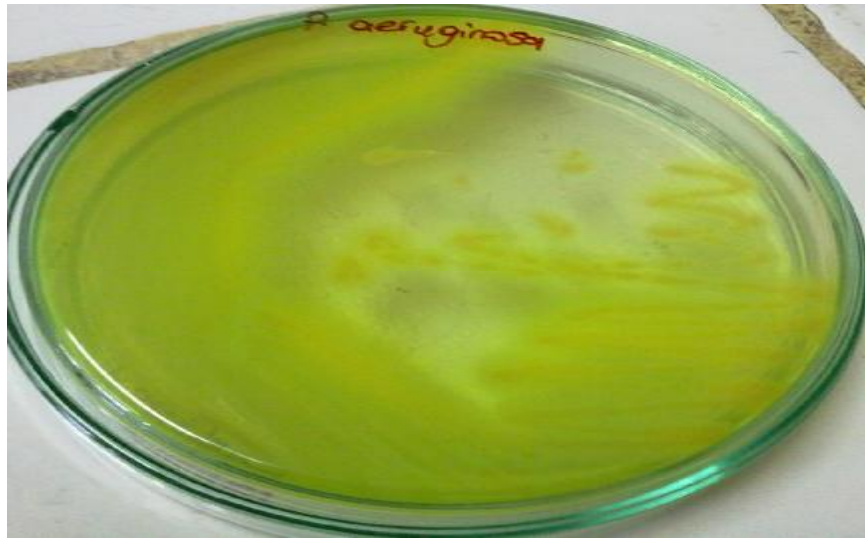
DLA besiyeri, Koliform bakterilerin izolasyonunda ve identifikasyonunda kullanılmaya yarayan selektif bir besiyeridir. Bu besiyeri Gram pozitif florayı yeterli düzeyde inhibe etmekle beraber, Koliform bakterilerin fazla olumsuz etkilenmeden gelişmelerine müsaade edecek düzeyde düşük dezoksikolat ve sitrat içermektedir. Laktozun parçalanıp ortamın asitleştiğini göstermek üzere, bir yandan pH indikatörü olan nötral kırmızının rengi pembeye dönerken, diğer yandan koloninin çevresi presipite olmuş safra asitleri ile çevrilir. DLA besiyeri içeren petrilere, bakterilerin 24 saatlik kültürlerinden öze kullanılarak azaltma yöntemi ile ekim yapılır ve 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılır. Değerlendirmede laktoz negatif koloniler renksiz bir şekilde görülürler. Laktoz negatif bakterilere *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus* veya *Pseudomonas* örnektir (Anonymous, 1978).

3.2.3.10. 42°C ve 4°C’de Üreme Testi

Bakterilerin 24 saatlik kültürlerinden öze ile alınıp sıvı Nutrient besi yerlerine ekilir. Tüpler 42°C’de ve 4°C’de 1 gün inkübe edilir ve üreme olup olmadığı kontrol edilir. *Pseudomonas aeruginosa* 42°C’de üreyebiliyorken, 4°C’de üreyememektedir. *Pseudomonas putida* ve *Pseudomonas fluorescens* 42°C’de üreyemezken, 4°C’de üreyebilmektedirler (Blazevic ve ark., 1973; Ian, 1969).

3.2.3.11. Pigment Testi

Bakterilerin 24 saatlik kültürlerinden öze ile alınıp, petri kutusunda azaltma yöntemi ile hem King’s Medium B hem de King’s Medium A içeren petri kutularına ekim yapılır. Petriler oda sıcaklığında inkübe edilir. King’s Medium A’da kolonilerin etrafında mavi-yeşil renkte bir zon oluşumu pyocyanin pigmentinin varlığını gösterirken, kırmızı-koyu kahverenginde bir zon oluşumu pyorubin pigmentinin varlığını gösterir. King’s Medium B’de kolonilerin etrafında sarımsı yeşil renkte bir zon oluşumu fluorescein pigmentinin varlığını göstermektedir (Nohit ve ark., 2008).

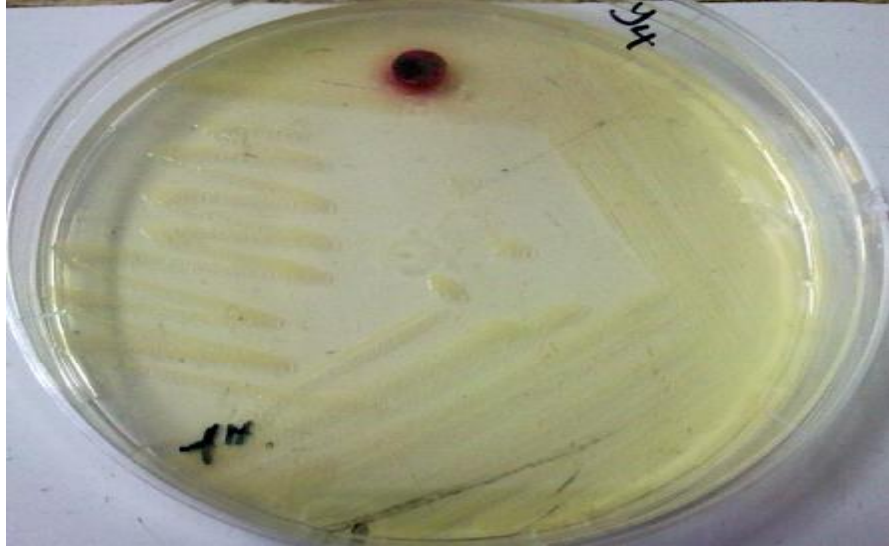


Şekil 3.8. King’s Medium B’de *Pseudomonas aeruginosa*’nın fluorescein pigmentinin görünümü

3.2.3.12. Nitrat Testi

Nitrat redüksiyonu deyince bakterilerin etkisi ile nitratların kaybolması ve daha az okside olmuş bazı maddelerin husulü olaylarının hepsi anlaşılır. Nitrat, hidrojen akseptörü gibi vazife görerek üremeyi destekler. Bakterilerin çoğu redüksiyonu nitrit devresinden öteye götüremez. Bazı şartlarda redüksiyon amonyak devresine, hatta bazen molekül azota kadar ilerleyebilir (Çetin, 1968).

Nitrat diskleri organizmanın nitratı indirgeme yeteneğini belirlemek amacıyla kullanılır. Bu test, uygun elektron donörü varlığında nitratın nitrite redüksiyonunda görev alan nitrat redüktaz enziminin belirlenmesini içerir. Bu enzimin varlığı, uygun kolorimetrik ayıraç ile belirlenir. Nitratın, nitrite ve nitrojen gazına indirgenmesi, genellikle organizmanın oksijeni nitrattan elde ettiği anaerobik koşullarda gerçekleşir. Fakültatif anaerobların çoğu oksijen yokluğunda nitratı indirgemektedirler. Enterobacteriaceae'lerin çoğu nitratı indirgerler. Bu aneorobik solunum, inorganik maddelerin enerji üretimi için elektron akseptörü olarak oksijen sağladığı bir oksidasyon sürecidir. Nitrat indirgenmesinin son ürün ihtimalleri, bakteri türlerine bağlıdır. En çok bilinen son ürün, nitritin indirgenmesi sonucu oluşan moleküler nitrojendir. Çevresel koşullara bağlı olarak, bu ürünler genellikle daha ileriye oksitlenmez veya hücre metabolizmasında birikmezler, fakat çevresindeki ortama salgılanırlar. Bu test nitrat disk kiti (Fluka, 51138) ile yapılmıştır. Bakterilerin 24 saatlik kültürlerinden öze ile alınıp, petrilerde hazırlanmış nitrat besiyerine azaltma yöntemi ile ekilir ve 37°C'de inkübe edilir. 1 günlük inkübasyon süresinden sonra, üreyen kolonilerin üzerine diskler yerleştirilir. Nitrat pozitif bakteriler pembe-kırmızı rengin meydana gelmesiyle anlaşılır.



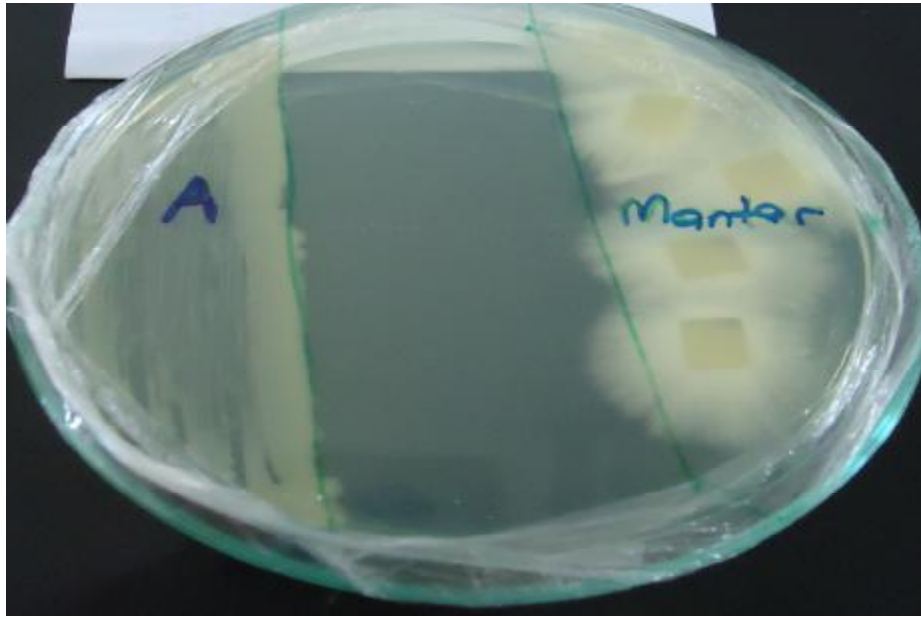
Şekil 3.9. Pembe-kırmızı renk veren nitrat pozitif bakterilerin görünümü

3.2.3.13. Voges-Proskauer Testi

Bu deney karbonhidrat metabolizmasının ara ürünü olan asetil-metilkarbinolün husule gelmesi esasına dayanır. Bu madde KOH ve hava mevcudiyetinde diasetile okside olur. Diasetil ise α -naftol ve peptonda bulunan bir amino asit olan arginin mevcudiyetinde 2-4 saat zarfında karışıma kırmızı bir renk verir. Ayıraçlar ilave edildikten sonra sonuçları okumak için 4 saatten fazla beklenmemelidir. Bakterinin 24 saatlik buyyon kültüründen bir öze, tüpteki 5 mL Clark Lups besiyerine ekilir. 37°C’de 2-4 gün bekletilir. Daha sonra bu kültüre ayıraçlardan damlatılır. 1 mL kültüre %5’lik α -naftol çözeltisinden 0,6 mL ve %40’lık KOH çözeltisinden 0,2 mL ilave edilir, iyice çalkalanır. 37°C’lik etüve konan tüplerde 2-5 saatte sonuç okunur. Bazen 5-10 dakikada bile yüzeyde kırmızı renk husule gelmeye başlar ve gittikçe besiyerine yayılır. Besiyeri pembe-kırmızı bir renk alır (Çetin,1968).

3.2.4 *Pseudomonas* suşlarının *Pleurotus ostreatus*'un Misel Gelişimi Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi

Seçilen 23 tane suş, *Pleurotus ostreatus* miselleriyle birlikte, her iki tip organizmanın da üreyebildiği CYM-Agar besi yerine şekil 3.10'da görüldüğü gibi bir tarafta bakteriler, diğer tarafta mantar olmak üzere petri kutularına ekilmiştir. İki petri kutusuna da sadece mantar ekilmiştir ve gelişim durumu kontrol amaçlı kullanılmıştır. Petri kutuları 30°C'de etüvde gelişmeye bırakılmıştır. Böylece hem bakteriler ile birlikte (temas halinde) gelişen misel hem de bakteri ile direkt temas halinde olmayan bölgelerde gelişen misellerin gelişimleri kontrol edilmiştir.



Şekil 3.10. CYM-Agar besiyerine bakteri ve mantarın karşılıklı olarak ekilmesi

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Bulgular

4.1.1. *Pleurotus ostreatus*'un Farklı pH Düzeylerindeki Misel Gelişimi

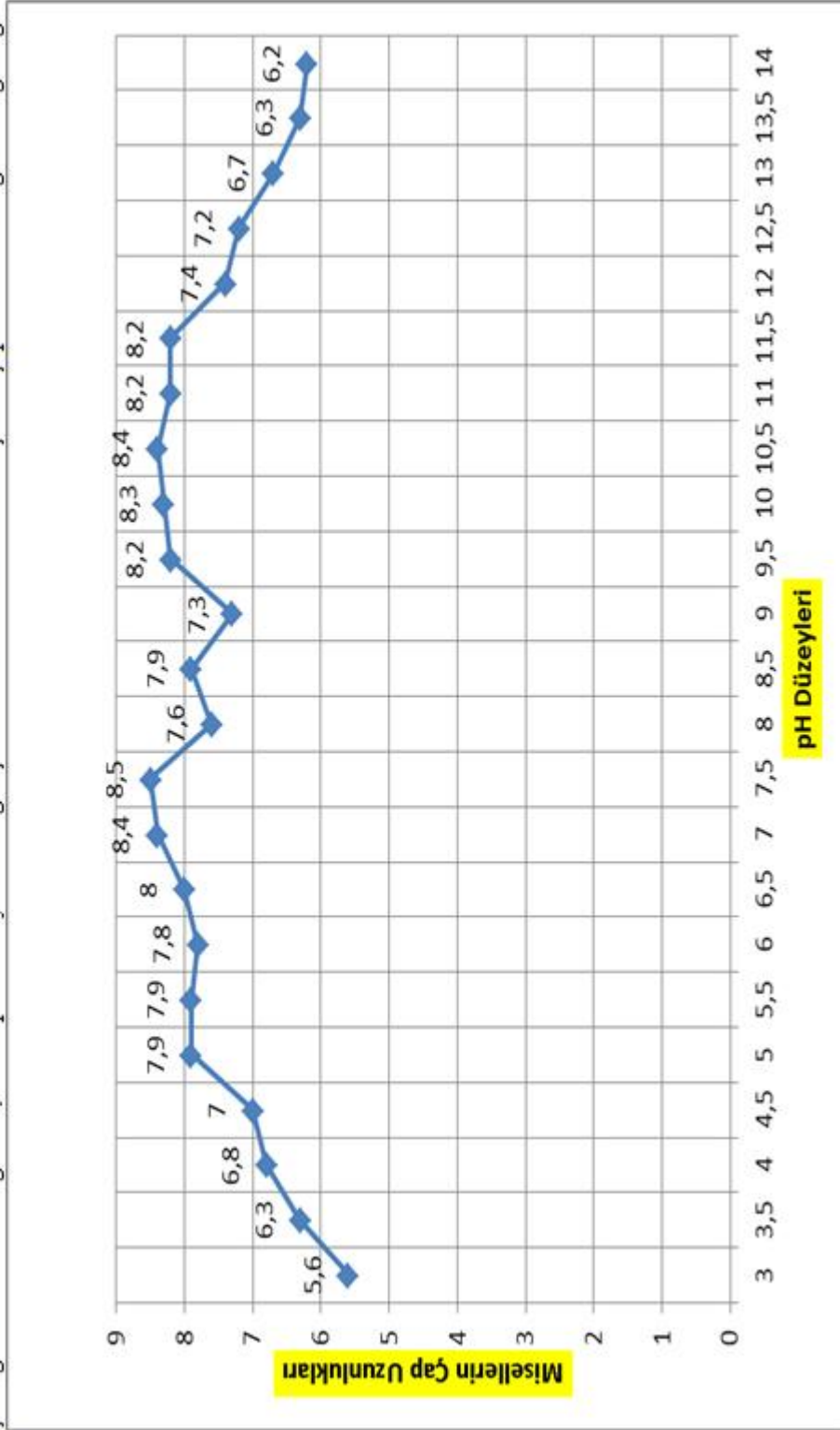
4.1.1.1. *Pleurotus ostreatus*'un Katı Besiyerinde Farklı pH'lardaki Misel Gelişiminin Belirlenmesi

3'ten 14'e kadar değişen pH düzeylerinde ayarlanan ve petri kutularına dökülen CYM-Agar besiyerlerinde gelişen misellerin 2., 3., 4., 7., 8., 9., 10., 11. ve 14. gündeki gelişimleri kontrol edilip, misel çapları ölçülmüştür. Ayrıca her bir pH düzeyinde gelişen misellerin petri kutusundaki besiyerinin yüzeyini tamamen kapladığı süre de not edilmiştir ve sonuçlar tablo halinde düzenlenmiştir (Çizelge 4.1.).

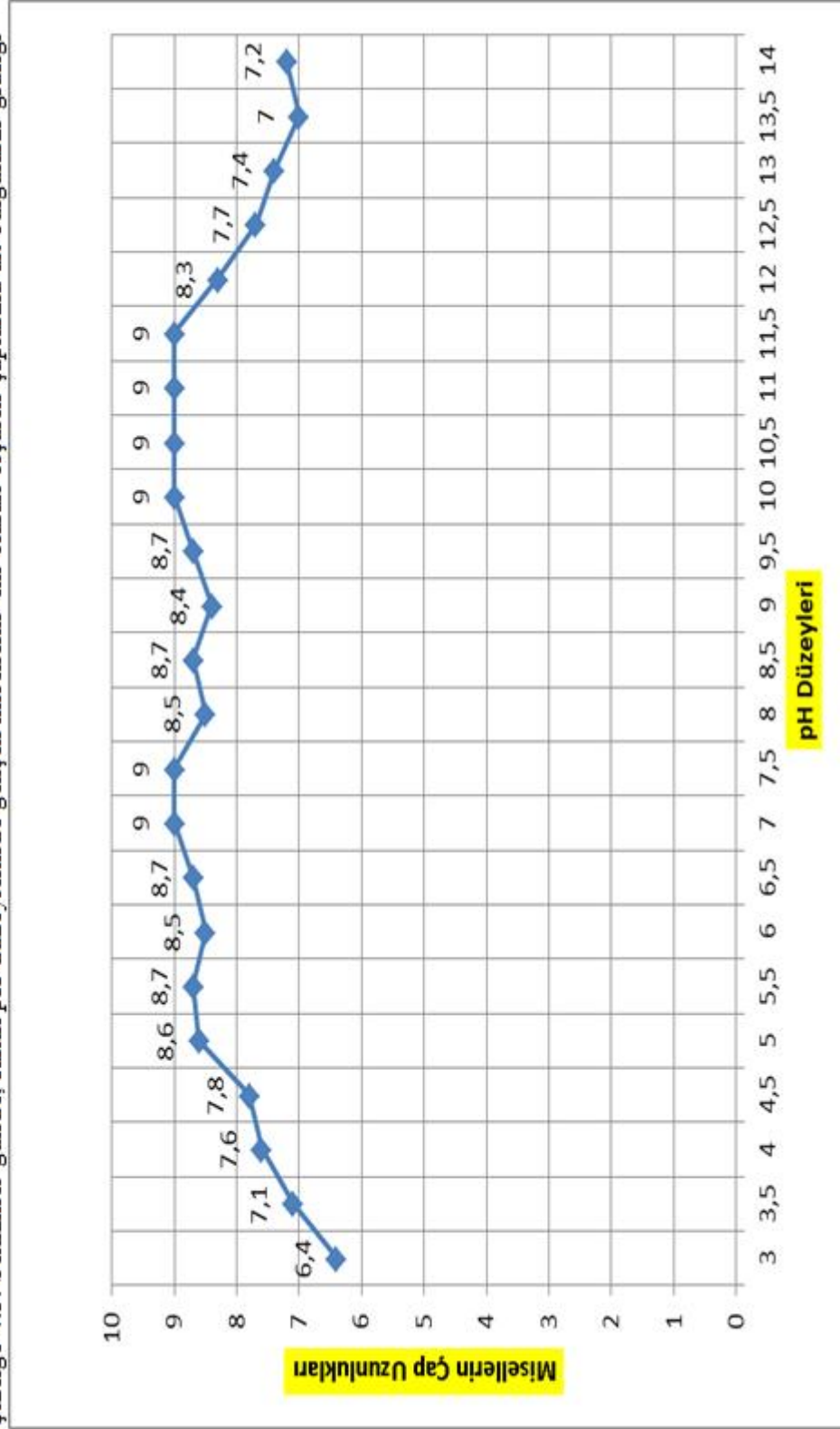
Çizelge 4.1. *Pleurotus ostreatus*'un CYM-Agar besiyerinde farklı pH düzeylerindeki günlük misel gelişim çaplarının ölçüm sonuçları (T.K.: Tamamen kapladı)

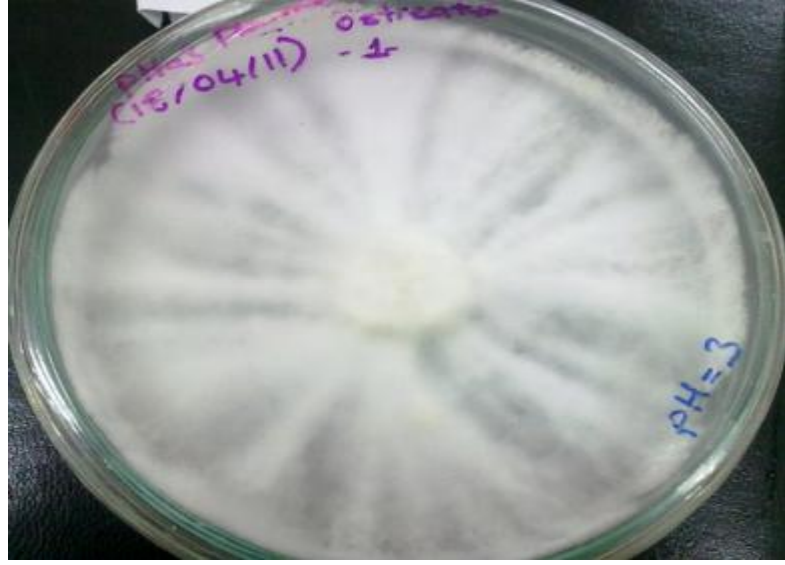
pH	2. gün	3. gün	4. gün	7. gün	8. gün	9. gün	10. gün	11. gün	14. gün
3	1,8 cm	2,2 cm	2,9 cm	5,6 cm	6,4 cm	7,2 cm	8,0 cm	8,4 cm	T.K.
3.5	1,9 cm	2,8 cm	3,7 cm	6,3 cm	7,1 cm	7,8 cm	8,5 cm	T.K.	-
4	2,1 cm	3,0 cm	4,2 cm	6,8 cm	7,6 cm	8,3 cm	8,6 cm	T.K.	-
4.5	2,1 cm	3,2 cm	4,1 cm	7,0 cm	7,8 cm	8,5 cm	T.K.	-	-
5	2,1 cm	2,8 cm	4,1 cm	7,9 cm	8,6 cm	T.K.	-	-	-
5.5	2,2 cm	3,3 cm	4,1 cm	7,9 cm	8,7 cm	T.K.	-	-	-
6	2,2 cm	3,2 cm	3,9 cm	7,8 cm	8,5 cm	T.K.	-	-	-
6.5	2,2 cm	3,5 cm	4,6 cm	8,0 cm	8,7 cm	T.K.	-	-	-
7	2,3 cm	3,7 cm	5,1 cm	8,4 cm	T.K.	-	-	-	-
7.5	2,3 cm	3,8 cm	5,2 cm	8,5 cm	T.K.	-	-	-	-
8	2,1 cm	3,0 cm	4,2 cm	7,6 cm	8,5 cm	T.K.	-	-	-
8.5	2,1 cm	3,3 cm	4,7 cm	7,9 cm	8,7 cm	T.K.	-	-	-
9	2,1 cm	2,9 cm	3,9 cm	7,3 cm	8,4 cm	T.K.	-	-	-
9.5	2,2 cm	3,3 cm	4,6 cm	8,2 cm	8,7 cm	T.K.	-	-	-
10	2,2 cm	3,5 cm	4,8 cm	8,3 cm	T.K.	-	-	-	-
10.5	2,3 cm	3,6 cm	4,9 cm	8,4 cm	T.K.	-	-	-	-
11	2,2 cm	3,4 cm	4,7 cm	8,2 cm	T.K.	-	-	-	-
11.5	2,2 cm	3,3 cm	4,6 cm	8,2 cm	T.K.	-	-	-	-
12	2,2 cm	3,2 cm	4,4 cm	7,4 cm	8,3 cm	T.K.	-	-	-
12.5	2,2 cm	3,4 cm	4,4 cm	7,2 cm	7,7 cm	8,3 cm	T.K.	-	-
13	2,2 cm	3,1 cm	4,0 cm	6,7 cm	7,4 cm	8,2 cm	T.K.	-	-
13.5	2,2 cm	3,1 cm	3,8 cm	6,3 cm	7,0 cm	7,8 cm	8,5 cm	T.K.	-
14	1,9 cm	2,8 cm	3,9 cm	6,2 cm	7,2 cm	7,8 cm	8,4 cm	T.K.	-

Çizelge 4.2. Yedinci günde, farklı pH düzeylerinde gelişen misellerin cm olarak ölçülen çaplarına ait bulguların grafiği

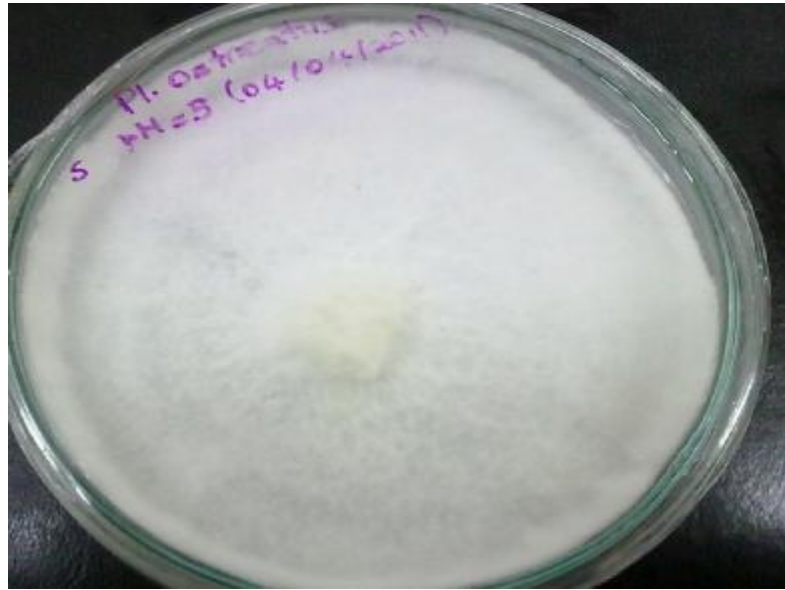


Çizelge 4.3. Sekizinci günde, farklı pH düzeylerinde gelişen misellerin cm olarak ölçülen çaplarına ait bulguların grafiği

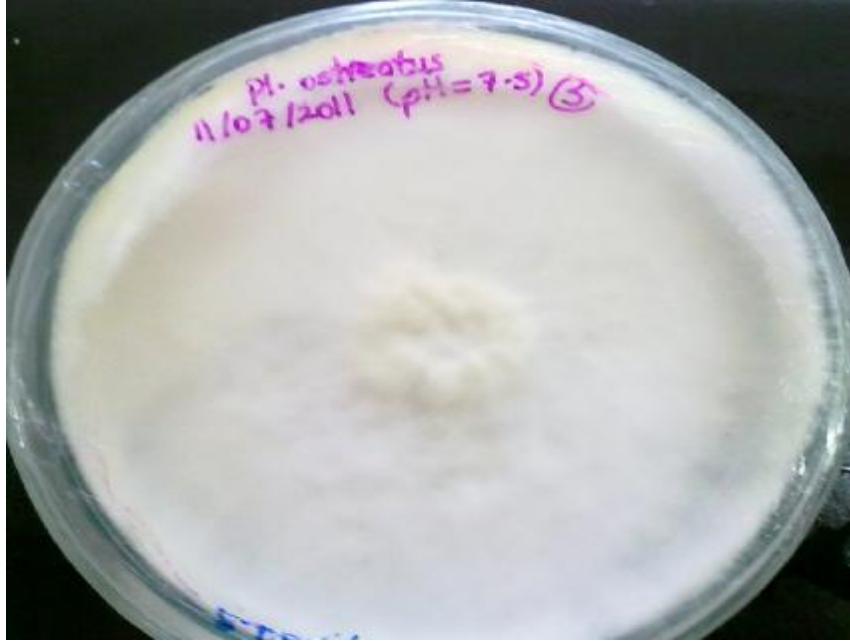




Şekil 4.1. pH 3'te *P.ostreatus* misellerinin 14. günde petri kutusunda gösterdiği gelişim



Şekil 4.2. pH 5'te *P.ostreatus* misellerinin 9. günde petri kutusunda gösterdiği gelişim



şekil 4.3. pH 7.5'te *P.ostreatus* misellerinin 8. günde petri kutusunda gösterdiği gelişim



şekil 4.4. pH 10'da *P.ostreatus* misellerinin 8. günde petri kutusunda gösterdiği gelişim



Şekil 4.5. pH 12’de *P.ostreatus* misellerinin 9. günde petri kutusunda gösterdiği gelişim



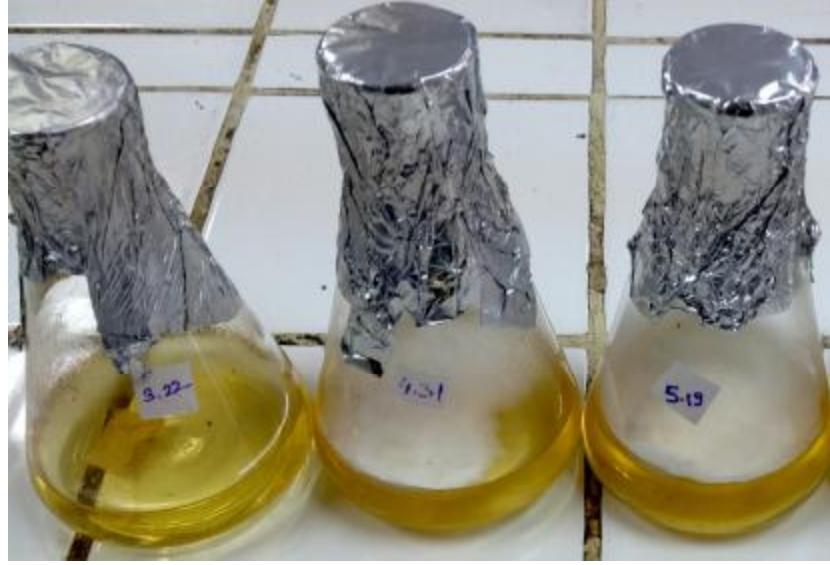
Şekil 4.6. pH 14’de *P.ostreatus* misellerinin 11. günde petri kutusunda gösterdiği gelişim

4.1.1.2 *Pleurotus ostreatus*'un Sıvı Besiyesinde Farklı pH'lardaki Misel Gelişiminin Belirlenmesi

1'den 14'e kadar değişen pH düzeylerinde ayarlanan ve erlenlere konulan CYM besiyerlerinde gelişen misellerin gelişim durumları, yaş ve oda kuru ağırlıkları hesaplanmıştır. Ayrıca erlenlerde bulunan CYM besiyerinin ilk baştaki pH düzeyi ile, misel gelişimini tamamladıktan sonraki pH düzeyi ölçülerek kıyaslama yapılmıştır. Sonuçlar tablo halinde düzenlenmiştir (Çizelge 4.4.).

Çizelge 4.4. *Pleurotus ostreatus*'un CYM besiyerinde farklı pH düzeylerindeki misel gelişim farklılıklarına ait bulgular (N: pH'sı ayarlanmamış, CYM besiyerinin normal pH'sı)

İlk pH	Son pH	Misel gelişimi	Misel yaş ağırlığı	Misel oda kuru ağırlığı	% Nem kaybı
1.46	1.24	-	-	-	-
2.24	2.12	-	-	-	-
3.22	3.39	Dipte biraz misel gelişimi var	0,207 g	0,035 g	83.0
4.31	4.91	Tamamen kaplamadı, gelişme iyi	1,243 g	0,167 g	86.5
5.19	6.43	Tamamen kapladı, gelişme iyi	2,556 g	0,421 g	83.5
6.25	7.04	Tamamen kapladı, gelişme çok iyi	3,448 g	1,216 g	64.7
7.28	7.40	Tamamen kapladı, gelişme çok iyi	3,886 g	1,608 g	58.6
7.62(N)	7.40	Tamamen kapladı, gelişme çok iyi	3,454 g	0,902 g	73.8
8.18	7.57	Tamamen kapladı, gelişme çok iyi	3,346 g	0,900 g	73.1
9.14	7.12	Tamamen kapladı, gelişme çok iyi	4,244 g	1,111 g	73.8
10.31	6.79	Tamamen kapladı, gelişme çok iyi	4,485 g	1,435 g	68.0
11.15	7.72	Tamamen kapladı, gelişme çok iyi	3,551 g	1,012 g	71.5
12.14	7.63	Tamamen kapladı, gelişme çok iyi	3,544 g	0,892 g	74.8
13.12	7.58	Tamamen kapladı, gelişme çok iyi	3,083 g	0,561 g	81.8
14.12	7.67	Tamamen kaplamadı, gelişme iyi	2,546 g	0,407 g	84.6



Şekil 4.7. pH 3, 4 ve 5'te *P.ostreatus* misellerinin 15. günde CYM besiyeri içeren erlenlerde gösterdiği gelişim



Şekil 4.8. pH 6, 7 ve pH'sı ayarlanmamış, normal değerinde bırakılan (7.62) CYM besiyeri içeren erlenlerde *P.ostreatus* misellerinin 15. günde gösterdiği gelişim



Şekil 4.9. pH 8, 9 ve 10’da *P.ostreatus* misellerinin 15. günde CYM besiyeri içeren erlenlerde gösterdiği gelişim



Şekil 4.10. pH 11, 12, 13 ve 14’te *P.ostreatus* misellerinin 15. günde CYM besiyeri içeren erlenlerde gösterdiği gelişim

4.1.2. Bakteri İdentifikasyon Testlerinin Sonuçları

İzole edilen bakterilerden, yapılan biyokimyasal testlerin sonuşlarına göre *Pseudomonas*’ların karakteristik özelliklerini gösteren 23 bakteri seşilmiştir. Testlerin değerlendirilmesi ve identifikasyon “Brock Mikroorganizmaların Biyolojisi (Madigan ve Martinko, 2010)” ve “Temel ve Klinik Mikrobiyoloji (Ustaçelebi, 1999)” kitaplarına göre yapılmıştır.

Çizelge 4.5. İdentifikasyon test sonuçları (K/K: üst kırmızı, alt kırmızı; Kt/Kt: üst kırmızı-turuncu, alt kırmızı-turuncu; -/-: üstte ve altta besiyerinin renginde değişiklik yok.) (-)negatif, (+): pozitif)

	Gram Boyama	Katalaz	Sitrat	Metil Kırmızısı	SIM				TSI	Oksidaz
					H ₂ S	İndol	Hareket			
<i>P.aeruginosa</i>	Gr (-) çubuk	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	K/K	(+)	
	Gr (-) çubuk	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	K/K	(+)	
<i>Z</i> ₁₀	Gr (-) çubuk	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	-/-	(+)	
<i>Y</i> ₁	Gr (-) çubuk	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	K/K	(+)	
<i>6</i>	Gr (-) çubuk	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	K/K	(+)	
<i>Z</i> ₆	Gr (-) çubuk	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	K/K	(-)	
<i>23</i>	Gr (-) çubuk	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	K/K	(+)	
<i>A</i>	Gr (-) çubuk	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	K/K	(+)	
<i>Y</i> ₄	Gr (-) çubuk	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	K/K	(+)	
<i>F</i>	Gr (-) çubuk	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	Kt/Kt	(+)	
<i>Ye</i> ₂	Gr (-) çubuk	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	K/K	(+)	
<i>Ye</i> ₁	Gr (-) çubuk	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	K/K	(+)	
<i>Z</i> ₉	Gr (-) çubuk	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	Kt/Kt	(+)	
<i>D</i>	Gr (-) çubuk	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	K/K	(+)	
<i>Z</i> ₁	Gr (-) çubuk	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	K/K	(+)	
<i>3</i>	Gr (-) çubuk	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	K/K	(+)	
<i>Y</i> ₆	Gr (-) çubuk	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	K/K	(+)	
<i>21</i>	Gr (-) çubuk	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	K/K	(+)	
<i>Z</i> ₃	Gr (-) çubuk	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	K/K	(+)	
<i>E</i> ₁	Gr (-) çubuk	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	K/K	(+)	
<i>E</i> ₂	Gr (-) çubuk	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	K/K	(+)	
<i>E</i> ₃	Gr (-) çubuk	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	K/K	(+)	
<i>E</i> ₅	Gr (-) çubuk	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	K/K	(+)	

Çizelge 1.6. İdentifikasyon test sonuçları ((): negatif, (+): pozitif)

		Pigment testi						
	4°C'de üreme	King's Medium A	King's Medium B	43°C'de üreme	Nitrat	Voges-Proskauer	Jelatin	DLA
<i>P.aeruginosa</i>	(-)	Mavi-Yeşil	Floresan yeşili	(+)	(+)	(-)	(+)	Laktoz (-)
2	(-)	Beyaz	Krem	(-)	(-)	(-)	(-)	Laktoz (-)
Z ₁₀	(-)	Beyaz	Yeşil-krem	(-)	(-)	(-)	(-)	Laktoz (-)
Y ₁	(-)	Beyaz	Yeşil-sarı	(-)	(-)	(-)	(-)	Laktoz (-)
6	(-)	Beyaz	Kahverengi	(+)	(-)	(-)	(-)	Laktoz (-)
Z ₅	(-)	Beyaz	Beyaz	(-)	(+)	(-)	(+)	Laktoz (-)
23	(-)	Beyaz	Krem	(-)	(-)	(-)	(-)	Laktoz (-)
A	(-)	Beyaz	Krem	(-)	(-)	(-)	(-)	Laktoz (-)
Y ₄	(-)	Sarı	Krem	(-)	(+)	(-)	(-)	Laktoz (-)
F	(-)	Beyaz	Krem	(-)	(-)	(-)	(-)	Laktoz (-)
Ye ₂	(-)	Beyaz	Sarı-Yeşil	(-)	(-)	(-)	(-)	Laktoz (-)
Ye ₁	(-)	Beyaz	Krem	(-)	(-)	(-)	(-)	Laktoz (-)
Z ₉	(-)	Beyaz	Yeşil	(-)	(-)	(-)	(-)	Laktoz (-)
D	(-)	Beyaz	Yeşil	(-)	(-)	(-)	(+)	Laktoz (-)
Z ₁	(-)	Beyaz	Krem	(-)	(-)	(-)	(-)	Laktoz (-)
3	(-)	Beyaz	Krem	(-)	(-)	(-)	(-)	Laktoz (-)
Y ₆	(-)	Krem	Sarı	(+)	(-)	(-)	(-)	Laktoz (-)
21	(-)	Beyaz	Kahverengi	(+)	(-)	(-)	(-)	Laktoz (-)
Z ₃	(-)	Beyaz	Yeşil	(-)	(-)	(-)	(-)	Laktoz (-)
E ₁	(-)	Beyaz	Yeşil-sarı	(-)	(-)	(-)	(-)	Laktoz (-)
E ₂	(-)	Siyah-gri	Sarı-yeşil	(-)	(-)	(-)	(-)	Laktoz (-)
E ₃	(-)	Beyaz	Yeşil-sarı	(-)	(-)	(-)	(-)	Laktoz (-)
E ₅	(-)	Beyaz	Yeşil-sarı	(-)	(-)	(-)	(-)	Laktoz (-)

4.1.3. *Pseudomonas* Suşlarının *Pleurotus ostreatus* Misel Gelişimi Üzerine Etkisinin Belirlenmesi

CYM-Agar besiyerine karşılıklı olarak ekilen *Pseudomonas* suşları ve *Pleurotus ostreatus* misellerinin gelişimi günlük olarak kontrol edilip, hem karşılaştıkları bölgedeki miselin gelişim durumu hem de karşılaşmadıkları bölgede olan miselin gelişim durumu incelenmiştir. Ayrıca iki petri kutusuna sadece mantar ekilerek kontrol amaçlı kullanılmış ve bakteri ekilen petri kutularındaki mantar miselinin gelişim davranışı ve gelişim hızı karşılaştırılmıştır.

Çizelge 4.7. Bakterilerin *P.ostreatus*'un misel gelişimi üzerine etkisine ait bulgular

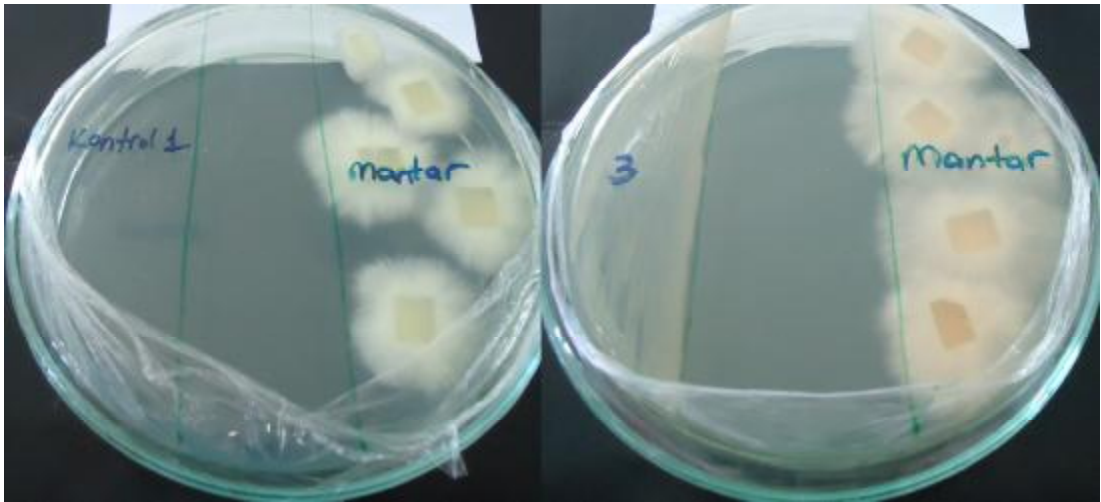
BAKTERİ	MANTAR GELİŞİMİ
E ₃	Bakteri ile misel hattı belli olmamakta, misel standart gelişmesini bakterilerin üzerinde de sürdürmektedir.
Y ₆	Mantar normal gelişimini bakteri bulunan bölgede de sürdürmekte olup, olumlu veya olumsuz hiçbir etkileşim bulunmamaktadır.
D	Bakteri yayılı bölgenin sınırlarını aşmış ince bir misel zonu biraz daha gelişmiş görüntüsü vermekle beraber, çok pozitif bir katkı görülmemektedir.
Z ₃	Bakteri üzerinde gelişmekte olan bölüm daha güçlü bir misel görüntüsü vermekle beraber, herhangi bir olumlu veya olumsuz bir katkı görülmemektedir.
E ₅	Bakteri ile misel hattı belli olmamakta, misel standart gelişmesini bakterilerin üzerinde de sürdürmektedir.
A	Bakteri yayılı bölgenin sınırlarını aşmış ince bir misel zonu biraz daha gelişmiş görüntüsü vermekle beraber, çok pozitif bir katkı görülmemektedir.
Z ₁₀	Bakteri ile misel hattı belli olmamakta, misel standart gelişmesini bakterilerin üzerinde de sürdürmektedir ve olumlu veya olumsuz bir katkı görülmemektedir.
F	Tüm misel gelişim bölgeleri özellikle mantar ekili yüzey kısmına bakan bölgede daha sağlıklı bir gelişme göstermesinin yanı sıra, miselin bakteri yüzeyinin üzerine geçtiği bölgede daha sık ve sağlıklı bir misel görüntüsü vardır. Dolayısıyla mantar gelişimine pozitif bir katkı olduğu düşünülmektedir.
Z ₁	Bakteri çizgisinin üzerini örten hif bölümünün kenarları, diğer bölgelerde pek rastlanmayan, ileriye doğru büyümekte olan ince hif demetleri görüntüsünü göstermenin yanı sıra, bu hattın ötesinde bakteri üzerindeki örtü bölgesinde kompakt bir misel örgüsü oluşmuş durumdadır. Dolayısıyla bakteri ekili hattın ötesinde çok sıkı ve güçlü görünen bir misel gelişiminin gözlenmesi nedeniyle, bakterinin pozitif biyolojik katkısının olduğu kesindir.
E ₁	E ₃ ve E ₅ 'e benzemekle birlikte, bakteri kitlesi üzerindeki misel gelişimi biraz zayıflamış gibidir.
21	Mantar normal gelişimini bakteri bulunan bölgede de sürdürmekte olup, olumlu veya olumsuz hiçbir etkileşim bulunmamaktadır.
Ye ₁	Mantar normal gelişimini bakteri bulunan bölgede de sürdürmekte olup, olumlu veya olumsuz hiçbir etkileşim bulunmamaktadır.

Çizelge 4.7. (Devamı)

BAKTERİ	MANTAR GELİŞİMİ
2	Miselin bakteri üremiş bölgenin içine girmesiyle birlikte misel yoğunluğunda bir artış görülmektedir. Miselin ışınsal uzantılar göstermeksizin yoğun hifli bir sınır bölgesi şeklinde üremesi karakteristiktir. Gelişme bakterinin bulunduğu bölgede çok güçlü bir hif örtüsü şeklinde devam etmekle beraber, gelişme hızı yavaşlamış gibidir.
Z₉	Bakteri üreme hattının ötesinde misel daha sık ve güçlü hifler oluşturarak normal ışınsal yayılımını sürdürmektedir. Pozitif biyolojik katkı söz konusudur.
Y₁	Miselin bakteri üremiş bölgenin içine girmesiyle birlikte misel yoğunluğunda bir artış görülmektedir. Miselin ışınsal uzantılar göstermeksizin yoğun hifli bir sınır bölgesi şeklinde üremesi karakteristiktir.
Ye₂	Mantar normal gelişimini bakteri bulunan bölgede de sürdürmekte olup, olumlu veya olumsuz hiçbir etkileşim bulunmamaktadır.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Bakteri kendi üreme hattının ötesine ulaşan bir şekilde miseli olumsuz etkilemektedir ve mantarın gelişimini 4. günün sonunda tamamen durdurmuştur.
Y₄	Bakteri üreme çizgisinin başlangıcına kadar normal, hatta biraz zayıf gelişme gösteren misel, bakteri sınırının yakınından başlamak kaydıyla bakteri üreyen bölgenin üzerine doğru sıkı, güçlü fakat ışınsal uzantı göstermeyen düz bir tabaka şeklinde örtü oluşturmaya başlamıştır. Kesinlikle pozitif bir etkileşme vardır.
23	Mantar normal gelişimini bakteri bulunan bölgede de sürdürmekte olup, olumlu veya olumsuz hiçbir etkileşim bulunmamaktadır.
3	Mantar normal gelişimini bakteri bulunan bölgede de sürdürmekte olup, olumlu veya olumsuz hiçbir etkileşim bulunmamaktadır.
Z₆	Bakteri-misel hattı belirsiz, fakat miselin gelişme düzeyi besiyerinin bakteri bölgesi dışındaki gelişmeden çok daha zayıftır.
6	Mantar normal gelişimini bakteri bulunan bölgede de sürdürmekte olup, olumlu veya olumsuz hiçbir etkileşim bulunmamaktadır.
E₂	Bakteri ile misel hattı belli olmamakta, misel standart gelişmesini bakterilerin üzerinde de sürdürmektedir

Çizelge 4.8. *Pseudomonas* suşları ile ekilen *P.ostreatus* misellerinin petri kutusundaki besiyerinin yüzeyini kaplama süreleri

BAKTERİ	PETRİ KUTUSUNU KAPLAMA SÜRESİ
KONTROL (Bakteri yok)	14. gün
Z ₂	14. gün
Y ₄	16. gün
Z ₆	10. gün
Z ₁₀	8. gün
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5. gün gelişimi durdu
Z ₁	15. gün
Z ₃	15. gün
E ₁	11. gün
E ₂	12. gün
E ₃	12. gün
E ₅	12. gün
Ye ₂	12. gün
F	11. gün
3	13. gün
Z ₉	13. gün
Ye ₁	15. gün
23	15. gün
Y ₆	17. gün
D	15. gün
A	16. gün
21	17. gün
6	17. gün
Y ₁	15. gün



Şekil 4.11. 3. günde kontrol grubu ile 3 numaralı bakterinin olduğu petri kutusunda *P.ostreatus*'un misel gelişimi



Şekil 4.12. 7. günde *Pseudomonas aeruginosa*'nın *P.ostreatus* miselinin gelişmesine olumsuz etkisinin görünümü



Şekil 4.13. 9. günde Y₄ bakterisinin olduğu petri kutusunda *P.ostreatus* misellerinin gelişiminin görünümü



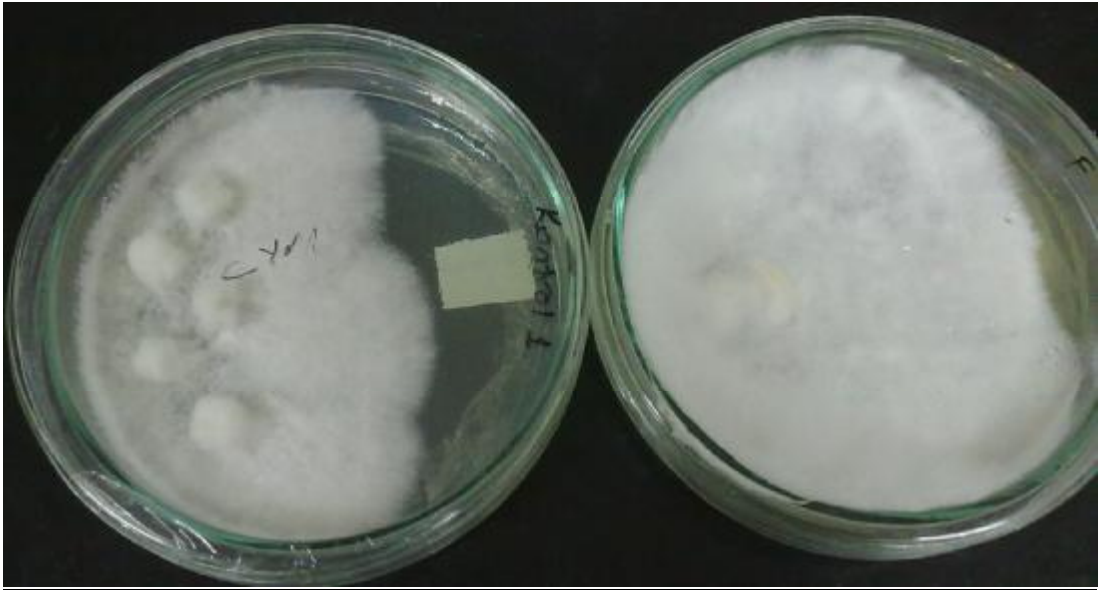
şekil 4.14. 14. günde 2 numaralı bakterinin olduğu petri kutusunda *P.ostreatus* misellerinin gelişiminin görünümü



şekil 4.15. 10. ve 15. günde Z₁ bakterisinin olduğu petri kutusunda *P.ostreatus* misellerinin gelişiminin görünümü



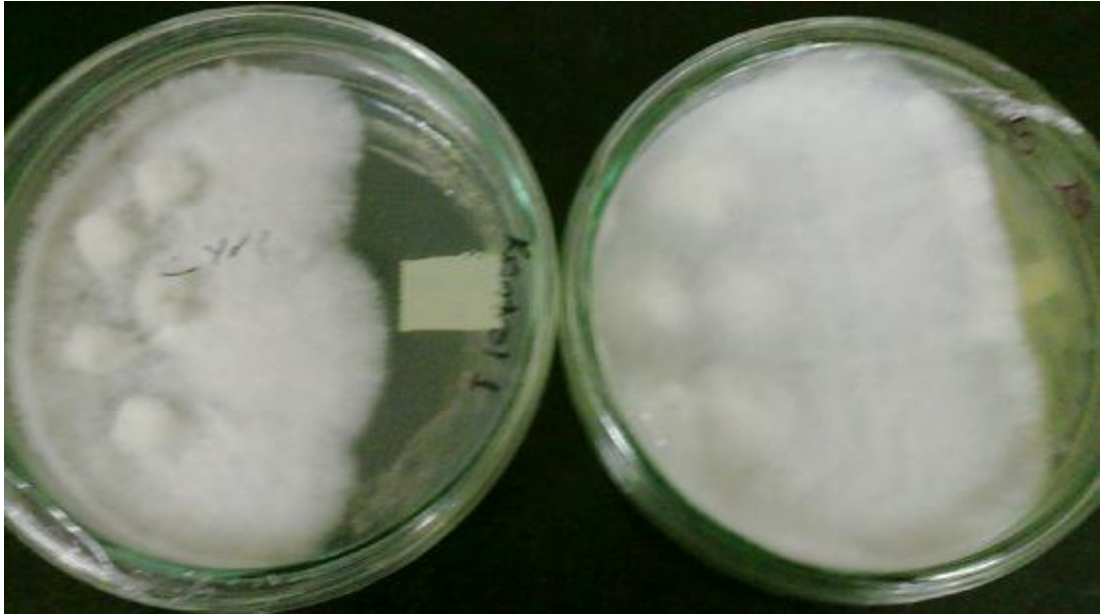
Şekil 4.16. 10. ve 15. günde 23 numaralı bakterinin olduğu petri kutusunda *P.ostreatus* misellerinin gelişiminin görünümü



Şekil 4.17. 7. günde kontrol grubu ile F bakterisinin olduğu petri kutusunda *P.ostreatus* misellerinin gelişiminin görünümü



Şekil 4.18. 7. günde kontrol grubu ile Z₁₀ bakterisinin olduğu petri kutusunda *P.ostreatus* misellerinin gelişiminin görünümü



Şekil 4.19. 7. günde kontrol grubu ile E₅ bakterisinin olduğu petri kutusunda *P.ostreatus* misellerinin gelişiminin görünümü

4.2. Tartışma

Ortamın pH düzeyinin, birçok mikroorganizmada olduğu gibi mantarların da gelişimi üzerine olumlu veya olumsuz önemli etkileri vardır. Hatta bazı ağaçların yakınında yetişen mantarların tad değişikliği gösterdiğinin halk tarafından bilinmesi, bize ortam koşullarının ve çevresel etkileşimin mantarın yapısal kombinasyonunu da etkilediğini göstermektedir. Ayrıca pH, metabolik süreçleri ve sonuçta mantar türlerinin besin olarak belirli substratları kullanmasını etkilemektedir (Sarker ve ark., 2007). Kültür besiyerlerinin pH düzeyi önemli kritik çevresel parametrelerinden biri olup, hem gelişmeyi hem de ekzopolisakkaritlerin biyosentezini etkilemektedir. pH'nın etkisi hem farklı mikroorganizmalara göre hem de besiyerinin içeriğine göre değişmektedir (Shu ve Lung, 2004).

Farklı pH düzeylerinde hazırlanmış sıvı CYM besiyerinde ürettiğimiz *Pleurotus ostreatus* misellerinin, gelişmeleri tamamlandıktan sonra ilk ölçtüğümüz pH değerinden farklı değerler çıktığı tespit edilmiştir. pH 1 ve 2'de hiç misel gelişimi gözlenmezken, pH 3'te çok zayıf bir gelişim gözlenmiştir. pH 4'te pH 3'e göre daha iyi bir misel gelişimi söz konusudur. Düşük pH'larda gelişen miseller, gelişimlerini tamamladıktan sonra, pH değerini yükseltmişlerdir. Yüksek pH'larda gelişen misellerin gelişimleri oldukça iyi olup, pH 14'teki gelişim diğer yüksek pH'lara göre daha zayıftır. Ancak pH 14'teki gelişim pH 3 ve 4'teki gelişime göre daha iyidir. Bu sonuç, *P.ostreatus*'un yüksek pH'larda geliştirildiği taktirde, en önemli kontaminasyon sebebi olan ve düşük pH'larda iyi gelişen küf mantarlarından kaynaklanabilecek kontaminasyonlarda, bunların gelişimini önlemeye yönelik bir etkinin varlığına işaret etmektedir. Ayrıca yüksek pH'larda gelişen misellerde, gelişme tamamlandıktan sonra pH değeri ölçüldüğü zaman, pH'nın genellikle 7 civarında olduğu tespit edilmiştir. Bu da bize mantarların besiyerindeki pH'yı kendi gelişimleri için gerekli optimal pH'ya dönüştürebilme yetenekleri olduğunu göstermektedir ve bu bulgumuz Neto ve ark (2009) tarafından elde edilen bulgularla tamamen örtüşmektedir. Misel yaş ağırlıkları karşılaştırıldığında, en yüksek ağırlık 4,4 g ile pH 10'da gözlenmiştir, bunu 4,2 g ile pH 9 ve 3,8 g ile pH 7 takip etmektedir. Misel oda kuru ağırlıkları karşılaştırıldığında, en yüksek oda kuru ağırlık

olan 1,6 g değeri pH 7’de gözlenmiştir, bunu 1,4 g ile pH 10 ve 1,1 g ile pH 9 takip etmektedir. Yaş ve oda kuru ağırlık arasındaki ilişkinin, misellerin biyolojik kitlesinin yapısal farklılığından kaynaklanmadığı açıktır. Zira oda kuru ağırlık değerleri dikkate alındığında, miselin suyunun uzaklaşmasından sonra kalan ve organik kitlenin temsil ettiği ağırlık miselin gerçek yapısal özelliklerini yansıtan bir değerdir. Yüksek pH düzeyinin miselin su tutma özelliğini arttırdığı, OH⁻ iyonlarının katkısı ile ortaya çıkan bu durumun kuruma sonucu suyun kaybolmasıyla normal değerlere döndüğü açıktır. Sonuç olarak, miselin gelişme davranışının optimal olduğu pH düzeyinin organik kitle artışının da en yüksek olduğu düzeyi ifade ettiğini söyleyebiliriz.

Farklı pH düzeylerinde hazırlanmış katı CYM besiyerlerinde gelişen misellere baktığımız zaman ise, sıvı besiyerindeki sonuçlara benzer sonuçlar elde edilmiştir. Misel petri kutusundaki besiyeri üzerinde en zayıf ve 14 günle en yavaş gelişimini pH 3’te göstermiştir. pH yükseldikçe gelişim hızı artmakta ve misel gelişimi daha güçlü hale gelmektedir. pH 7, 7.5, 10, 10.5, 11 ve 11.5’te yapılan testlerde misel, petri kutusundaki besiyeri yüzeyini tamamen kaplama şeklindeki gelişme kriterini her ne kadar 8 günde tamamlamış görünmekle birlikte, misellerin morfolojik özellikleri ve gelişmenin yoğunluğunu ifade eden hif dokusu görüntüsü, en güçlü miselin pH 7’de geliştiğini göstermektedir. Miseller pH 3.5 ve 4 ile 13.5 ve 14’te gelişimlerini 11 günde tamamlamıştır. Bu pH değerlerini misel görünümü açısından karşılaştıracak olursak, pH 13.5 ve 14’teki miseller pH 3.5 ve 4’e göre daha güçlü miseller şeklinde görülmektedirler. Sonuç olarak, küf mantarı ile kontaminasyon olasılığında, kontaminantın gelişmesini minimuma indirmek için *P.ostreatus*’u yüksek pH değerlerinde yetiştirmenin biyolojik olarak uygun olacağı ortaya çıkmıştır. Aynı zamanda, *P.ostreatus* misellerinin gelişimi için optimum pH değerinin 7 olduğunu düşünürsek, bu değerin biraz üzerinde seçilecek pH düzeylerinin, bir yandan bu mantarın gelişmesini olumsuz etkilemeyeceği diğer yandan ise küf kontaminasyonlarının baskı altına alınması için yeterli bir önlem oluşturacağı açıktır.

Kompost kullanılmadığı zaman, sterilize veya yeterli bir şekilde pastörize edilmemiş ortamlarda mantar hasatının yüksek verimli olmasını sağlamak oldukça

güçtür. Mantar yetiştiricileri, kompostlu besiyeri kullanıldığında *Pleurotus ostreatus* mantarından birçok hasat elde edilebileceğini keşfetmişlerdir (Park ve Agnihotri, 1969). Kompost prosesi, gelişimi sağlayacak besiyeri kitlesinin hem biyolojik hem de fizikokimyasal özelliklerini olumlu yönde değiştirdiği gibi, bu uygulama yapılmadığında zararlı ot tohumlarıyla birçok zararlı böcek ve nematod yumurtası kökenli problemler ürün alınmasını tehdit eder duruma gelmektedir. Bazı mikroorganizma gruplarının, *P.ostreatus* ve diğer kültürü yapılan mantarların meyve oluşumunda önemli olduklarının keşfedilmesiyle, kompostun biyolojik özellikleri önem kazanmaya başlamıştır. Birçok mantarın çoğalması ve gelişimi pseudomonadlar tarafından etkilenmektedir. Özellikle *Pseudomonas putida*, bu konuda öne çıkan bir türdür (Cho ve ark., 2003). Mikroorganizmaların mantarın primordia oluşumunu başlatıcı ve gelişimini hızlandırıcı rollerinin nedeni konusunda kesin bir açıklama yapılamamakla birlikte, birkaç mekanizma önerilmektedir. Bakterilerin hormon benzeri bileşikler salgılayarak (Wright ve Osborne, 1975; Kai ve ark., 2009), mantarın vejetatif misellerinin oluşturduğu ve reproduktif evreye geçişi engelleyen 1-octen-3-ol'un tüketimine yardımcı olarak (Chitarra ve ark, 2004; Chitarra ve ark., 2005; Boer ve ark., 2005) organik ve inorganik fosfat çözünürleştirilmesiyle ve mevcut demirle şelat oluşturabilen siderofor üretimini sağlayarak patojenlerin biyokontrolünü sağladıkları düşünülmektedir (Zarenejad ve ark., 2012). Bununla birlikte bakterilerin konak organizmalarının büyümesini ve gelişimini teşvik edici etkisinde yapışma faktörü önemlidir (Rainey, 1991b) ve yapılan çalışmalarda floresan pseudomonadların *Agaricus bisporus* misellerine tutunmalarını sağlayan ekzopolisakkaritlerin varlığı keşfedilmiştir (Fett ve ark., 1995). Aynı zamanda yapılan bir çalışmada, birçok Basidiomycetes'in düşük besin koşullarında bakteri kolonilerine doğru gelişerek, bakterileri parçalayıp onları substrat olarak kullandıklarını tespit etmişlerdir (Tornberg ve ark., 2003).

Test organizması olarak kullanılan *Pseudomonas* suşlarının çoğunun *Pleurotus ostreatus*'un misel gelişimine önemli bir pozitif katkısı ortaya çıkmamıştır. *Pseudomonas aeruginosa* suşunun *P.ostreatus* suşlarına karşı olumsuz etkileri olduğu keşfedilmiştir ve bu olumsuz sonuç Munsch ve Alatossava'nın (2002) yaptıkları bir çalışmayla uyushmaktadır. Olumlu etkisi olduğu düşünülen bakteri

suşlarının bulunduğu petri kutularında genellikle, *P.ostreatus* bakteri bulunan tarafta daha sıkı, güçlü ve kalın misel tabakası şeklinde gelişimine devam etmektedir. Bununla birlikte bazı bakterilerin (2, Y₁ ve Y₄) bulunduğu bölgede gelişen miseller normal ışınsal uzantılarını göstermeksizin, düz bir tabaka şeklinde gelişim göstermekte iken, Z₉ bakterisinin bulunduğu petri kutusunda ise, miseller bakteri bulunduğu bölgede de ışınsal yayılımını sürdürmektedir. Rainey (1991a) yaptığı bir çalışmada *Pseudomonas putida*'nın *Agaricus bisporus*'ta ışınsal hif dağılımını teşvik ettiğini tespit etmiştir. Bununla birlikte, *P.putida*'nın *A.bisporus* misellerinin gelişimi üzerine etkisi incelendiğinde, kontrol petri kutusu ile *P.putida* bulunan petri kutusunda misel kuru ağırlığı açısından herhangi bir fark bulunmadığı sonucuna ulaşmıştır. Rainey (1991a)'in sonuçlarının aksine, yapılan bu çalışmada kontrol petri kutusuna göre, bakteri bulunan petri kutularının çoğunda miseller daha hızlı gelişmiştir. İlginç olan bir sonuç ise, Z₁₀ bakterisinin, mantarın misel gelişimine morfolojik olarak herhangi bir katkısı olduğu görülmesi de, bu bakteri bulunan petri kutusunda, kontrol petri kutusuna göre 6 gün daha hızlı bir misel gelişimi gözlenmiştir. Birkaç bakteri suşu dışında, genellikle çoğu bakteri suşunun bulunduğu petri kutularında, misel görünüm kalitesine herhangi bir katkıları bulunmasa da, misel gelişimi kontrol petri kutusuna göre daha hızlıdır. Benzer sonuç Kim ve ark. (2008) *Pleurotus eryngii* ile yaptıkları bir çalışmada elde edilmiş olup, bakteri inoküle edilmiş petri kutularında, oluşturulan kontrol gruplarına göre misel gelişiminin yaklaşık üç katı kadar daha hızlı gerçekleştiğini tespit etmişlerdir. Diğer yandan, bakteri gelişim bölgesinin uzağında bir bölgeden itibaren gelişmesi durmuş görünen misellerde, tıpkı ağır metallerin oligodinamik etkisinin gözlemlendiği bakteri kültürlerinde olduğu gibi, bakterinin üremekte olduğu yöndeki misel sınırının diğer besiyeri yüzeyinde olduğundan daha yoğun bir gelişme gösterdiği fark edilmektedir. Dolayısı ile bu durum bize, bakteri-mantar etkileşiminin oldukça olumsuz yönde gerçekleştiği hallerde bile mantarın, kendisine olumsuz etki yapsa da bakterinin bazı ürünlerinden düşük konsantrasyonda oldukları sürece bazı yararlar sağladığını göstermektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmanın aslında, daha geniş kapsamlı araştırmalara aktüel bir konu oluşturacak birçok yönü vardır. Örneğin; ürün kalitesi ve dolayısıyla bunun bir biyolojik belirteci olarak objektif testlerle saptanabilecek düzeyde farklı pH'larda farklı protein düzeyleri ve tipleri ile ilgili yönde sürdürülebilmesi değerli bir girişim olacaktır. Bunun yanında endüstriyel anlamda meyvenin görüntüsünden, içermiş olduğu lezzet bileşenlerine kadar pratiğe dönük geliştirme ortamları araştırılabilir ve özellikle farklı sebeplerden dolayı başka değerlendirme imkanı olmayan gıda endüstrisi atıklarıyla, tarımsal atıkların farklı pH etkinliği dikkate alınarak verimlilik ve kalite yönünden uygun ve değerli *Pleurotus ostreatus* üretiminde kullanılabilirliklerinin faydalı olacağına dair inancımız tamdır.

Bunun yanı sıra, doğal olarak bu ortamların test edildiği aşamalarda *Pseudomonas*'lar başta olmak üzere birçok diğer toprak bakterisinin (*Clostridium* ve *Corynebacterium*'lar dahil) mantar gelişmesi ve kalitesi üzerine etkinliği de önemli bir kriter olarak araştırılabilir. Ayrıca birçok yenilebilir mantarın gelişimine pozitif katkılar sağlayan bu bakterilerin, olumlu yöndeki katkılarını sağlayan mekanizmalarının altında yatan sebepler de araştırılması gereken bir konu olarak karşımıza çıkmaktadır.

KAYNAKLAR

- ADEBAYO-TAYO, B.C., JONATHAN, S.G., POPOOLA, O.O., EGBOMUCHE, R.C., 2011. Optimization of growth conditions for mycelial yield and exopolysaccharide production by *Pleurotus ostreatus* cultivated in Nigeria. African Journal of Microbiology Research, 5(15):2130-2138.
- ALAM, N., YOON, K.N., LEE, T.S., LEE, U.Y., 2011. Hypolipidemic activities of dietary *Pleurotus ostreatus* in hypercholesterolemic rats. The Korean Society of Mycology, 39(1):45-51.
- ANONYMOUS, 1978. Mikrobiologisches Handbuch. E.Merck, Darmstadt, 438s.
- ARUN, A., RAJA, P.P., ARTHI, R., ANANTHI, M., KUMAR, K.S., EYINI, M., 2008. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) biodegradation by Basidiomycetes Fungi, *Pseudomonas* isolate, and their cocultures: comparative in vivo and in silico approach. Applied Biochemistry and Biotechnology, 151:132-142.
- BARRIUSO, J., SOLANO, B.R., SANTAMARIA, C., DAZA, A., MANERO, G.F.J., 2008. Effect of inoculation with putative Plant Growth-Promoting Rhizobacteria isolated from *Pinus spp.* on *Pinus pinea* growth, mycorrhization and rhizosphere microbial communities. Journal of Applied Microbiology, 105:1298-1309.
- BERMUDEZ, R.C., GARCIA, N., GROSS, P., SERRANO, M., 2001. Cultivation of *Pleurotus* on agricultural substrates in Cuba. Micologia Aplicada International, 13(1):25-29.
- BERNE, S., SEPCIC, K., ANDERLUH, G., TURK, T., MACEK, P., ULRIH, N.P., 2005. Effect of pH on the pore forming activity and conformational stability of ostreolysin, a lipid raft-binding protein from the edible mushroom *Pleurotus ostreatus*. Biochemistry, 44:11137-11147.
- BESSETTE, A.E., KERRIGAN, R.W., JORDAN, D.C., 1985. Yellow blotch of *Pleurotus ostreatus*. Applied and Environmental Microbiology, 1535-1537.

- BLAZEVIC, D.J., KOEPCKE, M.H., MATSEN, J.M., 1973. Incidence and Identification of *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida* in the clinical laboratory. *Applied Microbiology*, 25(1):107-110.
- BOER, W.D., FOLMAN, L.B., SUMMERBELL, R.C., BODDY, L., 2005. Living in a fungal world: impact of fungi on soil bacterial niche development. *FEMS, Microbiology Research*, 29:795-811.
- CHANG, S., BUSWELL J.A., MILES P.G., 1999. Genetics and Breeding of Edible Mushrooms. 2.baskı, Malaysia, 324s.
- CHAPON, A., GUILLERM, A.Y., DELALANDE, L., LEBRETON, L., SARNIGUET, A., 2002. Dominant colonisation of wheat roots by *Pseudomonas fluorescens* Pf29A and selection of the indigenous microflora in the presence of the take-all fungus. *European Journal of Plant Pathology*, 108:449-459.
- CHITARRA, G.S., ABEE, T., ROMBOUTS, F.M., POSTHUMUS, M.A., DIJKSTERHUIS, J., 2004. Germination of *Penicillium paneum* conidia is regulated by 1-Octen-3-ol, a volatile self-inhibitor. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(5):2823-2829.
- CHITARRA, G.S., ABEE, T., ROMBOUTS, F.M., DIJKSTERHUIS, J., 2005. 1-Octen-3-ol inhibits conidia germination of *Penicillium paneum* despite of mild effects on membrane permeability, respiration, intracellular pH, and changes the protein composition. *FEMS, Microbiology Ecology*, 54:67-75.
- CHO, Y.S., KIM, J.S., CROWLEY, D.E., CHO, B.G., 2003. Growth promotion of the edible fungus *Pleurotus ostreatus* by fluorescent pseudomonads. *FEMS, Microbiology Letters*, 218:271-276.
- CHO, Y.S., WEON, H.Y., JOH, J.H., LIM, J.H., KIM, Y.K., SON, E.S., LEE, C.S., CHO, B.G., 2008. Effect of casing layer on growth promotion of the edible mushroom *Pleurotus ostreatus*. *The Korean Society of Mycology*, 36(1):40-44.
- ÇETİN, E.T., 1968. *Pratik Mikrobiyoloji*. 2.baskı, İstanbul, 645s.

- DUNDAR, A., ACAY, H., YILDIZ, A., 2009. Effect of using different lignocellulosic wastes for cultivation of *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P.Kumm. on mushroom yield, chemical composition and nutritional value. African Journal of Biotechnology, 8(4):662-666.
- EBADI, A., ALIKHANI, H.A., RASHTBARI, M., 2012. Effect of plant growth promoting bacteria (PGPR) on the morphophysiological properties of button mushroom *Agaricus bisporus* in two different culturing beds. International Research Journal of Applied and Basic Sciences, 3(1):203-212.
- EMANUEL, V., 2012. In vitro antimicrobial and antioxidant activities of ethanolic extract of lyophilized mycelium of *Pleurotus ostreatus* PQMZ91109. Molecules, 17:3653-3671.
- FETT, W.F., WELLS, J.M., CESCUTTI, P., WIJEY, C., 1995. Identification of exopolysaccharides produced by fluorescent pseudomonads with commercial mushroom (*Agaricus bisporus*) production. Applied and Environmental Microbiology, 61(2):513-517.
- FURLAN, S.A., VIRMOND, L.J., MIERS, D.A., BONATTI, M., GERN, R.M.M., JONAS, R., 1997. Mushroom strains able to grow at high temperatures and low pH values. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 13:689-692.
- GREGORI, A., SVAGELJ, M., POHLEVEN, J., 2007. Cultivation techniques and medicinal properties of *Pleurotus* spp. Food Technology and Biotechnology, 45(3):236-247.
- IAN, P., 1969. Identification of *Pseudomonas aeruginosa* in the clinical laboratory. Journal of Medical Microbiology, 2:9-16.
- IWALOKUN, B.A., USEN, U.A., OTUNBA, A.A, OLUKOYA, D.K., 2007. Comparative phytochemical evaluation, antimicrobial and antioxidant properties of *Pleurotus ostreatus*. African Journal of Biotechnology, 6(15):1732-1739.
- JAYAKUMAR, T., THOMAS, P.A., SHEU, J.R., GERALDINE, P., 2011. In-vitro and in-vivo antioxidant effects of the oyster mushroom *Pleurotus ostreatus*. Food Research International, 44:851-861.

- JEDIVAK, A., SLIVA, D., 2008. *Pleurotus ostreatus* inhibits proliferation of human breast and colon cancer cells through p53-dependent as well as p53-independent pathway. International Journal of Oncology, 33:1307-1313.
- KAI, M., HAUSTEIN, M., MOLINA, F., PETRI, A., SCHOLZ, B., PIECHULLA, B., 2009. Bacterial volatiles and their action potential. Applied Microbiology and Biotechnology, 81:1001-1012.
- KARADENİZ, E., 2007. Yüksek sıcaklığa dayanıklı *Ganoderma lucidum* monokaryon misel üretimi ve *Ganoderma* sp.'nin Türkiye izolatlarında RFLP kalıplarının araştırılması. Ç. Ü. Fen Edebiyet Fakültesi, Adana, yüksek lisans tezi, 70s.
- KAYSER, F.H., BİENZ, K.A., ECKERT, J., ZINKERNAGEL, R.M., 2002. Medizinische Mikrobiologie (M.A. KÜÇÜKER, E. TÜMBAY, Ö. ANĞ, Z. ERTURAN, editörler). Tıbbi Mikrobiyoloji, 9.baskı, Palme yayıncılık, İstanbul, s309.
- KIM, M.K., MATH, R.K., CHO, K.M., SHIN, K.J., KIM, J.O., RYU, J.S., LEE, Y.H., YUN, H.D., 2008. Effect of *Pseudomonas* sp. P7014 on the growth of edible mushroom *Pleurotus eryngii* in bottle culture for commercial production. Bioresource Technology, 99:3306-3308.
- KLOEPPER, J.W., SCHROTH, M.N., MILLER, T.D., 1980. Effects of rhizosphere colonization by Plant Growth-Promoting Rhizobacteria on Potato Plant Development and Yield. Phytopathology, 70:1078-1082.
- KLOEPPER, J.W., ZABLOTOWICZ, R.M., TIPPING, E.M., LIFSHITZ, R., 1991. Plant growth promotion mediated by bacterial rhizosphere colonizers. The Rhizosphere and Plant Growth, 315-326.
- KONG W., 2004, Descriptions of commercially important *Pleurotus* species, Mushroom Growers' Handbook 1, Oyster Mushroom Cultivation, Part II, Chapter 4, pp. 54-55. <http://www.fungifun.org/mushworld/Oyster-Mushroom-Cultivation/mushroom-growers-handbook-1-mushworld-com-chapter-4.pdf>.

- LEE, S., JOO, W., BAEK, Y., KIM, I., CHAY, K., CHO, S., LEE, S., KANG, S., 2011. Effect of light and reductones on differentiation of *Pleurotus ostreatus*. The Journal of Microbiology, 49(1):71-77.
- LIU, L., KLOEPPER, J.W., TUZUN, S., 1995. Induction of systemic resistance in cucumber against Fusarium wilt by Plant Growth-Promoting Rhizobacteria. Phytopathology, 85:695-698.
- LU-CHAU, T.A., RUIZ-DUENAS, F.J., CAMARERO, S., FEIJOO, G., MARTINEZ, M.J., LEMA, J.M., MARTINEZ, A.T., 2004. Effect of pH on the stability of *Pleurotus eryngii* versatile peroxidase during heterologous production in *Emericella nidulans*. Bioprocess and Biosystems Engineering, 26:287-293.
- MADIGAN, M.T., MARTINKO, J.M., 2010. Brock Biology of Microorganisms (C. ÇÖKMÜŞ editör). Brock Mikroorganizmaların Biyolojisi, Palme yayıncılık, Ankara, s345-346.
- MANDEEL, Q.A., AL-LAITH, A.A., MOHAMED, S.A., 2005. Cultivation of oyster mushrooms (*Pleurotus* spp.) on various lignocellulosic wastes. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 21:601-607.
- MARIA, E.R., SYLVIE, T., IRMA, D., ALETHIA, V., 2011 Disposable diapers biodegradation by the fungus *Pleurotus ostreatus*. Waste Management, 31:1683-1688.
- MEDEIROS, M.B., BENTO, A.V., NUNES, A.L.L., OLIVEIRA, S.C., 1999. Optimization of some variables that affect the synthesis of laccase by *Pleurotus ostreatus*. Bioprocess Engineering, 21:483-487.
- MUNSCH, P., ALATOSSAVA, T., 2002. Several pseudomonads, associated with the cultivated mushrooms *Agaricus bisporus* or *Pleurotus* sp., are hemolytic. Microbiological Research, 157:311-315.
- NETO, S.L.M., MATHEUS, D.R., MACHADO, K.M.G., 2009. Influence of pH on the growth, laccase activity and RBBR decolorization by tropical Basidiomycetes. Brazilian Archives of Biology and Technology, 52(5):1075-1082.

- NOHIT, A.M., VASSUI, T., TRASCA, C., CSUTAKI, O., PELINESCU, D., GHINDEA, R., IONESCU, R., SOARE, S., STOICA, I., 2008. Preliminary analysis on biodegrading strains of *Pseudomonas stutzeri*. Roumanian Biotechnological Letters, 13(1):3595-3604.
- OBODAI, M., CLELAND-OKINE, J., VOWOTOR, K.A., 2003. Comparative study on the growth of and yield of *Pleurotus ostreatus* mushroom on different lignocellulosic by-products. The Journal of Industrial Microbiology, 30:146-149.
- PARK, J.Y., AGNIHOTRI, V.P., 1969. Sporophore production of *Agaricus bisporus* in aseptic environments. Antonie van Leeuwenhoek, 35:523-528.
- PEIX, A., RAMIREZ-BAHENA, M., VELAZQUEZ, E., 2009. Historical evolution and current status of the taxonomy of genus *Pseudomonas*. Infection, Genetics and Evolution, 9:1132-1147.
- PERKINS, J.H., 1969. Morphogenesis in *Schizophyllum commune*. I. Effects of white light. Plant Physiology, 44:1706-1711.
- PHILIPPOUSSIS, A., ZERVAKIS, G., DIAMANTOPOULOU, P., 2001. Bioconversion of agricultural lignocellulosic wastes through the cultivation of the edible mushroom *Agrocybe aegerita*, *Volvariella volvacea* and *Pleurotus* spp. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 17:191-200.
- POPPE, J., 2004. Agricultural wastes as substrates for oyster mushroom, Mushroom Growers' Handbook 1, Oyster Mushroom Cultivation, Part II, Chapter 5, S.75-76.<http://www.fungifun.org/mushworld/Oyster-Mushroom-Cultivation/mushroom-growers-handbook-1-mushworld-com-chapter-5.pdf>.
- RAINEY, P.B., 1991(a). Effect of *Pseudomonas putida* on hyphal growth of *Agaricus bisporus*. Elsevier, Mycological Research, 95(6):699-704.
- RAINEY, P.B., 1991(b). Phenotypic variation of *Pseudomonas putida* ve *P. tolaasii* affects attachment to *Agaricus bisporus* mycelium. Journal of General Microbiology, 137:2769-2779.

- RAMAMOORTHY, V., VISWANATHAN, R., RAGUCHANDER, T., PRAKASAM, V., SAMIYAPPAN, R., 2001. Induction of systemic resistance by Plant Growth Promoting Rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. Science Direct, Crop Protection, 20(1):1-11.
- SARKER, N.C., HOSSAIN, M.M., SULTANA, N., MIAN, I.H., SIRAJUL KARIM, A.J.M., RUHUL AMIN, S.M., 2007. Effect of different pH levels on the growth and yield of *Pleurotus ostreatus* (Jacquin ex Fr.) Kummer. Bangladesh Journal of Mushroom, 1(1):57-62.
- SCHNEIDER, I., KRESSEL, G., MEYER, A., KRINGS, A., BERGER, R.G., HAHN, A., 2011. Lipid lowering effects of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) in humans. Journal of Functional Foods, 3:17-24.
- SHAH, Z.A., ASHRAF, M., ISHTIAQ, M., 2004. Comparative study on cultivation and yield performance of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on different substrates (Wheat straw, leaves, saw dust). Pakistan Journal of Nutrition, 3(3):158-160.
- SHU, C.H., LUNG, M.Y., 2004. Effect of pH on the production and molecular weight distribution of exopolysaccharide by *Antrodia camphorata* in batch cultures. Process Biochemistry, 39:931-937.
- STAMETS, P., 2000. Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms. 3.baskı, Canada, 572s.
- SUN, Y., LIU, J., 2009. Purification, structure and immunobiological activity of a water-soluble polysaccharide from the fruiting body of *Pleurotus ostreatus*. Bioresource Technology, 100:983-986.
- SÜMER, S., 2006. Genel Mikoloji. Nobel Basımevi, Ankara, 374s.
- ŞEN, S., YALÇIN, M., 2011. Meşe Palamudu (*Quercus ithaburensis* Decne subsp *macrolepis*) Atıklarının *Pleurotus ostreatus* üretiminde kullanımı. Ekoloji, 20(78):60-65.
- TORNBERG, K., BAATH, E., OLSSON, S., 2003. Fungal growth and effects of different wood decomposing fungi on the indigenous bacterial community of polluted and unpolluted soils. Biology and Fertility of Soils, 37:190-197.

- UDDIN, M.N., YESMIN, S., KHAN, M.A., TANIA, M., MOONMOON, M., AHMED, S., 2011. Production of oyster mushrooms in different seasonal conditions of Bangladesh. *Journal of Scientific Research*, 3(1):161-167.
- USTAÇELEBİ, Ş., 1999. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara, 1339s.
- WANG, P., LIU, Y., YIN, Y., JIN, H., WANG, S., XU, F., ZHAO, S., GENG, X., 2011. Diversity of microorganisms isolated from the soil sample surround *Chroogomphus rutilus* in the Beijing Region. *International Journal of Biological Sciences*, 7(2):209-220.
- WEITZ, H.J., BALLARD, A.L., CAMPBELL, C.D., KILLHAM, K., 2001. The effect of culture conditions on the mycelial growth and luminescence of naturally bioluminescent fungi. *FEMS Microbiology Letters*, 202:165-170.
- WOLFF, E.R.S., WISBECK, E., SILVERIA, M.L.L., GERN, R.M.M., PINHO, M.S.L., FURLAN, S.A., 2008. Antimicrobial and antineoplastic activity of *Pleurotus ostreatus*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 151:402-412.
- WRIGHT, M., OSBORNE, D.J., 1975. Production of ethylene and other volatiles and changes in cellulase and laccase activities during the life cycle of the cultivated mushroom, *Agaricus bisporus*. *Journal of General Microbiology*, 91:167-176.
- XIA, F., FAN, J., ZHU, M., TONG, H., 2011. Antioxidant effects of a water-soluble proteoglycan isolated from the fruiting bodies of *Pleurotus ostreatus*. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 42:402-407.
- YILDIZ, S., YILDIZ, Ü.C., GEZER, E.D., TEMİZ, A., 2002. Some lignocellulosic wastes used as raw material in cultivation of the *Pleurotus ostreatus* culture mushroom. *Process Biochemistry*, 38:301-306.
- YOUNG, L.S., CHU, J.N., YOUNG, C.C., 2012. Beneficial bacterial strains on *Agaricus blazei* cultivation. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 47(6):815-821.
- ZARENEJAD, F., YAKHCHALI, B., RASOOLI, I., 2012. Evaluation of indigenous potent mushroom growth promoting bacteria (MGPB) on *Agaricus bisporus* production. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28:99-104.

ZERVAKIS, G., PHILIPPOUSSIS, A., IOANNIDOU, S., DIAMANTOPOULOU, P., 2001. Mycelium growth kinetics and optimal temperature conditions for the cultivation of edible mushroom species on lignocellulosic substrates. *Folia Microbiology*, 46(3):231-234.

ÖZGEÇMİŞ

1989 yılında Kıbrıs'ta doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Kıbrıs'ta tamamladı. 2006 yılında Çukurova Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde lisans öğrenimine başladı. 2010 yılında mezun oldu ve aynı yıl Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Anabilim Dalının Moleküler Biyoloji alanında Yüksek Lisans programına başladı.