



Örtü Toprağında Bulunan Bazı Yararlı Bakterilerin Kültür Mantarı *Agaricus bisporus*'un Gelişimi ve Verimi Üzerine Etkileri

Mehmet Çetin^{1*}, Hatice Özaktan², Kaya Boztok^{3#}

¹Ege Üniversitesi, Bergama Meslek Yüksekokulu, Mantarcılık Programı, 35700 Bergama/İzmir, Türkiye

²Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 35100 Bornova/İzmir, Türkiye

³Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, 35100 Bornova/İzmir, Türkiye

MAKALE BİLGİSİ

Bölümden Emekli olmuştur.

Geliş 07 Aralık 2015
Kabul 16 Şubat 2016
Çevrimiçi baskı, ISSN: 2148-127X

Anahtar Kelimeler:
Agaricus bisporus
Pseudomonas putida
Pseudomonas fluorescens
Bacillus mycoides
Bakteri kolonizasyonu

*Sorumlu Yazar:

E-mail: mehmet.cetin@ege.edu.tr

Ö Z E T

Bu çalışma, örtü toprağının doğal florasında yer alan çeşitli bakterilerin *Agaricus bisporus* (Sylvan Hauser A15) hifleri ile arasındaki *in vitro* ve üretim koşullarındaki etkileşimlerini belirlemek ve mantar verimini nasıl etkileyeceğini tespit etmek amacıyla yürütülmüştür. Örtü toprağı ve sağlıklı mantar şapkalarından toplam 32 adet bakteri (3 adet Gram (+) ve 29 adet Floresan *Pseudomonas*) izole edilmiştir. Bakterilerin *A. bisporus* misel gelişimi üzerine etkilerini görebilmek amacıyla yapılan *in vitro* çalışmalar sonucunda, 24 bakteri izolatının kontrole göre %2-115 oranında etkili olduğu bulunmuştur. *In vitro* çalışmaları sonucunda belirlenen bakterilerin, üretim koşullarında mantar verimi üzerine etkilerini belirlemek amacıyla 2008 yılı Mart, Mayıs ve Temmuz dönemlerinde olmak üzere 3 deneme kurulmuştur. Denemeler sonucunda bakteri izolatlarının toplam verimde, kontrole göre %8 - 40 oranında verim artışı sağladığı tespit edilmiştir. Bakteri izolatlarının örtü toprağına inokulasyonundan sonra, mantar yetiştirme periyodu boyunca popülasyon yoğunluğu ve zamana bağlı olarak popülasyon değişimleri belirlenmiştir. Buna göre; *Pseudomonas fluorescens* (T 4/2 ve Ş 8), *P.putida* (Ş 2/1 ve Ş 10) ve *Bacillus mycoides* (T 7/2) bakteri izolatlarının hem örtü toprağında hem de mantar şapkalarında başarıyla kolonize olduğu belirlenmiştir.

Turkish Journal Of Agriculture - Food Science And Technology, 4(3): 197-203, 2016

Effects of Some Beneficial Bacteria in Casing Soil on Growth and Yield of Cultivated Mushroom *Agaricus bisporus*

ARTICLE INFO

Article history:

Received 07 December 2015
Accepted 16 February 2016
Available online, ISSN: 2148-127X

Keywords:

Agaricus bisporus
Pseudomonas putida
P. fluorescens
Bacillus mycoides
Bacteria colonization

*Corresponding Author:

E-mail: mehmet.cetin@ege.edu.tr

ABSTRACT

This research was carried out to determine the interaction between some bacteria naturally existing in casing soil and *Agaricus bisporus* (Sylvan Hauser A15) hypha in laboratory (*in vitro*) and cultivation (*in vivo*) conditions, and to confirm its effects on mushroom yield. Totally 32 bacteria (3 Gram (+) and 29 Fluorescent *Pseudomonads*) was isolated from casing soil and healthy sporophores. As a result of *in vitro* experiment carried out to determine the effects of bacteria on mycelium growth of *A. bisporus*, 24 bacterial isolates were found more effective at the rate of 2 to 115% than control treatment. To determine the effects of bacterium, chosen at the end of *in vitro* experiments, on mushroom yield in cultivation conditions, three experiments were established in March, May and July in 2008. At the end of experiments, bacterial isolates provided 8 – 40 % increase in total yield. Population density and change in population number related to time was observed during growing period, after the inoculation of bacterial isolates into casing soil. According to the results, *Pseudomonas fluorescens* (T 4/2 and Ş 8), *P.putida* (Ş 2/1 and Ş 10) and *Bacillus mycoides* (T 7/2) bacterial isolates were colonized successfully both in casing soil and sporophores.

Giriş

Örtü toprağı, karpoforların gelişmesinde tutunacağı bir destek ortamı olduğu gibi, mantarın su gereksinimini karşılayan depo görevini üstlenmek ve mantar oluşumunu uyarıcı kaynak olmak gibi birçok önemli rolü de vardır. Nitekim örtü toprağı içinde bulunan bakterilerin, karpofor başlangıcı teşvik kaynağı olarak görev yaptığı da bilinen bir gerçektir (Eger, 1972; Peerally, 1978; Ahlawat, 1998). *Agaricus* türleri yetiştiriciliğinde kullanılan örtü toprağında bulunan, özellikle *Pseudomonas* grubu bakterilerin (Hayes, 1980; Boztok, 1990; Günay ve ark., 1992) primordiyum oluşumundaki uyarıcı etkisi (Creswell ve Hayes, 1979) ve *P. putida*'nın *Agaricus* miselleriyle olan ilişkileri, yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur. Bu mikrobiyal birlikteliğin, diğer çalışmalarda *Agaricus* basidiokarp formasyonlarını artırıcı yönde olduğu tespit edilmiştir (Özaktan ve ark., 2000). Yapılan araştırmalarla *A. bisporus*'un fruktifikasyon oluşumunu uyaran *Streptomyces* (O'Donoghue, 1962; O'Donoghue ve Ryan, 1991), *Bacillus psilocybe* (Urayama, 1967), *Arthrobacter terregens*, *Bacillus megaterium*, *Rhizobium* sp. (Park ve Agnihotri, 1969) ve *Alcaligenes faecalis* (Ahlawat ve Verna, 1999; Fermor ve ark., 2000) gibi bakterilerin tanımlanması da sağlanmıştır. Doğal olarak oluşumu teşvik eden bu organizmalar ile bakteri ve mantar miselyumu arasındaki interaksyon mekanizmasının ortaya koymaya yönelik araştırmalara devam edilmektedir. Yapılan çalışmaların çoğunluğu *in vitro* koşullarda gerçekleştirilirken, bakterilerin ürün üzerine etkilerinin ne şekilde olacağı tam olarak belirlenememiştir.

Bu çalışmada, *in vitro* ve üretim koşullarında örtü toprağı ve mantar şapkasından izole edilen çeşitli bakterilerin *A. bisporus* hifleri ile arasındaki etkileşimlerini belirlemek ve bunların mantar verimini nasıl etkileyeceğini tespit etmek amaçlanmıştır.

Materyal ve Yöntem

Materyal

In vitro denemelerinde, çeşitli üretim yerlerinden alınan örtü toprağı ve mantar şapkalarından izole edilen 32 adet bakteri izolatu ve *A. bisporus* (Sylvan Hauser A15) mantar miselleri kullanılmıştır. *In vivo* çalışmalarında ise, Freshman Mantar İşletmesi'nde hazırlanan ve Sylvan Hauser A15 misel çeşidi ile aşılansmış kompost ve örtü materyali olarak da Denizli Çameli torfu kullanılmıştır.

Denemelerde bakterilerin izolasyonu ve mantar miselinin gelişimi için NGA (Lelliott ve Stead, 1987), PDA (110130 MERCK) ve King-B (King ve ark., 1954) besiyerleri kullanılmıştır.

Araştırmanın *in vitro* çalışmaları Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü Bakterioloji Laboratuvarı'nda ve üretim çalışmaları ise Ege Üniversitesi, Bergama Meslek Yüksekokulu Mantarcılık Programı uygulama odalarında gerçekleştirilmiştir.

Yöntem

Bakterilerin izolasyonu: Denemede kullanılan bakteriler, çeşitli mantar işletmelerinden temin edilen örtü toprağı ve sağlıklı mantar şapkalarından izole edilmiştir.

Alınan örtü toprağı ve mantar şapka örnekleri 10 g olarak tartılmış ve 250-300 ml hacminde steril erlene konularak, üzerine 90 ml fizyolojik su eklenerek 30 dakika süreyle dairesel çalkalayıcıda (140 rpm) çalkalanmıştır (Geels ve Schippers, 1983). Erlenlerdeki süspansiyondan steril pipetle 1 ml alınmış ve içerisinde 9 ml fizyolojik su bulunan tüplere konularak iyice karıştırılmıştır. Böylece 10^{-5} basamağına kadar seyreltme serisi hazırlanmıştır. Son 3 seyreltme basamağından 0.1 ml alınarak King-B (King ve ark., 1954) besiyeri içeren petri kaplarına bagetle yayılarak ekim yapılmıştır. Daha sonra petriler, 24–27°C'de 48 saat inkübe edilmiş ve gelişen farklı bakteri kolonileri saflaştırılmıştır. Gram (+) bakteriler ve UV ışık altında (366 nm) fluoresens gösteren bakteri kolonileri seçilmiştir. Saflaştırılan kültürler, NGA besiyeri içeren tüplere aşılansmış ve bakteri geliştikten sonra, +4°C'de buzdolabında saklanmıştır (Saygılı ve ark., 2006).

***Agaricus bisporus* miselleri ile izole edilen bakteriler arasındaki etkileşimin incelenmesi:** İzole edilen bakterilerin *A. bisporus* misel gelişimi üzerine etkilerini görebilmek amacıyla, içerisinde PDA besi yeri bulunan her petriye (9 cm), ikili kültür karşılıklı ekim yöntemiyle ekilmiştir. Mantar miseli disklerinin (5 mm) inokule edilmesinden 5 gün sonra, diskin karşısına çizgi ekim ile bakteri inokule edilmiştir (Cochet ve ark., 1992; Bora ve Özaktan, 1998). Fungus disklerinin inokulasyonundan itibaren 21 gün süreyle 25°C'de inkubasyona alınmış ve bu sürenin sonunda mantar miselinin koloni çap ölçümleri (mm) 4 farklı noktadan alınarak ortalamaları değerlendirilmiştir. Denemeler tesadüf parselleri deneme desenine göre 3 tekerrürlü olacak şekilde kurulmuştur.

***In vitro*'da etkili bulunan bakterilerin *in vivo*'da mantar verimine etkisinin belirlenmesi:** *Agaricus* misellerinin gelişimini *in vitro* koşullarda olumlu yönde etkileyen bakteriler, üretim koşullarında örtü toprağına inokule edilerek, mantar verimi üzerine etkileri açısından test edilmiştir. Bu amaçla, Mart, Mayıs ve Temmuz dönemleri olmak üzere, denemeler 3 kez gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalarda, her bir kompost poşeti ortalama 12 kg olacak şekilde tartılmıştır. Mart denemesinde, *in vitro* çalışmaları sonucunda seçilen 12 bakteri izolatu ve kontrol olmak üzere toplam 13 faktör esas alınmıştır. Mayıs ve Temmuz denemelerinde ise Mart çalışması sonucunda seçilen 5 bakteri izolatu ve kontrol olmak üzere toplam 6 faktör esas alınmıştır. Denemeler tesadüf blokları deneme desenine göre 4 tekerrürlü ve her tekerrürde 2 torba olacak şekilde kurulmuştur (Düzgüneş ve ark., 1983). Araştırmada her birimden alınan ürünün bir üretim dönemindeki toplam miktarı 100 kg kompost üzerinden hesaplanarak, toplam verim (kg) olarak tespit edilmiştir.

Bakterilerin örtü toprağına inokulasyonu: Örtü toprağının serilmesinden 3 gün sonra, örtü toprağının yapısı ve nem düzeyi dikkate alınarak ortalama m^2 'ye 1-2 litre su verilecek şekilde, her bir torbaya 250 ml'lik bakteri süspansiyonları 10^9 cfu ml^{-1} olacak şekilde örtü toprağı yüzeyine homojen şekilde inokule edilmiştir. Kontrolü oluşturan torbalara ise 250 ml'lik su verilmiştir.

Bakteriyel izolatların etiketlenmesi: Bakterilerin popülasyon yoğunluğu ve zamana bağlı olarak popülasyon değişimlerini incelemek amacıyla, Mart

dönemi verim denemesinde etkili bulunan bakterilerden UV ışık altında (366 nm) floresans gösteren bakteriler, Rifamisin, Gram (+) olan bakteri ise Streptomisin içeren King B ortamları üzerinde artan doz serilerine adapte edilerek dayanıklı kılınmıştır.

Bakterilerin populasyon yoğunluğunun saptanması: Bakterilerin populasyon yoğunluğunun ve zamana bağlı populasyon değişimlerinin incelenmesi Temmuz döneminde gerçekleştirilmiştir. Populasyon izleme çalışması amacıyla, antibiyotiğe dayanıklı kılınan bakterilerin örtü toprağına inokulasyonundan sonra, mantar yetiştirme periyodu boyunca, her tekerrürden olmak üzere, örtü toprağından (toprağına inokule edildikten sonra, tırmıklama sonrasında, primordium oluşum döneminde, 1. ve 2. flaş döneminde) ve mantarlardan (primordium oluşum döneminde, 1. ve 2. flaş döneminde) alınan örneklerden 10^{-6} basamağına kadar seyreltme serisi hazırlanmış ve son 3 seyreltme basamağından 0.1 ml alınarak antibiyotikli King B besiyeri içeren petri kaplarına, bagele yayarak ekim yapılmıştır (Stockwell ve ark., 1998). İnkubasyon sonrasında gelişen koloniler sayılarak bakterilerin populasyon yoğunluğu ve zamana bağlı populasyon değişimleri belirlenmiştir.

In vitro ve in vivo denemelerin değerlendirilmesi: In vitro ve in vivo çalışmalarının sonuçlarının istatistiki değerlendirmesinde SPSS (ver. 15.0 for Windows) paket programı kullanılmıştır. Elde edilen veriler varyans analizi yapılarak, Duncan Çoklu Sınıflandırma testine ($P \leq 0,05$) tabi tutularak değerlendirilmiştir.

Başarılı bulunan bakterileri tanılamada kullanılan testler: In vivo testlerde etkili bulunan bakterilerin kesin tanısı, konvensiyonel tanılama yöntemleri ve API tanı kiti (Biomeriux-50 CH) ile gerçekleştirilmiştir.

Bulgular ve Tartışma

Denemede Kullanılan Bakterilerin İzolasyon Sonuçları

Çeşitli mantar işletmesi ve üretim yerlerinden alınan örtü toprağı ve mantar şapkalarından izole edilen toplam 32 bakteri izolatının alındığı yer ve türü Çizelge 1 ve Çizelge 2’de verilmiştir.

In Vitro Etkileşimleri

İzole edilen bakterilerin *A. bisporus* misel gelişimi üzerine etkilerinin incelendiği araştırma sonucunda, elde edilen ortalama misel çapı (mm) değerleri Çizelge 3’de verilmiştir. Bakteri izolatlarından ve kontrolden elde edilen *A. bisporus* ortalama misel çapı değerleri arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemli ($P \leq 0,05$) bulunmuştur. Toplam 24 bakteri izolatu, kontrole göre %2-115 oranında misel gelişimi üzerine artırıcı etkide bulunmuştur (Şekil 1). Olumlu sonuç veren bakteri izolatlarının 2 tanesinin Gram (+) ve 22 tanesinin ise Fluoresent Pseudomonas olduğu belirlenmiştir. Mantar şapkasından elde edilen Ş 2/1 ve Ş 14 nolu izolatlar sırasıyla 55,42 mm ve 52,67 mm’lik misel çapı değerleriyle en yüksek sonucu vermiştir. Bakteri uygulaması yapılmayan (kontrol) *A. bisporus* miselinin ortalama çapı ise 25,75 mm olarak belirlenmiştir. O’Donoghue ve Ryan (1991) ve Ahlawat (1998)’in yapmış olduğu çalışmalarda, katı ve sıvı besi ortamlarında *A. bisporus* misellerinin gelişimi üzerine çeşitli bakteri

izolatlarının uyarıcı etkilerinin görüldüğü bildirilmiştir. Aynı şekilde, Rainey (1991)’in yapmış olduğu çalışmada da, *P. putida*’nın *A. bisporus* miselinde radyal hif uzamasını etkileyerek, misel gelişimini artırıcı etkileri olduğu belirtilmiştir.

Bu test sonuçlarına göre; *in vitro* ve *in vivo* test sonuçlarının her zaman uyumlu olmaması nedeniyle, hem misel gelişimini artıran hem de misel gelişimini sınırlayan bakteri izolatları seçilmiştir.

Çizelge 1 Örtü toprağından elde edilen bakteri izolatları

No	Alındığı yer	Türü
T ₁	Dinar top. / Dazkırı	Fluoresent Pseudomonas
T _{2/1}	Göhlisar top. / Dazkırı	Gram (+)
T _{2/2}	Göhlisar top. / Dazkırı	Fluoresent Pseudomonas
T ₃	Söke top. / Dazkırı	Gram (+)
T _{4/1}	Dinar top. / Dazkırı	Fluoresent Pseudomonas
T _{4/2}	Dinar top. / Dazkırı	Fluoresent Pseudomonas
T _{5/1}	Göhlisar top. / Dazkırı	Fluoresent Pseudomonas
T _{5/2}	Göhlisar top. / Dazkırı	Fluoresent Pseudomonas
T _{6/1}	Söke-Dinar top. / Dazkırı	Fluoresent Pseudomonas
T _{6/2}	Söke-Dinar top. / Dazkırı	Fluoresent Pseudomonas
T _{7/1}	Çameli top. / Korkuteli	Fluoresent Pseudomonas
T _{7/2}	Çameli top. / Korkuteli	Gram (+)

No: İzolat No

Çizelge 2 Mantar şapkalarından elde edilen bakteri izolatları

No	Alındığı yer	Türü
Ş _{1/1}	Bergama (İZMİR)	Fluoresent Pseudomonas
Ş _{1/2}	Bergama	Fluoresent Pseudomonas
Ş _{2/1}	Bergama	Fluoresent Pseudomonas
Ş _{2/2}	Bergama	Fluoresent Pseudomonas
Ş _{3/1}	Dazkırı (AFYON)	Fluoresent Pseudomonas
Ş _{3/2}	Dazkırı	Fluoresent Pseudomonas
Ş ₄	Bergama	Fluoresent Pseudomonas
Ş ₅	Bergama	Fluoresent Pseudomonas
Ş ₆	Bergama	Fluoresent Pseudomonas
Ş ₇	Bergama	Fluoresent Pseudomonas
Ş ₈	Korkuteli (ANTALYA)	Fluoresent Pseudomonas
Ş ₉	Korkuteli	Fluoresent Pseudomonas
Ş ₁₀	Foça (İZMİR)	Fluoresent Pseudomonas
Ş ₁₁	Foça	Fluoresent Pseudomonas
Ş ₁₂	Foça	Fluoresent Pseudomonas
Ş ₁₃	Foça	Fluoresent Pseudomonas
Ş ₁₄	Korkuteli	Fluoresent Pseudomonas
Ş ₁₅	Korkuteli	Fluoresent Pseudomonas
Ş _{16/1}	Bergama	Fluoresent Pseudomonas
Ş _{16/2}	Bergama	Fluoresent Pseudomonas

No: İzolat No

Bakterilerin İn Vivo ’da Mantar Verimine Etkisi

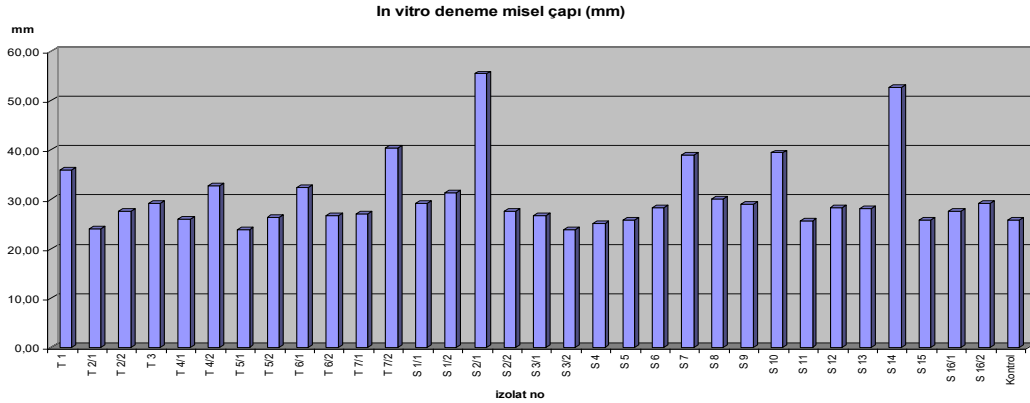
Çalışmadan elde edilen verim değerleri üretim dönemlerine göre ayrı olarak değerlendirilmiştir. In vitro testler sonucunda seçilen bakteri izolatları uygulamaları ve bakteri inokulasyonu yapılmamış kontrol uygulamasının toplam verim üzerine etkisi incelenmiş ve yapılan istatistik analiz sonuçlarına göre verimler arasındaki farklılıklar önemli bulunmuştur (Çizelge 4).

Mart denemesindeki en yüksek verim değeri 27,20 kg 100 kg⁻¹ kompost ile Ş 2/1 nolu izolattan elde edilirken, kontrole kıyasla bakteri uygulamaları %9-30 verim artışı sağlamıştır. Çalışmamızın in vitro denemesinde, *A. bisporus* misel gelişimini kontrole oranla daha az geliştiren bakteri izolatları (T 5/1 ve Ş 3/2) da bu çalışma içerisinde kullanılmıştır. In vitro testlerde olumsuz sonuç

alınan bu iki bakteri izolatının verim denemelerinde de benzer sonuçlar vermesi, *in vitro* testlerin doğruluğunu göstermektedir. Bunun yanında *in vitro* testlerin kısa zamanda sonuçlanması ve pratik olması uygulamanın önemini de artırmaktadır.

Mayıs döneminde, Mart dönemi denemesi sonucunda, mantar verimini artırıcı etkide bulunan 5 adet bakteri izolatu, ikinci üretim denemesine alınmıştır (Çizelge 4). Buna göre en yüksek verim 26,74 kg 100 kg⁻¹ kompost ile

Ş 2/1 ve 26,71 kg 100 kg⁻¹ kompost ile Ş 10 nolu izolat uygulamalarından elde edilmiştir. Toplam verimde bakteri izolatları kontrole oranla %8-17 arasında artış sağlamıştır. Özakcan ve ark. (2000)'nın, *P. fluorescens* 46 A izolatu uygulamasının kontrol uygulamasına oranla kültür mantarı verimini %19 civarında artırdığını saptadıkları çalışmayla elde ettiğimiz bulgular benzerlik göstermektedir.



Şekil 1 *In vitro* denemesi sonucunda bakteri izolatlarına göre *A. bisporus* misel koloni çapının (mm) değişimi.

Çizelge 3 *A. bisporus* miseli ile izole edilen bakteriler arasındaki etkileşim testi sonuçları

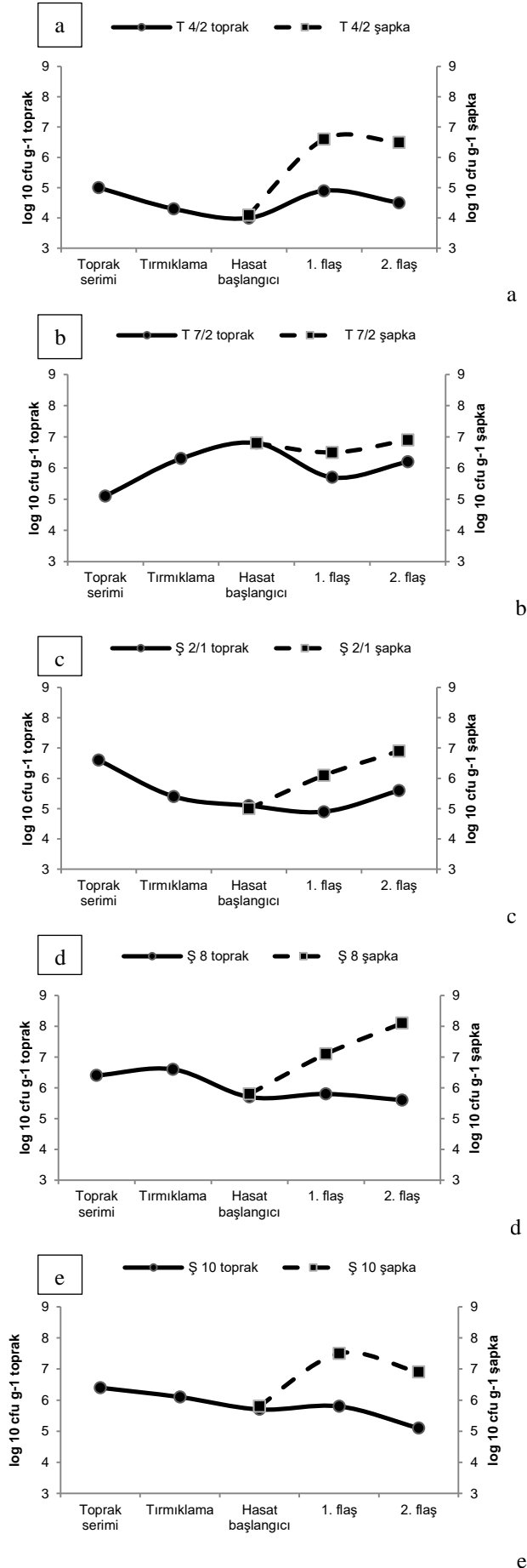
İzolatu no	Ortalama Misel Çapı (mm) **	İzolatu no	Ortalama Misel Çapı (mm)
T 1*	35,92 bcde	Ş 3/2*	23,92 e
T 2/1	24,08 e	Ş 4	25,17 e
T 2/2	27,67 bcde	Ş 5	25,75 de
T 3	29,17 bcde	Ş 6	28,25 bcde
T 4/1	26,00 de	Ş 7*	38,92 bcd
T 4/2*	32,75 bcde	Ş 8*	30,17 bcde
T 5/1*	23,83 e	Ş 9	29,08 bcde
T 5/2	26,33 cde	Ş 10*	39,42 bc
T 6/1*	32,42 bcde	Ş 11	25,58 de
T 6/2	26,67 cde	Ş 12	28,25 bcde
T 7/1	27,00 cde	Ş 13	28,08 bcde
T 7/2*	40,42 b	Ş 14*	52,67 a
Ş 1/1	29,17 bcde	Ş 15	25,83 de
Ş 1/2*	31,42 bcde	Ş 16/1	27,58 bcde
Ş 2/1*	55,42 a	Ş 16/2	29,17 bcde
Ş 2/2	27,58 bcde	Kontrol	25,75 de
Ş 3/1	26,67 cde		

* *In vivo* testler için seçilen bakteri izolatları; **Tekerrürlerde saptanan misel çapı değerlerine uygulanan Duncan testi sonucunda aynı harfle gösterilen uygulamalar arasında P≤0,05 olasılıkla fark yoktur.

Çizelge 4 Mart, Mayıs ve Temmuz dönemleri verim değerleri (kg 100 kg⁻¹ kompost)

Seçilen izolatlar	MART*		MAYIS*		TEMMUZ*	
	(kg 100 kg ⁻¹ kompost)		(kg 100 kg ⁻¹ kompost)		(kg 100 kg ⁻¹ kompost)	
Kontrol	20,93	c	22,88	b	18,44	b
T 1	23,05	bc				
T 4/2	23,72	abc	26,04	ab	25,79	a
T 5/1	23,48	abc				
T 6/1	23,27	abc				
T 7/2	23,05	bc	24,79	ab	22,71	ab
Ş 1/2	23,96	abc				
Ş 2/1	27,20	a	26,74	a	25,86	a
Ş 3/2	22,90	bc				
Ş 7	24,25	abc				
Ş 8	25,32	ab	25,22	ab	22,78	ab
Ş 10	26,12	ab	26,71	a	25,76	a
Ş 14	23,89	abc				

*Tekerrürlerde elde edilen Mart, Mayıs ve Temmuz verim ölçüm değerlerine uygulanan Duncan testi sonucunda aynı harfle gösterilen uygulamalar arasında P≤0,05 olasılıkla fark yoktur



Şekil 2 Seçilen izolatların kolonizasyonu ve zamana bağlı popülasyon değişimi

Temmuz denemesinde, verim değerleri bakımından en yüksek değerler sırasıyla; 25,86 kg 100 kg⁻¹ kompost ile Ş 2/1, 25,79 kg 100 kg⁻¹ kompost ile T 4/2 ve 25,76 kg 100 kg⁻¹ kompost ile Ş 10 no.lu izolat uygulamalarından elde edilmiş ve kontrole oranla her bir uygulamadan %40 verim artışı sağlanmıştır (Çizelge 4). *P. fluorescens* (Nair ve Hayes, 1975; Reddy ve Patrick, 1990), *P. putida* (Eger, 1972; Hayes ve Nair, 1974; Arkan ve ark., 1994) ve *Bacillus* sp. (Park ve Agnihorti, 1969; Curto ve Favelli, 1972; Ahlawat ve Rai, 2000) bakterileri ile yapılan çalışmalarda, pin oluşumunda ve mantar veriminde artış elde edilmiştir. Üç farklı dönemde elde edilen verim çalışmalarının sonuçları ile bu çalışma sonuçları uyum içerisindedir.

Bakterilerin Kolonizasyonuna İlişkin Bulgular

Üretim dönemi boyunca, bakteri izolatlarının topraktaki ve şapkadaki kolonizasyonlarını genel olarak incelediğimizde; T 7/2 nolu izolat haricinde diğer tüm izolatlar hasat periyoduna kadar topraktaki popülasyon yoğunluğu bakımından düşüş göstermiş olsalar bile, belli bir zaman sonra 10⁴ - 10⁵ cfu g⁻¹ toprak düzeylerinde canlılıklarını devam ettirmişlerdir. Bakterilerin şapkadaki kolonizasyon düzeyleri ise hasat başlangıcından itibaren artış göstermiştir (Şekil 2).

Örtü toprağı seriminden sonra topraktan alınan örneklerde T 4/2 ve T 7/2 nolu bakteri izolatlarının yoğunluğu 10⁵ cfu g⁻¹ toprak düzeyinde gerçekleşirken (Şekil 2 a, b), Ş 2/1, Ş 8 ve Ş 10 izolatlarında ise 10⁶ cfu g⁻¹ toprak düzeyinde saptanmıştır (Şekil 2 c, d, e). Hasat başlangıç dönemine kadar Ş 8 ve Ş 10 izolatlarının topraktaki popülasyon yoğunluğunda herhangi bir değişim gerçekleşmezken, hasat başlangıcından sonuna kadar olan dönemlerde ise logaritmik açıdan yaklaşık 10 katı azalış tespit edilmiştir. Diğer taraftan, T 4/2 ve Ş 2/1 izolatlarının topraktaki popülasyon yoğunluğu, örtü toprağı seriminden hasat sonuna kadar geçen süre içerisinde, başlangıç popülasyonuna oranla logaritmik anlamda 10 katı kadar azalış göstererek, canlılığını başarıyla devam ettirmiştir. Bunların aksine, T 7/2 izolatı için tırmıklama ve hasat başlangıç döneminde örtü toprağındaki bakteri kolonizasyonunda, logaritmik açıdan yaklaşık 10 katı artış belirlenmiştir. Hasadın yapıldığı dönemlerde ise 10⁵ - 10⁶ cfu g⁻¹ toprak düzeyinde kalarak canlılıklarını korudukları saptanmıştır.

Şapkalardan alınan örneklerin analizi sonucunda T 4/2, Ş 2/1, Ş 8, Ş 10 ve T 7/2 izolatları için, hasat başlangıcındaki bakteri yoğunluğu sırasıyla; 10⁴, 10⁵, 10⁵, 10⁵ ve 10⁶ cfu g⁻¹ şapka olarak belirlenmiştir (Şekil 2). Kültür mantarının vegetatif gelişimi sırasında bakterilerin örtü toprağındaki toplam mikroflora içindeki oranı %14 iken, şapka oluşumu aşamasında %41'e ulaşmakta (Miller ve ark., 1995; Fermor ve ark., 2000) olduğu belirtilmiştir. T 7/2 nolu izolatın şapkadaki popülasyonunda, iki flaş boyunca elde edilen veriler doğrultusunda herhangi bir değişiklik olmadan, aynı düzeyde kalarak canlılıklarını korudukları belirlenmiştir. Nair ve Hayes (1975) mantar üretiminde *Pseudomonas* sp.'lerin etkinliğini araştırdıkları çalışmada, örtü toprağına bakteri inokulasyonundan (10⁹ cfu ml⁻¹) sonra, çeşitli dönemlerde örtü toprağında gözlemledikleri bakteri popülasyon değerleri, pin oluşum dönemine kadar 10⁵ cfu g⁻¹ toprak düzeylerinde devam etmiş, fakat örtü toprağı seriminden 25 gün sonra ise bu değerlerin 10⁴⁻⁵ cfu g⁻¹ toprak

düzeyine azaldığı tespit edilmiştir. Yine benzer şekilde, bakteri popülasyonu (*P. putida*) ilgili olarak yapılan başka bir çalışmada (Fermor ve ark., 2000), üretim dönemi sonunda örtü toprağından elde edilen değerlerin 10^{7-8} cfu g⁻¹ toprak olduğu belirtilmiştir. Diğer bakteri izolatlarının popülasyon yoğunluğu ise, hasat başlangıcından sonuna kadar artış göstererek $10^6 - 10^7$ cfu g⁻¹ şapka düzeyinde olduğu belirlenmiştir.

Bakteri Tanılama Testlerine İlişkin Bulgular

Biyokimyasal testler sonucunda, T 4/2 ve Ş 8'in *Pseudomonas fluorescens* (sırasıyla *bv. 1* ve *bv. 3*) olduğu, bunun yanında Ş 2/1 ve Ş 10 nolu izolatların ise *Pseudomonas putida* olduğu tanımlanmıştır. Ayrıca, Gram (+) bir bakteri olan T 7/2 nolu izolatin ise, API 50 CH (Biomereux) tanı kitleri sonucunda *Bacillus mycoides* olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç

Fluorescent Pseudomonasların mantarda şapka oluşumunu uyarıcı ve verimi artırıcı etkilerinin mekanizması, çeşitli araştırmacılar tarafından ortaya konmuştur (Whitney ve Amott, 1987; Masaphy ve ark., 1987; Rainey, 1991). Bunun yanında mantar verimi üzerine *Bacillus* sp.'lerin (*B. psilocybe*, *B. megaterium*, *B. circulans* ve *B. thuringiensis*) etkisi, çeşitli araştırmacılar tarafından çalışılmış (Urayama, 1961; Ahlawat ve Verma, 1999; Ahlawat ve Rai, 2000), fakat bu bakterilerin mantarda şapka oluşumunu uyarıcı ve verimi artırıcı etkilerinin mekanizması konusunda herhangi bir görüş ileri sürülmemiştir. Çalışma sonucunda, *B. mycoides* olarak tanımlanan Gram (+) bakteri ile ilgili olarak, sadece bitki gelişimini artırıcı etkileri (PGPR) Garbeva ve ark. (2003) ve Antoun ve Prevost (2005) tarafından bildirilmiştir. Bundan sonra yapılacak çalışmalarla *Bacillus* sp.'lerin kültür mantarı üzerine şapka oluşumunu uyarıcı ve verimi artırıcı etkilerinin mekanizmasının belirlenmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

Teşekkür

Bu çalışma, Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiş (Proje No: 2008-BİL-010) Doktora tez çalışmasının bir bölümüdür.

Kaynaklar

Ahlawat OP. 1998. Effect of bacterial inoculants on mycelial growth, pinning, yield and quality of the white button mushroom (*A.bisporus*). Journal of Scientific and Industrial Research, 57: 686-691.

Ahlawat OP, Verma RN. 1999. *Alcaligenes faecalis* – a potent bacterial inoculant for improving yield/quality of *Agaricus bisporus* strain U3. Proceedings of the 3rd International Conference on Mushroom Biology and Products, Sydney, Australia.

Ahlawat OP, Rai RD. 2000. Bacterial inoculants and their effect on the pinning, yield and false truffle disease incidence in *Agaricus bitorquis*. The International Society for Mushroom Science, 15(2), Article 31.

Antoun H, Prevost D. 2005. Ecology of Plant Growth Promoting Rhizobacteria. In: Siddiqui ZA (ed.). PGPR: Biocontrol and Biofertilization, pp: 1-38.

Arkan O, Aksöz N, Güler P. 1994. Kültür mantarı *Agaricus bisporus* fruktifikasyonları ile örtü toprağı izolatu *Pseudomonas* sp. etkileşimleri. Tr. J. of Biology, 18: 213-222.

Bora T, Özaktan H. 1998. Bitki Hastalıklarıyla Biyolojik Savaş. Prizma Matbaası, İzmir.

Boztok K. 1990. Mantar Üretim Tekniğı. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, No: 489, Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova-İzmir.

Cochet N, Gillman A, Lebeault JM. 1992. Some biological characteristics of the casing soil and their effect during *Agaricus bisporus* fructification. Acta Biotechnol., 12 (5): 411-419.

Cresswell PA, Hayes WA. 1979. Further investigations on the bacterial ecology of the casing layer. Mush. Sci., 10: 347-359.

Curto S, Favelli F. 1972. Stimulative effect on certain microorganisms (bacteria, yeast, microalgae) upon fruitbody formation of *A. bisporus* (Lange) Sing. Mushroom Science 8: 67-74.

Düzgüneş O, Kesici T, Gürbüz F. 1983. İstatistik metotları I, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi yayınları, No: 861, Ders kitabı, Ankara.

Eger G. 1972. Experiments and comments on the action of bacteria on sporophore initiation in *Agaricus bisporus*. Mushroom Science 8: 719-726.

Fermor T, Lincoln S, Noble R, Dobrovin-Pennington A, Colauto N. 2000. Microbiological properties of casing. Science and Cultivation of Edible Fungi. Mushroom Science 15: 447-454.

Garbeva P, Van Veen JA, Van Elsas JD. 2003. Predominant *Bacillus* spp. in agricultural soil under different management regimes detected via PCR-DGGE. Microb. Ecol., 45: 302-316.

Geels FP, Schippers B. 1983. Reduction of Yield Depressions in High Frequency Potato Cropping Soil After Seed Tuber Treatments with Antagonistic Fluorescent *Pseudomonas* spp. Journal of Phytopathology, 108: 207-214.

Günay A, Abak K, Koçyiğit AE. 1992. Mantar Yetiştirme. Cilt IV, Saypa Kitap ve Yayınevi Ankara.

Hayes WA, Nair NG. 1974. Effects of volatile metabolic by products of mushroom mycelium on the ecology of casing layer. Mushroom Science, 9: 259-268.

Hayes WA. 1980. Solid state fermentation and cultivation of edible fungi in the fungal biotechnology. In: Smith JE, Berry DR, Kristiansen B. (Eds.). Academic Press, London, pp: 175-202.

King EO, Ward MK, Raney DE. 1954. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. J. Lab. Clin. Med., 44: 301-307.

Lelliott RA, Stead DE. 1987. Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants, Blackwell Scientific Publications, Oxford.

Masaphy S, Levanon D, Tchelet R, Henis Y. 1987. Scanning electron microscope studies of interactions between *Agaricus bisporus* (Lang) Sing hyphae and bacteria in casing soil. Applied and Environm. Microbiol., 53(5):1132-1137.

Miller N, Gillespie JB, Owen PED. 1995. The involvement of microbiological components of peat based casing material in fructification of *Agaricus bisporus*. The International Society for Mushroom Science, 14(1), Article 38.

Nair NG, Hayes WA. 1975. Some effects of casing soil amendments on mushroom cropping. Aust. J. Agric. Res., 26: 181-188.

O'Donoghue DC. 1962. New light on fruit body initiation. Mushroom Science 5: 247-249.

O'Donoghue DC, Ryan JP. 1991. Influence of wide range of bacteria, actinomycetes and fungi on mycelial growth of *A. bisporus* (Lange) Sing. and the special fruiting requirement of *A. bisporus*. Mushroom Science, 10: 753-759.

- Özaktan H, Bora T, Göre E. 2000. Fluoresent pseudomonasların kültür mantarının gelişimine uyarıcı etkileri üzerinde araştırmalar. Türkiye VI. Yemeklik Mantar Kongresi, 295-301.
- Park JY, Agnihotri VP. 1969. Bacterial metabolites trigger sporophore formation in *Agaricus bisporus*. Nature, 222: 984, doi:10.1038/222984a0.
- Peerally A. 1978. Sporophore initiation in *A. bisporus* and *A. bitorquis* in relation to bacteria and activated charcoal. Mushroom Science, 10: 611-639.
- Rainey PB. 1991. Effect of pseudomonas putida on hyphal growth of *Agaricus bisporus*. Mycol. Res., 95 (6): 699-704.
- Reddy MS, Patrick ZA. 1990. Effect of bacteria associated with mushroom compost and casing materials on basidiomata formation in *Agaricus bisporus*. Canadian Journal of Plant Pathology, 12: 236-242.
- Saygılı H, Şahin F, Aysan Y. 2006. Fitobakteriyoloji. Meta Basım, İzmir.
- Stockwell VO, Johnson KB, Loper JE. 1998. Establishment of bacterial antagonists of *E. amylovora* on pear and apple blossoms as influenced by inoculum preparation. Phytopathology, 88: 506-513.
- Urayama T. 1961. Stimulative effect of certain bacteria on *A.bisporus* (Lange) Sing. Botany Magazine Tokyo, 74: 56-59.
- Urayama T. 1967. Initiation of pinheads in *Psilocybe panaeliformis* caused by certain bacteria. Mush Sci., 6: 141-156.
- Whitney KD, Amott HJ. 1987. Calcium oxalate morphology and development in *Agaricus bisporus*. Mycologia, 79 (2): 180-187.