



Sıvı Kültürde *Lepista Nuda* Tarafından Miselyal Biyokütle ve Ekzopolisakkarit Üretimi İçin Karbon ve Azot Kaynaklarının Belirlenmesi

Murat Özdal*

Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 25240 Erzurum, Türkiye

MAKALE BİLGİSİ

Araştırma Makalesi

Geliş 16 Ocak 2018
Kabul 01 Mart 2018

Anahtar Kelimeler:

Lepista nuda
Ekzopolisakkarit
Sıvı kültür
Biyokütle
Mushroom

*Sorumlu Yazar:

E-mail: murat.ozdal@yahoo.com

ÖZET

Bu çalışmada, sıvı kültürde ekzopolisakkarit üretimi için yenilebilir bir mantar olan *Lepista nuda* kullanılmıştır. Başlangıç karbon ve azot kaynaklarının *L. nuda* IT suşu tarafından ekzopolisakkarit ve biyokütle üretimi üzerindeki etkileri araştırılmıştır. En fazla ekzopolisakkarit üretimi 50 g/L glukoz ve 5 g/L maya ekstraktı kullanıldığında elde edilmiştir. Sonuç olarak, küçük ölçekte optimize edilmiş koşullar altında 2,1 g/L ekzopolisakkarit ve 12,3 g/L biyokütle üretimi sağlanmıştır. Bu çalışma, *L. nuda*'nın sıvı kültürde ekzopolisakkarit üretimini gösteren ilk çalışmadır.

Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology, 6(5): 581-585, 2018

Determination of Carbon and Nitrogen Sources for the Production of Mycelial Biomass and Exopolysaccharide by *Lepista Nuda* in Liquid Culture

ARTICLE INFO

Research Article

Received 16 January 2018
Accepted 01 March 2018

Keywords:

Lepista nuda
Exopolysaccharide
Liquid culture
Biomass
Mantar

*Corresponding Author:

E-mail: murat.ozdal@yahoo.com

ABSTRACT

In the present study, *Lepista nuda*, an edible mushroom, was used for the production of exopolysaccharide in the submerged culture. The effects of initial medium carbon and nitrogen sources on exopolysaccharide and mycelial biomass production by *L. nuda* IT strain were investigated. The highest exopolysaccharide production was obtained when culture parameters were used as initial medium 50 g/L glucose and 5 g/L yeast extract. As a result, 2.12 g/L exopolysaccharide and 12.3 g/L biomass production in optimized conditions at flask scales were achieved. This is the first study showing the production of exopolysaccharide in liquid culture of *Lepista nuda*.

DOI: <https://doi.org/10.24925/turjaf.v6i5.581-585.1798>

Giriş

Lepista nuda (*Clitocybe nuda*), Tricholomataceae familyasına ait yenilebilir bir mantardır. Ülkemizde mavi cincile veya mor mantar olarak bilinmektedir (Yılmaz ve Zencirci, 2016). *L. Nuda*'dan elde edilen ekstraktların antioksidan, antimikrobiyal ve antikanser özellikleri sergilediği bulunmuştur (Değirmenci, 2017).

Yenilebilir ve tıbbi mantarlar genellikle saman ve odun gibi lignoselüloz atıkları kullanarak üretilmektedir (van Kuijk ve ark., 2016; Nasehi ve ark., 2017). Bu yöntemin yanı sıra belirli bir sıvı besiyerinde mantar biyokütlesi elde etmek için hızlı ve alternatif bir yöntem olarak sıvı kültürde kullanılmaktadır (Özkan ve ark., 2011; 2013; Geyikoğlu ve ark., 2017). Sıvı kültürlerde fungal biyokütle ve ekzopolisakkarit üretimi kültür koşullarından (pH, sıcaklık, çalkalama), özellikle de ortam bileşiminden etkilenmektedir (Diamantopoulou ve ark., 2012, 2014; Mahapatra ve Banerjee, 2013).

Son yıllarda, mantar polisakkaritleri çok çeşitli biyolojik aktivitelerinden dolayı yaygın bir şekilde araştırılmaktadır (Friedman, 2016; Zhang ve ark., 2017). Basidiomycota'ya ait *Ganoderma*, *Cordyceps*, *Lentinus*, *Lentinula*, *Pleurotus*, *Agaricus*, *Cerrena*, *Corpinus*, *Fomes*, *Trametes*, *Phellinus*, *Inonotus*, *Lepista*, *Flammulina*, *Hericium*, *Boletus*, *Lactarius*, *Armillaria* ve *Tricholoma* cinslerine ait birçok tür polisakkarit üretmektedir (Osinska-Jaroszuk ve ark., 2015; Friedman, 2016; Singdevsachan ve ark., 2016). Yenilebilir ve tıbbi mantarlardan elde edilen bu polisakkaritler antitümör, bağışıklık düzenleyici, antimikrobiyal, yaşlanma karşıtı, yara onarımı, prebiyotik, antioksidan ve antidiyabetik özellikleri bakımından gıda ve farmasötik uygulamalar için cazip ve umut verici olup en iyi bilinen biyoaktif bileşenlerdendir (Singdevsachan ve ark., 2016; Meng ve ark., 2016; Zhang ve ark., 2017).

Tricholomataceae familyasına ait özellikle *Tricholoma matsutake* (Kim ve ark., 2010), *Tricholoma mongolicum* (Wu ve ark., 2012) ve *Armillaria mellea* (Lung ve Huang, 2010) sıvı kültürde polisakkarit üretilebilmektedir. *Lepista sordida* misellerinden elde edilen polisakkaritin antioksidan ve yaşlanma karşıtı (Zhong ve ark., 2013), ekstraktlarından elde edilen polisakkaritin ise antikanser (Miao ve ark., 2013) özelliğinde olduğu belirlenmiştir. *Clitocybe alexandri* ve *Lepista inversa* ekstraktlarından elde edilen polisakkaritlerin özellikle antioksidan özelliği belirlenmiştir (Vaz ve ark., 2010). *Clitocybe maxima*'dan elde edilen ekzopolisakkaritin akciğer kanserini azalttığı belirlenmiştir (Hu ve ark., 2015). *L. nuda*'nın şapkalarından elde edilen polisakkaritlerin antioksidan (Xu ve ark., 2015) ve antiviral (Li ve ark., 2009) özellikleri belirlenmiştir.

Bu çalışmada, *L. nuda*'nın sıvı kültürde ekzopolisakkarit üretimi ilk kez gerçekleştirilmiş ve çeşitli karbon ve azot kaynaklarının ekzopolisakkarit üretimine etkisi araştırılmıştır.

Materyal ve metod

Mikroorganizma

L. nuda IT Atatürk Üniversitesi Biyoloji Bölümü Kültür Koleksiyonunda bulunmakta ve Prof. Dr. İbrahim Türkekul tarafından laboratuvarımıza kazandırılmıştır.

Stok kültür, patates dekstroz agar (PDA) yatık agarda 4°C'de muhafaza edilmekte ve iki ayda bir yenilenmektedir.

İnokulum Hazırlama

PDA üzerinde geliştirilen *L. nuda*, 7. günün sonunda 5 mm çapında 3 disk alınarak 250 mL'lik erlen 50 mL besiyeri (20 g/L glukoz, 2 g/L et peptonu, 2 g/L maya ekstraktı, 0,46 g/L KH₂PO₄, 1 g/L K₂HPO₄, 0,5 g/L MgSO₄·7H₂O, pH 5,5) içeren ortama aktarılmıştır (Kim ve ark., 2005; Chen ve ark., 2016). Bu ortamda 4 gün 28°C ve 150 rpm'de geliştirildikten sonra %4 oranında ekzopolisakkarit üretim ortamına inokulum olarak kullanılmıştır.

Ekzopolisakkarit Üretim Ortamı

Ekzopolisakkarit üretimi, 50 mL besiyeri içeren 250 mL'lik erlenmayerler içerisinde gerçekleştirilmiştir. Çalışmada ekzopolisakkarit üretiminin gerçekleştirileceği sıvı besiyeri ortamında 30 g/L karbon kaynağı, 5 g/L kazein peptonu, 3 g/L KH₂PO₄ ve 0,5 g/L MgSO₄ kullanılmıştır. Fermantasyon ortamının pH'sı 5,5'e ayarlanmış ve 121°C'de 15 dakika otoklavlanmıştır. Besiyerleri soğutulduktan sonra erlenlere inokulum aktarılmıştır. Kültürler, çalkalamalı inkübatörde 28°C ve 200 rpm'de 7 gün inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda ekzopolisakkarit ve biyokütle miktarları belirlenmiştir.

Uygun Karbon Kaynağı ve Konsantrasyonunun Belirlenmesi

L. nuda'dan ekzopolisakkarit üretiminde en uygun karbon kaynağını belirlemek için ekzopolisakkarit üretim ortamında 30 g/L karbon kaynakları olacak şekilde glikoz, gliserol, sükröz, fruktoz, laktoz ve maltoz kullanılmıştır. En fazla ekzopolisakkarit üretiminin belirlendiği karbon kaynağı 20-70 g/L olacak şekilde en uygun karbon konsantrasyonu belirlenmiştir.

Uygun Azot Kaynağı ve Konsantrasyonunun Belirlenmesi

L. nuda'dan ekzopolisakkarit üretiminde en uygun azot kaynağını belirlemek için üretim ortamında 5 g/L azot kaynakları olacak şekilde NH₄NO₃, (NH₄)₂SO₄, NH₄Cl, tripton, kazein peptonu, üre ve maya ekstraktı tek azot kaynağı olarak kullanılmıştır. En fazla ekzopolisakkarit üretiminin belirlendiği azot kaynağı 2-11 g/L olacak şekilde en uygun azot konsantrasyonu belirlenmiştir. İnkübasyon süresinin sonunda kültür ortamlarında biyokütle ve ekzopolisakkarit miktarı belirlenmiştir.

Biyokütle ve Ekzopolisakkarit Ölçümü

Fermantasyon sonunda, besiyerleri 5.000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatant kısmındaki ekzopolisakkaritler, etanol (%95, 4°C) çöktürme yöntemi ile kazanılmış ve daha sonra bir kurutma fırınında sabit bir ağırlığa kadar kurutularak tartılmıştır (Kim ve ark., 2005). Çöktürülen fungal miseller 3 kez saf su ile yıkanmış ve 24 saat 60°C'de kurutularak biyokütle miktarı belirlenmiştir (Özdemir ve Kurbanoglu, 2018).

Bulgular ve Tartışma

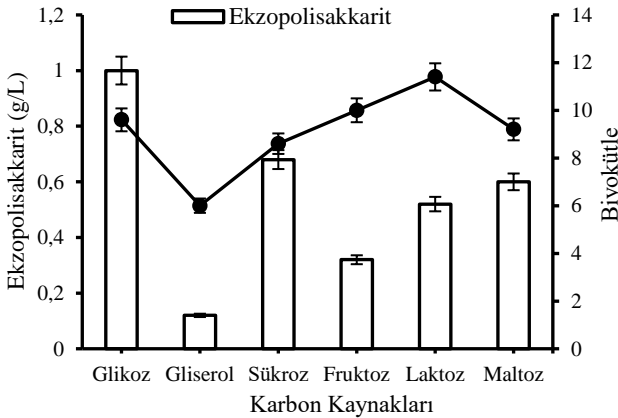
Ekzopolisakkarit Üretimi Üzerine Karbon Kaynağının Etkisi

Ekzopolisakkarit üretimi üzerine çeşitli karbon kaynaklarının (glukoz, gliserol, sükröz, fruktoz, laktoz ve maltoz) etkisi Şekil 1'de gösterilmiştir. En yüksek ekzopolisakkarit üretimi glukoz varlığında (1 g/L) elde edilirken, en düşük ekzopolisakkarit üretimi ise gliserol (0,12 g/L) kullanıldığında elde edilmiştir. En yüksek biyokütle laktoz (11,4 g/L) varlığında belirlenirken en düşük biyokütle ise gliserol kullanıldığında (6,1 g/L) elde edilmiştir.

Mikrobiyal ekzopolisakkarit üretimi için kullanılan karbon kaynağının çeşidi ve konsantrasyonu türden türe farklılık göstermektedir. Genel olarak mikroorganizmalar tarafından ekzopolisakkarit üretiminde başlangıç olarak 30-60 g/L şeker konsantrasyonuna gerek duyulmaktadır (Zheng ve ark., 2014; Sharma ve ark., 2015a; Altınay ve ark., 2015). Bu nedenle çalışmada 20-70 g/L glukoz konsantrasyonunun etkisi araştırılmıştır.

Karbon kaynağı olarak glukozun farklı konsantrasyonlarının kullanıldığı fermantasyon ortamlarında, en yüksek ekzopolisakkarit üretimi 50 g/L glukoz (1,5 g/L) varlığında belirlenmiştir. Biyokütle artışı 50 g/L glukoz ortamında en yüksek düzeye ulaşmış ve daha yüksek şeker konsantrasyonlarında biyokütle artışı gözlenmemiştir.

Sharma ve ark. (2015a), *Cordyceps cicadae* ile yaptığı çalışmada, en fazla ekzopolisakkarit üretiminin karbon kaynağı olarak glukoz kullanıldığında elde edildiğini ve üretilen ekzopolisakkarit miktarının 0,54 g/L olduğunu bildirmişlerdir. Sharma ve ark. (2015b), *Cordyceps gracilis* ile yaptığı başka bir çalışmada karbon kaynağı olarak glukoz kullanıldığında 0,464 g/L düzeyinde ekzopolisakkarit üretiminin gerçekleştiğini bulmuşlardır. Hsu ve ark. (2017), *Ganoderma formosanum* ile yaptığı çalışmada en fazla ekzopolisakkarit üretimini glukoz ortamında gerçekleştiğini ve 0,830 g/L düzeyinde olduğunu belirtmişlerdir. *Tricholoma matsutake* ile yapılan diğer bir çalışmada en yüksek ekzopolisakkarit üretimi glukoz kullanarak 2,23 g/L olarak elde edilmiştir (Kim ve ark., 2010).



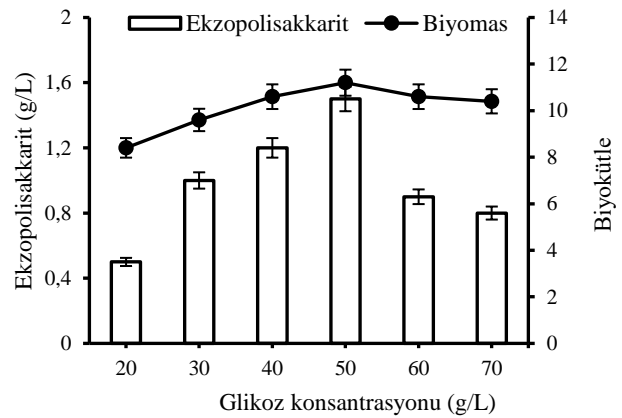
Şekil 1 Biyokütle ve ekzopolisakkarit üretimi üzerine karbon kaynaklarının etkisi

Figure 1 Effect of carbon sources on the biomass and exopolysaccharide production

Ekzopolisakkarit Üretimi Üzerine Azot Kaynağı Etkisi

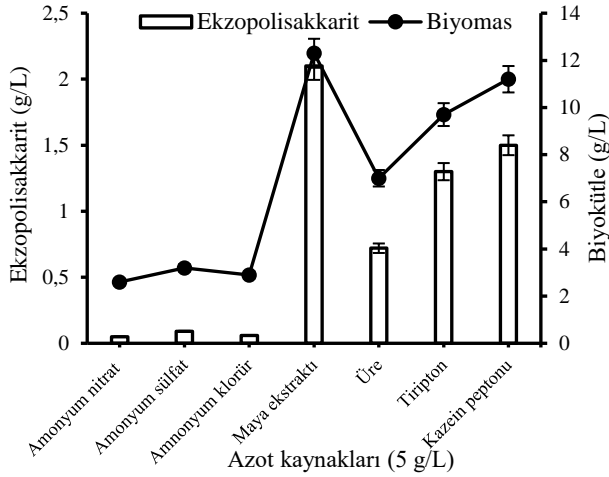
Fermantasyon da kullanılan azot kaynağının çeşidi ve konsantrasyonu doğrudan ekzopolisakkarit üretimini etkilemektedir. Ekzopolisakkarit üretimi üzerine inorganik (NH_4NO_3 , NH_4Cl , NH_4SO_4) ve organik (kazein peptonu, tripton, üre, maya ekstraktı) azot kaynaklarının etkisi Şekil 3'de gösterilmiştir. Her bir azot kaynağı (5 g/L), kazein peptonu yerine üretim ortamına ilave edilmiştir. En yüksek ekzopolisakkarit üretimi maya ekstraktı kullanıldığında (2,1 g/L) elde edilirken, en düşük ekzopolisakkarit üretimi (0,05-0,1 g/L) ise inorganik azot kaynakları kullanıldığında elde edilmiştir. Organik azot kaynakları arasında en düşük ekzopolisakkarit üretimi üre (0,72 g/L) kullanıldığında elde edilmiştir. İnorganik azot kaynakları varlığında çok az ekzopolisakkarit üretimi besiyerinin son pH'sının çok düşük olmasından kaynaklanmaktadır. NH_4NO_3 , NH_4Cl ve NH_4SO_4 içeren besiyerlerinin son pH'sı sırasıyla 2,7, 2,5 ve 2,4 olarak ölçülmüştür. *Sarcodon aspratus* (Joo ve ark., 2004), *Cordyceps jiangxiensis* (Xiao ve ark., 2004) ve *Bionectria ochroleuca* (Li ve ark., 2016) ile yapılan ekzopolisakkarit üretimi çalışmalarında da inorganik azot kaynakları kullanıldığında pH değerinin düştüğü belirtilmiştir. Ayrıca bu çalışmalarda Şekil 3'te elde edilen sonuçlara benzer olarak organik azot kaynaklarının, biyokütle artışı ve ekzopolisakkarit üretimini kolaylaştırmak için inorganik azot kaynaklarından daha etkili olduğu da belirlenmiştir. Test edilen azot kaynakları arasından maya ekstraktı, ekzopolisakkarit üretiminde en iyi etkiyi göstermiştir. Bunun temel olarak maya ekstraktının hücre büyümesi ve ekzopolisakkarit üretimi için uygun azot içerdiğini ve ayrıca hayati beslenme faktörleri olarak kullanılabilen bazı vitaminlere sahip olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Cordyceps cicadae (Sharma ve ark., 2015a), *Ganoderma formosanum* (Hsu ve ark., 2017), *Incutis tamaricis* (Zheng ve ark., 2014), *Bionectria ochroleuca* (Li ve ark., 2016), *Armillaria mellea* (Lung ve Huang, 2010) ve birçok Basidiomycota'ya (Osińska-Jaroszuk ve ark., 2015) ait türün sıvı kültürde polisakkarit üretiminde organik azot kaynaklarının inorganik azot kaynaklarından daha iyi olduğu bildirilmiştir.



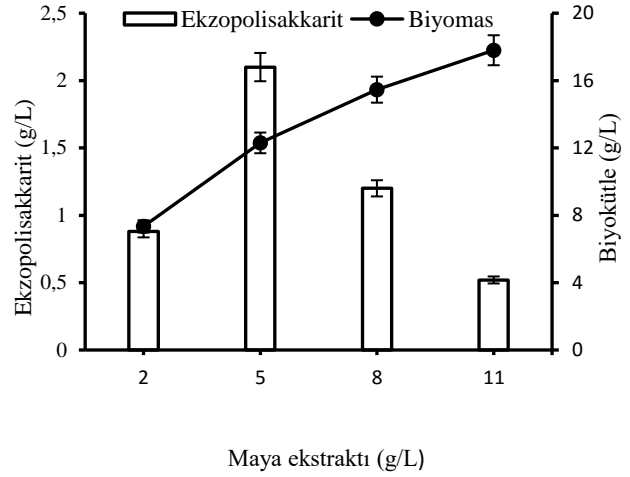
Şekil 2 Biyokütle ve ekzopolisakkarit üretiminde optimum glukoz konsantrasyonu

Figure 2 Optimum glucose concentration on the biomass and exopolysaccharide production



Şekil 3 Biyokütle ve ekzopolisakkarit üretimi üzerine azot kaynaklarının etkisi

Figure 3 Effect of nitrogen sources on the biomass and exopolysaccharide production



Şekil 4 Biyokütle ve ekzopolisakkarit üretiminde optimum maya ekstraktı konsantrasyonu

Figure 4 Optimum yeast extract concentration on the biomass and exopolysaccharide production

Azot kaynağı olarak maya ekstraktının farklı konsantrasyonlarının kullanıldığı fermantasyon ortamlarında, en yüksek ekzopolisakkarit (2,1 g/L) üretimi 5 g/L oranında kullanıldığında elde edilmiştir. Bu konsantrasyondan daha fazla maya ekstraktı kullanıldığında biyokütle miktarının arttığı; ancak ekzopolisakkarit üretiminin azaldığı belirlenmiştir. Bunun nedeni besiyerindeki C:N oranının değişmesinden kaynaklanmaktadır (Osinska-Jaroszuk ve ark., 2015; Sharma ve ark., 2015b).

Lepista sp. (Maziero ve ark., 1999) ve *Clitocybe maxima*'nın (Hu ve ark., 2015) sıvı kültürde ekzopolisakkarit ürettikleri bilinmektedir. Bu çalışmada ilk defa sıvı kültürde *L. nuda* kullanılarak ekzopolisakkarit üretimi gerçekleştirilmiştir. *L. nuda*'dan elde edilen ekzopolisakkaritin gıda ve farmakolojik alanlarda kullanılabilme özellikleri sonraki çalışmalarda belirlenecektir.

Kaynaklar

- Altınay B, Karaduman AB, Gursu BY, Yamac M. 2015. Enhanced bioactive exopolysaccharide production by mossy maze polypore, *Cerrena unicolor* (higher Basidiomycetes) in submerged culture conditions. *Int J Med Mushrooms*. 17(7): 639-648. doi: 10.1615/IntJMedMushrooms.v17.i7.40
- Chen X, Wu JY, Gui X. 2016. Production and characterization of exopolysaccharides in mycelial culture of *Cordyceps sinensis* fungus Cs-HK1 with different carbon sources. *Chin J Chem Eng* 24(1): 158-162. doi: 10.1016/j.cjche.2015.06.016
- Değirmenci EH. 2017. *Lepista nuda*'dan elde edilen ekstraktların sitotoksik aktivitelerinin belirlenmesi (Master's thesis, Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Diamantopoulou P, Papanikolaou S, Kapoti M, Komaitis M, Aggelis G, Philippoussis A. 2012. Mushroom polysaccharides and lipids synthesized in liquid agitated and static cultures. Part I: Screening various mushroom species. *Appl Biochem Biotechnol*. 167(3): 536-551. doi: 10.1007/s12010-012-9713-9

- Diamantopoulou P, Papanikolaou S, Komaitis M, Aggelis G, Philippoussis A. 2014. Patterns of major metabolites biosynthesis by different mushroom fungi grown on glucose-based submerged cultures. *Bioprocess Biosyst Eng*. 37(7): 1385-1400. doi: 10.1007/s12010-012-9714-8
- Friedman, M. 2016. Mushroom polysaccharides: chemistry and antiobesity, antidiabetes, anticancer, and antibiotic properties in cells, rodents, and humans. *Foods*. 5(4): 80. doi:10.3390/foods5040080
- Geyikoglu F, Cerig S, Ozdal M, Koc K, Algur OF, Yildiz GD, Gülmez O. 2018. Toxicological evaluation of submerged liquid culture from *Phanerochaete chrysosporium* mycelium on human blood cells: cytotoxicity, genotoxicity and oxidative damage. *Int J Sec Metabolite*. 4(3-2): 319-329. doi: 10.21448/ijsm.373809
- Hsu KD, Wu SP, Lin SP, Lum CC, Cheng KC. 2017. Enhanced active extracellular polysaccharide production from *Ganoderma formosanum* using computational modeling. *J Food Drug Anal*. 25(4): 804-811. doi:10.1016/j.jfda.2016.12.006
- Hu SH, Cheung PCK, Hung RP, Chen YK, Wang JC, Chang SJ. 2015. Antitumor and immunomodulating activities of exopolysaccharide produced by Big Cup culinary-medicinal mushroom *Clitocybe maxima* (Higher Basidiomycetes) in liquid submerged culture. *Int J Med Mushrooms*. 17(9): 891-901. doi: 10.1615/IntJMedMushrooms.v17.i9.90
- Joo JH, Lim JM, Kim HO, Kim SW, Hwang HJ, Choi JW, Yun JW. 2004. Optimization of submerged culture conditions for exopolysaccharide production in *Sarcodon aspratus* (Berk) S. Ito TG-3. *World J Microbiol Biotechnol*. 20(7): 767-773. doi:10.1007/s11274-004-5841-x
- Kim HO, Lim JM, Joo JH, Kim SW, Hwang HJ, Choi JW, Yun JW. 2005. Optimization of submerged culture condition for the production of mycelial biomass and exopolysaccharides by *Agrocybe cylindracea*. *Bioresour Technol*. 96(10): 1175-1182. doi: 10.1016/j.biortech.2004.09.021
- Kim SS, Lee JS, Cho JY, Kim YE, Hong EK. 2010. Effects of C/N ratio and trace elements on mycelial growth and exopolysaccharide production of *Tricholoma matsutake*. *Biotechnol Bioprocess Eng*. 15(2): 293-298. doi:10.1007/s12257-008-0226-x

- Li D, Zhao W, Kong B, Ye M, Chen H. 2009. Inhibition effects of the extract and polysaccharide in macrofungus on TMV. *J Yunnan Agric Univ* 24(2):175–180. doi: 10.3852/mycologia.986.971
- Li Y, Guo S, Zhu H. 2016. Statistical optimization of culture medium for production of exopolysaccharide from endophytic fungus *Bionectria ochroleuca* and its antitumor effect in vitro. *EXCLI Journal*, 15, 211-220. doi: 10.17179/excli2016-154
- Lung MY, Huang PC. 2010. Optimization of exopolysaccharide production from *Armillaria mellea* in submerged cultures. *Lett Appl Microbiol*. 50(2): 198-204. doi: 10.1111/j.1472-765X.2009.02777.x
- Mahapatra S, Banerjee D. 2013. Fungal exopolysaccharide: production, composition and applications. *Microbiol Insig*. 6: 1-16 doi: 10.4137/MBI.S10957
- Maziero R, Cavazzoni V, Bononi VLR. 1999. Screening of basidiomycetes for the production of exopolysaccharide and biomass in submerged culture. *Rev Microbiol*. 30(1): 77-84. doi: 10.1590/S0001-37141999000100015
- Meng X, Liang H, Luo L. 2016. Antitumor polysaccharides from mushrooms: a review on the structural characteristics, antitumor mechanisms and immunomodulating activities. *Carbohydr Res*. 424: 30-41. doi: 10.1016/j.carres.2016.02.008
- Miao S, Mao X, Pei R, Miao S, Xiang C, Lv Y, Yang X, Sun J, Jia S, Liu Y. 2013. Antitumor activity of polysaccharides from *Lepista sordida* against laryngocarcinoma in vitro and in vivo. *Int J Biol Macromol*. 60: 235-240. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2013.05.033
- Nasehi M, Torbatinejad NM, Zerehdaran S, Safaie AR. 2017. Effect of solid-state fermentation by oyster mushroom (*Pleurotus florida*) on nutritive value of some agro by-products. *J App Anim Res*. 45(1): 221-226. doi: 10.1080/09712119.2016.1150850
- Osińska-Jaroszuk M, Jarosz-Wilkolazka A, Jarosz-Ścisiel J, Szałapata K, Nowak A, Jaszek M, Ozimek E, Majewska M. 2015. Extracellular polysaccharides from Ascomycota and Basidiomycota: production conditions, biochemical characteristics, and biological properties. *World J Microbiol Biotechnol*. 31(12): 1823-1844. doi: 10.1007/s11274-015-1937-8
- Ozidal M, Kurbanoglu E.B. 2018. Citric Acid Production by *Aspergillus niger* from Agro-Industrial By-Products: Molasses and Chicken Feather Peptone. *Waste Biomass Valor*. doi: 10.1007/s12649-018-0240-y
- Özkan C, Bahadır A, Karaduman AB, Özbulut N, Yamaç M. 2011. *Polyporus squamosus* (Huds.) Fr. OBCC 5003 Suşu ile Biyokütle Üretimi Üzerine Çalışmalar. *Mantar Dergisi*, 2(1-2): 37-47.
- Özkan C, Yamaç M, Yıldız Z. 2013. *Pleurotus ostreatus* Makrofungusu ile Derin Kültür Koşullarında Biyoprotein Üretimini Optimizasyonu (35-42). *AKÜ FEMÜBİD* 13(1):35-42. doi: 10.5578/fmbd.5905
- Sharma SK, Gautam N, Atri NS. 2015a. Optimization, composition, and antioxidant activities of exo-and intracellular polysaccharides in submerged culture of *Cordyceps gracilis* (Grev.) Durieu & Mont. *J Evid Based Complementary Altern Med*. doi:10.1155/2015/462864
- Sharma SK, Gautam N, Atri NS. 2015b. Optimized extraction, composition, antioxidant and antimicrobial activities of exo and intracellular polysaccharides from submerged culture of *Cordyceps cicadae*. *BMC Complement Altern Med*. 15(1): 446. doi: 10.1186/s12906-015-0967-y
- Singdevsachan SK, Auroshree P, Mishra J, Baliyarsingh B, Tayung K, Thatoi H. 2016. Mushroom polysaccharides as potential prebiotics with their antitumor and immunomodulating properties: a review. *Bioact Carbohydr Dietary Fibre*. 7(1): 1-14. doi: 10.1016/j.bcdf.2015.11.001
- van Kuijk SJ, Sonnenberg AS, Baars JJ, Hendriks WH, Cone JW. 2016. The effect of particle size and amount of inoculum on fungal treatment of wheat straw and wood chips. *J Anim Sci Biotechnol*. 7(1): 39. doi: 10.1186/s40104-016-0098-4
- Vaz JA, Heleno SA, Martins A, Almeida GM, Vasconcelos MH, Ferreira IC. 2010. Wild mushrooms *Clitocybe alexandri* and *Lepista inversa*: in vitro antioxidant activity and growth inhibition of human tumour cell lines. *Food Chem Toxicol*. 48(10): 2881-2884. doi: 10.1016/j.fct.2010.07.021
- Wu X, Xu R, Ren Q, Bai J, Zhao J. 2012. Factors affecting extracellular and intracellular polysaccharide production in submerged cultivation of *Tricholoma mongolicum*. *Afr J Microbiol Res*. 6(5): 909-916. doi: 10.5897/AJMR11.387
- Xiao JH, Chen DX, Liu JW, Liu ZL, Wan WH, Fang N, Xiao Y, Qi Y, Liang ZQ. 2004. Optimization of submerged culture requirements for the production of mycelial growth and exopolysaccharide by *Cordyceps jiangxiensis* JXPJ 0109. *J Appl Microbiol*. 96(5): 1105-1116. doi:10.1111/j.1365-2672.2004.02235.x
- Xu L, Wang Q, Wang G, Wub JY. 2015. Polysaccharides in 14 Wild Mushroom Species from the Forest of Northeastern China. *Int J Med Mushrooms*. 17(12): 1161-1170. doi: 10.1615/IntJMedMushrooms.v17.i12.60
- Yilmaz H, Zencirci N. 2016. Ethnomycology of Macrofungi in the Western Black Sea Region of Turkey: Identification to Marketing. *Econ Bot*. 70(3): 270-284. doi: 10.1007/s12231-016-9353-z
- Zhang Y, Wu YT, Zheng W, Han XX, Jiang YH, Hu PL, Tang ZX, Shi LE. 2017. The antibacterial activity and antibacterial mechanism of a polysaccharide from *Cordyceps cicadae*. *J Funct Foods*. 38: 273-279. doi: 10.1016/j.jff.2017.09.047
- Zheng JQ, Mao XJ, Geng LJ, Yang GM, Xu CP. 2014. Production optimization, preliminary characterization and bioactivity of exopolysaccharides from *Incutis tamaricis* (Pat.) Fiasson & Niemela. *J Taiwan Inst Chem Eng*. 45(3): 725-733. doi: 10.1016/j.jtice.2013.08.006
- Zhong W, Liu N, Xie Y, Zhao Y, Song X, Zhong W. 2013. Antioxidant and anti-aging activities of mycelial polysaccharides from *Lepista sordida*. *Int J Biol Macromol*. 60: 355-359. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2013.06.018.