

**T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI *Basidiomycetes* TÜRLERİNİN EKSTRASELÜLER
ENZİMLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

HİLAL ACAY

DOKTORA TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**DİYARBAKIR
TEMMUZ 2009**

**T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI *Basidiomycetes* TÜRLERİNİN EKSTRASELÜLER
ENZİMLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

HİLAL ACAY

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN: Prof. Dr. Abdunnasır YILDIZ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**DİYARBAKIR
TEMMUZ 2009**

T.C
DICLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ
DİYARBAKIR

HİLAL ACAY tarafından yapılan bu çalışma, jürimiz tarafından BİYOLOJİ Anabilim Dalında DOKTORA/YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyesinin

	<u>Ünvanı</u>	<u>Adı Soyadı</u>
Başkan	:	
Üye	:	
Üye	:	
Üye	:	
Üye	:	

Yukarıdaki bilgilerin doğruluğunu onaylarım.

...../...../.....

.....

ENSTİTÜ MÜDÜRÜ

(MÜHÜR)

ÖZET

BAZI *Basidiomycetes* TÜRLERİNİN EKSTRASELÜLER ENZİMLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Beyaz çürükçül funguslar, *Basidiomycotina* sınıfına dahil olup, yüksek miktarda enzim sentezleme yeteneğine sahiptirler. Bu özellikleri biyoteknolojideki önemlerini daha da artırmaktadır.

Bu araştırmada, Diyarbakır-Mardin yöresinde doğal olarak yetişen bazı beyaz çürükçül funguslar tespit edilerek, bu türlerin ürettiği ekstrasellüler enzimler incelenmiştir. Dokuz *Basidiomycetes* suşunun incelendiği peynir altı suyu (PAS) ve saboroud dekstroz broth (SDB) ortamında, enzim indükleyici olarak pamuk sapı (P) kullanılmıştır. Bu çalışmada, bütün türlerde Lakkaz, Mangan peroksidaz (MnP) ve Lignin peroksidaz (LiP) aktiviteleri gözlenmiştir. En yüksek Lakkaz aktiviteleri 150,47 ve 100,24 U/ml olarak sırasıyla; *Amillariella tabescens* 1' in SDB+P ve *A. tabescens* 2' nin PAS+P ortamlarında tespit edilmiştir. Çalışmada kullanılan *Fomes fomentarius* 1 ve *F. fomentarius* 2 suşları, MnP ve LiP aktiviteleri göz önüne alındığında dikkate değerdir.

Yapılan çalışmada pamuk sapının enzim aktivitelerini indüklediği açıkça görülmektedir. Bu türler ve pamuk sapının biyoteknolojik uygulamalarda değerlendirilmesi gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Basidiomycetes*, Lignolitik Enzimler, Biyoteknoloji, Pamuk Sapı, Peynir Altı Suyu

ABSTRACT

INVESTIGATION ON EXTRACELLULAR ENZYMES OF SOME

Basidiomycetes SPECIES

White-rot fungi, in *Basidiomycotina* class, are capable of synthesizing high enzyme. These characteristics increase their importance in biotechnology.

In this study, determining some white-rot fungi which grow naturally in Diyarbakır- Mardin province, extracellular enzymes that these species produce were studied. Nine *Basidiomycetes* strains were investigated in whey (PAS) and saboroud dekstroz broth (SDB) medium in which cotton straw was used as enzyme inducer. In this study Laccase, Manganese peroxidase (MnP) and Ligninase peroxidase (LiP) activation was observed in all species. The highest Laccase activation was determined as 150,47 and 100.24 U/ml in *Amillariella tabescens* 1 SDB+P and *A. tabescens* 2 PAS+P mediums, respectively. When MnP and LiP activations were considered, *Fomes. fomentarius* 1 and *F. fomentarius* 2 strains that were used in the study were remarkable.

In this study, it is obviously seen that cotton straw induced enzyme activations. These species and cotton straw must be evaluated in the biotechnological application.

Key Words: *Basidiomycetes*, Ligninolytic Enzymes, Biotechnology, Cotton straw, Whey.

ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

Doğanın, değişik özellikleri bünyesinde barındıran organizmaların en büyük kaynağı olduğu ve bu organizmaların araştırılması durumunda yeni ufukların açılabileceğini düşünmekteyiz. Bu doğrultuda, bana doğadan kaynak edinmemi öneren bilgi ve deneyimleriyle yol gösterip sabrı ve anlayışıyla bana örnek olan Dicle Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyelerinden çok değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Abdunнасır YILDIZ'a teşekkür ederim.

Çalışmamın deney aşamasında yaptıkları yardımlardan dolayı, Hacettepe Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyelerinden çok değerli hocam Sayın Prof. Dr. Nazif KOLANKAYA'ya, Osmangazi Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyelerinden çok değerli hocam Sayın Doç. Dr. Ahmet ÇAKMAK'a, ve Dicle Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyelerinden çok değerli hocam Sayın Doç. Dr. Fikret UYAR'a teşekkürlerimi sunarım.

Hem deney hem de yazım aşamasında desteğini gördüğüm sevgili arkadaşlarım Arş. Gör. Aleattin KAYA, Yrd. Doç. Dr. Numan YILDIRIM ve çok yakın dostlarım Arş. Gör. Fatma MATPAN ve Abdurrahman DÜNDAR'a sonsuz teşekkürler ederim.

Hayatımın her aşamasında yanımda olup beni yalnız bırakmayan çok sevgili aileme ve hayatıma yeni bir renk katan eşime çok teşekkür ederim.

Ayrıca doktora çalışmamın bir kısmı DÜBAP 07-02-15 Nolu proje ile desteklenmiştir. DÜBAP yöneticilerine desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER	SAYFA
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ	vi
GRAFİKLER DİZİNİ	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. KAYNAKLAR	5
2. KAYNAK TARAMASI	8
2.1. LİGNOLİTİK SİSTEMLERLE İLGİLİ ÇALIŞMALAR.....	8
2.2. ENZİM ÜRETİMİ İLE İLGİLİ ÇALIŞMALAR.....	13
2.3. KAYNAKLAR.....	31
3. MATERYAL- METOT	40
3.1. MATERYAL.....	40
3.2. METOT.....	40
3.2.1. Elde Edilen Funguslardan Ana Kültürlerin Elde Edilmesi.....	40
3.2.2. Makrofungusların Prekültürasyonu.....	41
3.2.3. Submerged Kültür Koşullarının Hazırlanması.....	41
3.2.4. Submerged Kültür Koşullarında Gelişen Mikroorganizmalarda Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi.....	42
3.2.5.Uygun Tamponların Hazırlanması ve Enzim Aktivitelerinin Hesaplanması..	43
3.2.5.1.1. Enzim aktivite tayin yöntemleri.....	43

3.2.5.1.1.1. MnP enzim aktivitesi ölçümü.....	43
3.2.5.1.1.2. LiP enzim aktivitesi ölçümü.....	44
3.2.5.1.1.3. Lakkaz enzim aktivitesi ölçümü.....	46
3.3. VERİLERİN İSTATİSTİK ANALİZİ	47
3.4. KAYNAKLAR.....	49
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	50
4.1. TÜRLERİN TESPİTİ.....	50
4.2. LİGNOLİTİK ENZİM ÜRETİMİ	51
4.2.1. Submerged Fermentasyon Koşullarında Lakkaz Enzimi Üzerine Farklı Ortamların Etkisi	51
4.2.2. Submerged Fermentasyon Koşullarında MnP Enzimi Üzerine Farklı Ortamların Etkisi	53
4.2.3. Submerged Fermentasyon Koşullarında LiP Enzimi Üzerine Farklı Ortamların Etkisi	55
4.2.4. PAS Ortamında 15 Günlük Fermentasyon Süresinde Lakkaz, MnP Ve LiP Aktivitesi	57
4.2.5. SDB Ortamında 15 Günlük Fermentasyon Süresinde Lakkaz, MnP Ve LiP Aktivitesi	59
4.2.6. PAS+P Ortamında 15 Günlük Fermentasyon Süresinde Lakkaz, MnP ve LiP Aktivitesi	61
4.2.7. SDB+P Ortamında 15 Günlük Fermentasyon Süresinde Lakkaz, MnP ve LiP Aktivitesi	62
4. 3. KAYNAKLAR.....	113
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	120
ÖZGEÇMİŞ.....	123

ÇİZELGELER

SAYFA

Çizelge 3.1: Çalışmada kullanılan türler ve tespit edildiği yerler.....	48
Çizelge 4.1: Submerged Koşullarda Fermantasyonun 7. Gününde Ortamların Lakkaz Üzerine Etkisi.....	65
Çizelge 4.2: Submerged Koşullarda Fermantasyonun 10. Gününde Ortamların Lakkaz Üzerine Etkisi.....	66
Çizelge 4.3: Submerged Koşullarda Fermantasyonun 15. Gününde Ortamların Lakkaz Üzerine Etkisi.....	67
Çizelge 4.4: Submerged Koşullarda Fermantasyonun 7. Gününde Ortamların MnP Üzerine Etkisi.....	68
Çizelge 4.5: Submerged Koşullarda Fermantasyonun 10. Gününde Ortamların MnP Üzerine Etkisi.....	69
Çizelge 4.6: Submerged Koşullarda Fermantasyonun 15. Gününde Ortamların MnP Üzerine Etkisi.....	70
Çizelge 4.7: Submerged Koşullarda Fermantasyonun 7. Gününde Ortamların LiP Üzerine Etkisi.....	71
Çizelge 4.8: Submerged Koşullarda Fermantasyonun 10. Gününde Ortamların LiP Üzerine Etkisi.....	72
Çizelge 4.9: Submerged Koşullarda Fermantasyonun 15. Gününde Ortamların LiP Üzerine Etkisi.....	73
Çizelge 4.10: Submerged Koşullarda Fermantasyonun 7. Gününde PAS Ortamının Türlerin Ürettiği Lakkaz, MnP Ve LiP Üzerine Etkisi.....	74
Çizelge 4.11: Submerged Koşullarda Fermantasyonun 10. Gününde PAS Ortamının Türlerin Ürettiği Lakkaz, MnP Ve LiP Üzerine Etkisi.....	75

Çizelge 4.12: Submerged Koşullarda Fermantasyonun 15. Gününde PAS Ortamının Türlerin Ürettiği Lakkaz, MnP Ve LiP Üzerine Etkisi.....	76
Çizelge 4.13: Submerged Koşullarda Fermantasyonun 7. Gününde SDB Ortamının Türlerin Ürettiği Lakkaz, MnP Ve LiP Üzerine Etkisi.....	77
Çizelge 4.14: Submerged Koşullarda Fermantasyonun 10. Gününde SDB Ortamının Türlerin Ürettiği Lakkaz, MnP Ve LiP Üzerine Etkisi.....	78
Çizelge 4.15: Submerged Koşullarda Fermantasyonun 15. Gününde SDB Ortamının Türlerin Ürettiği Lakkaz, MnP Ve LiP Üzerine Etkisi.....	79
Çizelge 4.16: Submerged Koşullarda Fermantasyonun 7. Gününde PAS+P Ortamının Türlerin Ürettiği Lakkaz, MnP Ve LiP Üzerine Etkisi.....	80
Çizelge 4.17:Submerged Koşullarda Fermantasyonun 10.Gününde PAS+P Ortamının Türlerin Ürettiği Lakkaz, MnP Ve LiP Üzerine Etkisi.....	81
Çizelge 4.18:Submerged Koşullarda Fermantasyonun 15.Gününde PAS+P Ortamının Türlerin Ürettiği Lakkaz, MnP Ve LiP Üzerine Etkisi.....	82
Çizelge 4.19: Submerged Koşullarda Fermantasyonun 7.Gününde SDB+P Ortamının Türlerin Ürettiği Lakkaz, MnP Ve LiP Üzerine Etkisi.....	83
Çizelge 4.20: Submerged Koşullarda Fermantasyonun 10. Gününde SDB+P Ortamının Türlerin Ürettiği Lakkaz, MnP Ve LiP Üzerine Etkisi.....	84
Çizelge 4.21: Submerged Koşullarda Fermantasyonun 15. Gününde SDB+P Ortamının Türlerin Ürettiği Lakkaz, MnP Ve LiP Üzerine Etkisi.....	85

GRAFİKLER**SAYFA**

Grafik 4.1: <i>C. versicolor</i> 1' in Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki Lakkaz Aktiviteleri	86
Grafik 4.2: <i>C. versicolor</i> 2' nin Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki Lakkaz Aktiviteleri.....	87
Grafik 4.3: <i>A. aegerita</i> 1' in Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki Lakkaz Aktiviteleri.....	88
Grafik 4.4: <i>A. aegerita</i> 2' nin Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki Lakkaz Aktiviteleri.....	89
Grafik 4.5: <i>A. tabescens</i> 1' in Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki Lakkaz Aktiviteleri.....	90
Grafik 4.6: <i>A. tabescens</i> 2' nin Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki Lakkaz Aktiviteleri.....	91
Grafik 4.7: <i>P. ostreatus</i> ' un Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki Lakkaz Aktiviteleri.....	92
Grafik 4.8: <i>F. fomentarius</i> 1' in Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki Lakkaz Aktiviteleri.....	93
Grafik 4.9: <i>F. fomentarius</i> 2' nin Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki Lakkaz Aktiviteleri.....	94
Grafik 4.10: <i>C. versicolor</i> 1' in Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki MnP Aktiviteleri.....	95
Grafik 4.11: <i>C. versicolor</i> 2' nin Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki MnP Aktiviteleri.....	96

Grafik 4.12: <i>A. aegerita</i> 1' in Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki MnP Aktiviteleri.....	97
Grafik 4.13: <i>A. aegerita</i> 2' nin Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki MnP Aktiviteleri.....	98
Grafik 4.14: <i>A. tabescens</i> 1' in Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki MnP Aktiviteleri.....	99
Grafik 4.15: <i>A. tabescens</i> 2'nin Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki MnP Aktiviteleri.....	100
Grafik 4.16: <i>P. ostreatus</i> ' un Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki MnP Aktiviteleri.....	101
Grafik 4.17: <i>F. fomentarius</i> 1' in Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki MnP Aktiviteleri.....	102
Grafik 4.18: <i>F. fomentarius</i> 2' in Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki MnP Aktiviteleri.....	103
Grafik 4.19: <i>C. versicolor</i> 1'in Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki LiP Aktiviteleri.....	104
Grafik 4.20: <i>C. versicolor</i> 2'nin Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki LiP Aktiviteleri.....	105
Grafik 4.21: <i>A. aegerita</i> 1' in Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki LiP Aktiviteleri.....	106
Grafik 4.22: <i>A. aegerita</i> 2' nin Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki LiP Aktiviteleri.....	107
Grafik 4.23: <i>A. tabescens</i> 1' in Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki LiP Aktiviteleri.....	108

Grafik 4.24: <i>A. tabescens</i> 2' in Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki LiP Aktiviteleri.....	109
Grafik 4.25: <i>P. ostreatus</i> ' un Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki LiP Aktiviteleri.....	110
Grafik 4.26: <i>F. fomentarius</i> 1' in Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki LiP Aktiviteleri.....	111
Grafik 4.27: <i>F. fomentarius</i> 2' nin Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki LiP Aktiviteleri.....	112

SİMGELER VE KISALTMALAR

°C: Santigrat celcius

C/N: Karbon-Azot oranı

CO₂: Karbondioksit

H₂O₂: Hidrojen peroksit

ELİSA: Enzim ilintili immün test

KNO₃: Potasyum nitrat.

NH₄Cl: Amonyum klorür

(NH₄)₂SO₄: Amonyum sülfat

NH₄H₂PO₄: Amonyum fosfat

NH₄NO₃: Amonyum nitrat

PMSF: Fenilmetilsülfanilflorid

DMP: Dimethoksifenol

MnSO₄: Mangan sülfat

ΔAbs: Delta absorbans

1. GİRİŞ

Dünyada, insan sağlığını tehdit eden çevre kirliliğinin ortadan kaldırılması için yoğun bir şekilde araştırmalar yapıldığı bilinmektedir. Bir taraftan da sanayi ile tarımsal üretim sonucu elde edilen atıkların yer kürede oluşturduğu kirliliğin giderilmesi ve mümkün ise bunun ekonomik bir getiri haline dönüştürülmesi konusunda büyük çabalar sarf edilmektedir. Bu atıkların arındırılması işlemleri, şirketlere büyük finansal sorunlar yaratmıştır. Amerika Birleşik Devletleri'nde geçmişte birçok şirket çevresel kirliliğe neden olan atıkların giderilmesi için harcadıkları parasal kaynak nedeniyle mali krize girmiştir. Bu nedenle soruna çözüm bulmakta başarısız olmuşlardır. Amerika Birleşik Devletleri'nde tehlikeli atıkların artırılmasında kullanılan maliyetin toplam gideri; 0.5 - 1 trilyon dolar arasında olduğu tahmin edilmektedir.¹ Bu açıdan ekolojik ve ekonomik nedenlerle, bu atıkların bertaraf edilmesinde biyolojik parçalanma yönteminin popülaritesi artmaktadır.

Bitkilerdeki lignoselülozik biyokütle, yenilenebilen besin, enerji ve kimyasal maddelerin kaynağıdır. Bitkisel biyokütle, total biyokütle üretiminin %60'ından fazladır. Lignoselülozik atıklar, büyük ölçüde ziraat, orman, kağıt ve odun hamuru endüstrilerinden sağlanır. Bu atıkların kullanımı karbonun, enerji ve besine dönüşümünde önemli bir yoldur.²

Fotosentetik olarak fikse edilen karbondan meydana gelmiş olan bitki biyokütlesi lignin, selüloz ve hemisellülozdan oluşmuştur. Gymnosperm ve Angiosperm'lerin odunsu hücre duvarının %15-30'unu oluşturan lignin, selülozdan sonra bitki bünyesinde en bol bulunan doğal polimerdir. Lignin, selülozun çevresinde bir matriks şeklinde yer alır ve bu kabuk şeklindeki yapıdan dolayı selülozun mikrobiyal yıkımı geciktirilir. Bu nedenle lignin yıkımı global karbon döngüsündeki

en önemli basamak olarak kabul edilmektedir. Ayrıca bu karmaşık polimerin bitki bünyesinde yer alması, endüstriyel işlemlerin büyük çoğunluğunda selüloz kullanımına da engel olmaktadır.³

Doğada, odunda çürükçül olan *Basidiomycetes* sınıfı üyeleri farklı ekolojik alanlarda yetişmektedir. Ekolojik istek farklılıkları beyaz, kahverengi ve yumuşak çürükçül *Basidiomycetes*'in besinlerini farklı yollardan sağlamalarına neden olmaktadır. Bu nedenle, lignoselüloolitik enzimlerin sentezi ve oluşumu için farklı mekanizmalar geliştirmişlerdir.⁴

Lignoselülozik materyallerin büyük bileşenleri olan selüloz, hemiselüloz ve lignini etkin bir şekilde parçalayan organizmalar beyaz çürükçül *Basidiomycetes* türleridir. Bu mikroorganizmalar, Selüloz, Pektinaz, Ksilanaz gibi hidrolitik, Lignin peroksidaz, Mangan peroksidaz, Lakkaz gibi lignolitik ekstra selüler enzimleri salarak büyük molekül ağırlıklı bileşikleri küçük moleküler ağırlıklı bileşiklere dönüştürerek besinlerini sağlamaktadırlar.⁵

Endüstriyel öneme sahip enzimler ve enzim üreten organizmaların önemi; bioremediasyon, kağıt hamurunun beyazlaştırılması, parçalanması, parçalanması zor maddelerin detoksifikasyonu ve besin endüstrisi gibi endüstriyel işlemlerdeki önemi her geçen gün daha da artmaktadır. Birçok enzim üreticisi, enzim üretimi için submerged fermentasyon tekniğini kullanmaktadır. Nitekim, bu enzimlerin verimli üretimi; düşük maliyetli olmalarından dolayı biyoteknolojik uygulamalar için cazip görünmektedir.⁶

Birçok araştırmacı biyoteknolojide önemli olan ve beyaz çürükçüller tarafından üretilen enzimlerin üretiminin artırılmasıyla ilgilenmişlerdir.^{7,8,9}

Beyaz çürükçül mantarlar ve mantarlardan saflaştırılan enzimlerin kullanıldığı biyoteknolojik çalışmalara pek çok örnek vermek mümkündür.¹⁰ Bunlar arasında;

1. Enzim üretiminde kullanımı
2. Ağır metallerin biyolojik adsorpsiyonunda kullanımı
3. Boyar maddelerin ve tekstil fabrikası atık sularının renginin gideriminde kullanımı
4. Kağıt ve kağıt hamuru üreten endüstrilerde ligninin parçalanmasında kullanımı
5. Zeytinyağı fabrikası atık suyunun arıtımında/renginin giderimin de kullanımı
6. Mikrobiyal protein kaynağı olarak kullanımı
7. Hormon üretiminde kullanımı
8. Pestisid ve herbisidlerin biyolojik yıkımında kullanımı
9. Kağıt, tekstil ve petrokimya endüstrilerinden alıcı ortama bırakılan endüstriyel atıkların toksisitesinin azaltılmasında kullanımı
10. Anti-kanser ilaçlarının üretiminde katalizör olarak kullanımı
11. Son zamanlarda kozmetik ve dermatolojik ürünlerin hazırlanmasında kullanımı
12. Nanobiyoteknoloji alanında biosensor olarak kullanımı

Beyaz çürükçül fungusların lignolitik enzim kompleksleri önemli ölçüde birbirinden farklıdır. Bu türlerden bazıları lignin parçalanması için sadece bir enzim salgılamakta, bazıları üçten fazla enzim salgılamaktadırlar.¹¹

Lignin peroksidaz; yüksek oksidasyon potansiyeli olan bir hem proteindir. Bu enzim fenolik ve fenolik olmayan maddeleri oksitleyebilmektedir. Mangan peroksidaz, doğal ve sentetik lignini cansız ortamda dipolimerize ettiği belirtilmesine rağmen, fenolik olmayan maddeleri okside edemediği düşünülmektedir.⁶

Multi bakır oksidaz ezim grubundan olan Lakkaz moleküler oksijeni harcayarak maddelerin monoelektronik oksidasyonunu katalizlemektedir.¹² Lakkaz üretimi kültür ortamının kompozisyonu, C/N oranı, pH derecesi, sıcaklığı, havalandırılması gibi birçok faktörden etkilenmektedir. Dahası birçok aromatik bileşik, Lakkaz üretimini geniş ölçüde tetiklemektedir.^{13,14,9} Master ve Field¹⁵'e (1998) göre lignolitik enzimler azotun sınırlandırılması koşulu altında sekonder metabolit olarak oluşurlar. Ancak, *Pleurotus ostreatus*'da ortamdaki yükek azot konsantrasyonu lignin mineralizasyonunu solumule etmektedir.¹⁶ Görüldüğü gibi enzim üretimi birçok faktörden etkilenmektedir.

Biyoteknolojik işlemlerde çok miktarda ve düşük maliyetli enzimlerin gerekliliğinden dolayı, üretim için lignoselülozik atıkların kullanılması ve lignolitik enzimleri verimli üretebilen türlerin tespiti takdir edilebilecek bir yaklaşım olarak görülmektedir.¹¹ Günümüzde ise, *Phanerochaete chrysosporium* ve *Coriolus versicolor* biyoteknolojik çalışmalarda yoğun olarak kullanılmaktadır.¹⁷ Ancak biyoteknolojik çalışmalarda çok önemli olan ve geniş kullanım alanı bulunan beyaz çürükçüllerin, buna bağlı olarak fungusların ürettiği enzimlerin farklı izoformlarının bulunabileceği göz önüne alınarak, yeni türlerin araştırılması ve enzimlerinin karakterizasyonunun yapılması gerekmektedir.

Bu araştırmada, Mardin ve Diyarbakır illerinde doğal olarak yetişen bazı beyaz çürükçül fungusların ürettiği ekstrasellüler enzimler araştırılmıştır.

1.1. KAYNAKLAR

1. Steven, D. A.; Benson, J. T., *The Fungus Among Us: Use of White Rot Fungi to Biodegrade Environmental Pollutants, Environmental Health Perspectives*, **1993**, 101(3), Erişim: <http://www.ehponline.org/docs/1993/101-3/innovations.html>
2. Lankinen, P., *Lignolitic Enzymes of The Basidiomycetous Fungi Agaricus bisporus and Phlebia radiata on Lignocellulose-Containing Media, Academic Dissertation In Microbiology, Helsinki, 2004.*
3. Sık, S.; Ünyayar, A., *Pamuk Sapı ile Phanerochaete chrysosporium ve Funalia trogii'nin Yarı-Katı Fermentasyonu Sonucu Olusan Lakkaz, Peroksidaz, Ligninaz ve Selüloz Aktiviteleri, Turkish Journal of Biology*, **1998**, 22, 287-298.
4. Mikiashvili, N., Wasser, S.; Nevo, E.; Chichua, D.; Elisashvili, V., *Lignocellulolytic Enzyme Activities of Medicinally İmportant Basidiomycetes from Different Ecological Niches, International Journal of Medicinal Mushroom*, **2004**, 6, 63-71.
5. Elisashvili, V.; Penninckx, M.; Kachlishvili, E.; Asatiani, M.; Kvesitadze, G., *Use of Pleurotus Dryinus for Lignocellulolytic Enzymes Production in Submerged Fermentation of Mandarin Peels and Tree Leaves. Enzyme Microb Technology*, **2006**, 38, 998–1004.
6. Papinutti, V.L.; Forchiassin, F., *Lignocellulolytic Enzymes From Fomes Sclerodermeus Growing in Solid-State Fermentation, Journal of Food Engineering*, **2007**, 81, 54–59.

7. Birhanli, E.; Yesilada, Ö., *Increased Production of Laccase by Pellets Of Funalia Trogii ATCC 200800 and Trametes Versicolor ATCC 20080 in Repeated-Batch Mode, Enzyme and Microbial Technology*, **2006**, 39 (6), 1286-1293.
8. Kaluskar, V. M. ; Kapadnis, B. P.; Jaspers, C.; Pennickx, M. J.; *Production of Laccase by Immobilized Cells of Agaricus Sp., Applied Biochemistry and Biotechnology*, **1999**, 76.
9. Ardon, O.; Kerem, Z.; Hadar, Y., *Enhancement of Laccase Activity in Liquid Cultures of The Ligninolytic Fungus Pleurotus Ostreatus by Cotton Stalk Extract, Journal of Biotechnology*, **1996**, 51, 201-207.
10. Mercimek, H. A., *Trametes Versicolor'in Tekstil Boyalarının Gideriminde Kullanım Olanakları*, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, s, 11-12 , **2007**.
11. Songulashvili, G.; Elisashvili, V.; Wasser, S. P.; Nevo, E.; Hadar, Y., *Basidiomycetes Laccase and Manganese Peroxidase Activity in Submerged Fermentation of Food Industry Wastes, Enzyme and Microbial Technology*, **2007**, 41(1-2), 57-61.
12. Riva, S., *Laccases: Blue Enzymes for Green Chemistry, Trends in Biotechnology*, **2006**, 24, 219-226.
13. Arora, D. S.; Gill, P. K., *Comparison of Two Assay Procedures for Lignin Peroxidase, Enzyme Microb. Technol.*, **2001**, 28,602–605.

14. Mansur, M.; Sua' rez, T.; Ferna' ndez-Larrea, J. B.; Brizuela, M. A.; Gonzalez, A. E., *Identification of a Laccase Gene Family in The New Lignin-Degrading Basidiomycete CECT 20197, Apply Environment Microbiology*, **1997**, 63, 2637–2646.
15. Master, T.; Field, J. A., *Characterization of a Novel Manganese Peroxidase-Lignin Peroxidase Hybrid Isozyme Produced by Bjerkandera Species Strain BOS55 in The Absence of Manganese, J. Biol. Chem.*, **1998**, 273, 15412-15417.
16. Kaal, J E.E.; Field, J.A.; Joyce T.W., *Increasing Ligninolytic Enzyme Activities in Several White-Rot Basidiomycetes by Nitrogen-Sufficient Media, Bioresource Technology*, **1995**, 53, 133- 139.
17. Cing, S., *Tekstil Boyalarının Renginin Gideriminde Mikroorganizma Kullanımı*, Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi, Malatya, **2001**.

2. KAYNAK TARAMASI

2.1. LİGNOLİTİK SİSTEMLERLE İLGİLİ ÇALIŞMALAR

Bitkilerdeki lignoselülozik materyal, üç temel bileşenden oluşmaktadır. Bunlar, lignin, selüloz ve hemiselüloz bileşenleridir. Selüloz, glikoz ünitelerinin β -1,4 glikozidik bağlarıyla bağlanılmasıyla oluşan lineer bir homopolimerdir. Hemiselüloz, kısa dallı heksoz zincirler içeren heteropolisakarittir. Doğada selülozdan sonra en çok bulunan ikinci biyopolimer ise lignindir. Lignin, aromatik, üç yapıya ve amorfudur. Lignin fenilpropan ünitelerinin farklı C-C ve C-O-C bağlarıyla bir araya gelerek oluşturdukları bir polimerdir. Lignoselülozik atıklar, büyük ölçüde ziraat ve orman endüstrisinden sağlanır. Atıklardaki karbonun enerjiye ve besin maddelerine dönüşmesi için lignoselülozik atıkların biyoteknolojide kullanımını önemli bir yoldur.¹

Lignoselülozik materyaller, yapısal özellikleri nedeniyle parçalanması zor bileşiklerdir. Lignoselülozun bu özelliği; yalnızca fotosentezle fikse edilmiş karbonun doğadaki döngüsünü geciktirmez, aynı zamanda biyoyakıt üretimi ve kağıt endüstrisinde kullanılmasında da sorun oluşturur. Lignoselülitik *Basidiomycetes*'in lignini oksitleyerek lignoselüloz parçalanmasını gerçekleştirdiği ile ilgili kanıtlar bulunmaktadır. Odundaki lignin delignifikasyonunu etkili bir şekilde yapan *Basidiomycetes*, atık polimerlerdeki C_{α} - C_{β} arasındaki alifatik yan zincirleri kırarken lignini CO₂'ye kadar mineralize etmektedirler. Bu fungusların, topraktaki ve odundaki ligninin parçalanmasına neden olduğu düşünülmektedir.^{2,3}

Odun üzerine kolonize olan *Basidiomycetes* sınıfı fungusları, odunda bıraktıkları kalıntının makroskobik görünümüne göre beyaz çürükçül ve kahverengi çürükçül olarak iki temel gruba ayrılmaktadırlar. Ayrıca *Basidiomycetes*'in odunun

çürümesine engel olan toksik, antibiyotik gibi doğal bileşiklerin varlığı ve düşük azot içeriği gibi zorlukların üstesinden gelebildiği belirtilmektedir.⁴ Beyaz ve kahverengi çürükçül *Basidiomycetes*; odunu etkili bir şekilde parçalayabilmesine rağmen, bazı *Ascomycetes* ve bunların *Deuteromycetes* adı verilen formları odunun toprakla temas ettiği yerlerde kolonize olabilmektedirler.⁴ Odunun mekaniksel özelliklerinin azalması, odunun yumuşamasını arttıran, bakterilerin de içinde olduğu bir işlemin sonucu olarak düşünülmektedir. Yumuşak çürükçül funguslar, diğer fungus aktivitelerinin engellendiği dış çevre koşullarda (yüksek veya düşük su potansiyeli) odunu parçalayabilmektedirler. *Basidiomycetes* tarafından ligninin parçalanması ve/veya modifikasyonu lignoselülozun çürümesinde anahtar bir adımdır.⁴ Bununla beraber, sistemdeki enzimler ve enzimlerin mekanizmaları henüz tam olarak açıklanmamıştır.

Beyaz çürükçül funguslar, *Basidiomycetes* sınıfına dahil olup, yüksek enzim sentezleme yeteğine sahiptirler. Bu özellikleri biyoteknolojideki önemlerini daha da artırmaktadır. Bu funguslar arasında; *Coriolus versicolor*, *Funalia trogii*, *Phanerochaete chrysosporium*, *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus sajor-caju* *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus florida* sayılabilir. Birçok araştırmacı, biyoteknolojide bu kadar önemli olan ve beyaz çürükçüller tarafından üretilen bu enzimlerin üretiminin artırılmasına yönelik çalışmalar yapmışlardır.^{5,6,7}

Çalışılan birçok fungusta lignolizis, besin azlığında sekonder metabolizma esnasında oluşmaktadır. Bu nedenle, fungusların, gelişimleri için gerekli olan uygun subsratların kültür koşullarındaki varlığında, metabolik olarak pahalı olan lignolitik ajanların salınımından ve sentezinden uzak durdukları belirtilmektedir. Fungal gelişim için toprak ve odundaki besin sınırlayıcı faktör olarak özellikle azot

belirtilmiştir ve lignolitik funguslar ile çalışan laboratuvarların çoğu, kültür koşullarını azot sınırlaması şeklinde oluşturmaktadırlar. Ancak, bazı lignolitik fungusların örneğin bazı *Bjerkandera* türlerinin yeterli azot varlığında lignolitik olduğu belirtilmektedir.⁸

Lignin parçalanmasına katılan en önemli ekstraselüler enzimler, hem proteini içeren Lignin peroksidaz (Ligninaz, LiP, EC 1.11.1.14), Mangan peroksidaz (MnP, EC 1.11.1.13) ve Cu içeren Lakkaz (benzenediol:oxygen oxidoreductase, EC 1.10.3.2) dır. Yapısal ve işlevsel özellik olarak LiP ve MnP'ların kombinasyonu olan, hem proteini içeren peroksidazlar, Versatil Peroksidazlar (VP) lignolitik sistemin yeni üyelerindedir. VP'lar Mn^{2+} ve Veratil alkol gibi fenolik olmayan aromatik bileşikler kadar fenolik bileşikleri de oksitleyebilme yeteneğine sahiptirler. Bu çeşit peroksidazların, *P. eryngii*, *P. ostreatus*, *Bjerkandera adusta*, ve diğer *Bjerkandera sp.*'den izole edilmiş olduğu belirtilmektedir. Ayrıca, glyoxal oksidaz ve aril alkol oksidazların da lignolitik sisteme dahil olabileceği düşünülmektedir. Ligninin bozulmasına, lignolitik enzimlerin birlikte etkisinin olduğu düşünülmektedir.¹

LiP, ilk olarak *P. chrysosporium*'da keşfedilmiştir.^{1,2,8} Bu enzimin diğer tipik peroksidazlardan daha güçlü bir oksidant olduğu belirtilmektedir. Sonuç olarak, yalnızca fenol ve analin gibi genel peroksidaz substratları değil, aynı zamanda fenolik olmayan maddeleri de oksitleyebilmektedir.^{8,9} Birçok beyaz çürükçül funguslarda, lignoselülozik yapıdaki C_{α} - C_{β} arasındaki bağların kırılması lignoliziz için temel bir basamaktır. Sentetik lignin üzerinde yapılmış *in vitro* çalışmalarda, bağların kırılmasından Lignin peroksidazın sorumlu olduğu belirtilmektedir.

Merkezi lignolitik rol alan LiP'in birçok *Basidiomycetes*'de saptanmamış olduğu belirtilmektedir.⁸

Farklı bir grup peroksidaz olan MnP, bakteri, maya, küf ve mikoriz *Basidiomycetes*'de tespit edilmemiştir. *Basidiomycetes*'in beyaz çürükçül ve bazı yumuşak çürükçüllerinde MnP tespit edilmiştir.³ MnP *Basidiomycetes*'in farklı taksonomik gruplarında mevcut olup, daha çok yayılış göstermektedir ve yoğun olarak araştırılan pozitif bir alternatif olduğu düşünülmektedir.² Bu enzim, bir oksidant olan H₂O₂ ile Mn.(II)'yi Mn (III)'e oksidasyonu ile, fenolik bileşiklerini fenoksi radikallerine oksitlediği belirtilmektedir. Mn (III) organik asitler tarafından şelatlanır ve şelatlanmış Mn (III), fenolik lignin bileşimini parçalanmayı kendiliğinden yapan fenoksi radikallerine oksitlediği düşünülmektedir.¹ MnP'nin doğal ve sentetik lignini cansız ortamda depolimerize ettiği belirtilmesine rağmen, yapısında aromatik maddeden elektron transferi için gerekli olan triptofan atıkları olmadığı için fenolik olmayan maddeleri direkt olarak okside edemediği düşünülmektedir.^{2,9}

Peroksidazların lignolitik parçalanmanın yanı sıra, toprak detoksifikasyonunda bir potansiyele sahip olduğu, kağıt endüstrisinde başarılı bir şekilde kullanıldığı, sentetik boyar maddeleri oksitlediği, analitik çalışmalarda biyosensor olarak kullanıldığı, teşhis maddesi olarak (diagnostik kitler) kullanıldığı, ELISA testlerinde ve birçok analizde kullanım alanı olduğu belirtilmektedir.¹⁰

Uzun yıllardan beri bitkilerde, böceklerde ve mantarlarda varlığı bilinen Lakkazın şapka oluşumunda, pigment sentezinde ve detoksifikasyonda çeşitli roller oynadığı belirtilmektedir.⁴ Multi bakır oksidaz ezim grubundan olan Lakkaz, moleküler oksijeni harcayarak, maddelerin tek elektron oksidasyonunu

katalizlemektedir. Ayrıca *Bacillus* türlerinin sporlarını UV ışınlarına karşı dirençli hale getirdiği, toksik fitoaleksinin ve taninlerden fungal patojenleri koruduğu, bu nedenle, mantar hastalıklarında önemli bir virulans faktörü olduğu belirtilmektedir.¹¹ Ayrıca bu enzimin kullanım alanlarının, tekstilden kağıt endüstrisine, besin uygulamalarından bioremediasyon işlemlerine kadar önemli ölçüde geliştiği belirtilmektedir.¹¹

Lakkaz, düşük redoks potansiyeline sahip olduğu için fenolik olmayan lignin ünitelerini oksitleyemez. Bu sınırlamadan dolayı Lakkaz, sadece fenolik lignin ünitelerini oksitleyebilmektedir. Bu nedenle, Lakkazın, fenolik olmayan lignin ünitelerine etkisini arttırmak için, küçük aracı bir molekül ile sık sık kullanıldığı düşünülmektedir.² Birçok aromatik bileşik, Lakkaz üretimini geniş ölçüde tetiklemektedir.^{7,12,13} Örneğin *P. ostreatus*'da ortamdaki yüksek azot konsantrasyonu lignin mineralizasyonunu sınırladığı bilinmektedir.¹⁵

Bütün bu enzimler endüstriyel öneme sahiptir. Bunları üreten organizmalar da endüstriyel işlemlerdeki potansiyellerinden dolayı ilgi çekmektedirler. Bu nedenle, biyoteknolojik uygulamalar için, bu enzimlerin düşük maliyette etkili bir şekilde üretimi ekonomik açıdan da önemli bir rol oynamaktadır.

2.2. ENZİM ÜRETİMİ İLE İLGİLİ ÇALIŞMALAR

Lignolitik enzim üretim oranı, ortam kompozisyonu, C/N oranı, pH, sıcaklık, havalandırma gibi birçok faktörden etkilenmektedir. Bu enzimlerin oluşumu sadece mantarların fizyolojik karakterlerine bağlı değil, aynı zamanda bu mantarın yetiştiği kültür ortamının koşullarına da bağlıdır.¹⁶ Bu durum farklı habitatlarda yetişen türlerin değişik suşlarının da farklı miktarlarda enzim üretebileceği veya bunlardan farklı izoformların tespit edilebileceği düşünülmektedir.

Biyoteknolojide lignolitik enzimlerin kullanımındaki potansiyel enzim üreten organizmalar ve bunların ürettiği enzimlerin verimi üzerindeki çalışmaları teşvik etmektedir.

Bununla birlikte, yapılan çalışmalarda daha çok *C. versicolor*, *F. trogii*, *P. chrysosporium*, *P. ostreatus*, *P. sajor-caju* ve *P. eryngii* gibi beyaz çürükçüller kullanıldığı görülmektedir.¹⁷ Biyoteknolojide kullanılacak yeni türlerin veya suşların saptanması, enzimatik aktivitelerinin belirlenmesi ve tespit edilen enzimin üretilmesi ile ilgili çalışmalar önem taşımaktadır.

Agaricus bisporus, standart kültür koşullarında geliştirildiğinde, kompost ekstraktından MnP ve Lakkaz aktivitesi tespit edilmiş, fakat LiP aktivitesi belirlenmemiştir. Maksimum MnP aktivitesi, primordiyum oluşumu sırasında pH 5.4-5.5'da, 201,5 nmol.min⁻¹ .mg protein⁻¹, maksimum Lakkaz aktivitesi ise, 717.0 nmol.min⁻¹ mg protein⁻¹ spesifik aktivite ile yine primordiyum oluşum esnasında olduğu rapor edilmiştir. Yine 1. hasat zamanında her iki enzim aktivitesinin düştüğü belirlenmiştir. LiP aktivitesinin tespit edilmemiş olması ve iki enzim arasındaki bağlantı, mantar tarafından yapılan lignin parçalanmasında, her iki enzimin önemli rol aldığı düşünülmektedir.¹⁸

İki *Streptomyces* türü (*S. viridosporus*, *S. badius*) üzerine yapılan, 37°C'de lignoselülozik atık olarak mısır ekstraktı kullanılan çalkalamalı sıvı kültür çalışmasında, inkübasyonun 9-10. günlerinde *S. badius*'da *S. viridosporus*'dan 3 kat daha fazla LiP aktivitesi tespit edilmiştir. Poliakrilamid jel analizi ile yapılan çalışmada, her iki türde de dört enzim içeren peroksidazlar tespit edilmiş, bunlardan yalnızca LiP'in yüksek aktivite gösterdiği belirtilmiştir.¹⁹

Pleurotus floridanus MUCL 28518, *P. ostreatus* CBS 411.71, *Pleurotus pulmonarius* CBS 507.85 ve *P. sajor-caju* MUCL 29757 türlerinin katı faz fermentasyonunda lignolitik etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada, *Pleurotus* türlerinin hepsinde, başlangıçta lignin parçalanması ile ilişkili olan MnP (aktivite 2.3 ile 4.6 U/g), Lakkaz (aktivite 0.43 ile 0.68 U/g), Aril alkol oksidaz (aktivite 0,03 ile 0.18 U/g), enzimlerini ürettiği, ancak LiP'i üretemedikleri belirtilmiştir. MnP'nin, lignin mineralizasyonunun maksimum orana ulaştığı 14. günde maksimum aktivite gösterdiği belirtilmektedir. Çalışmayı ilginç kılan lignin mineralizasyonunun Mn²⁺ tarafından teşvik edildiğinin belirlenmesi olarak ifade edilmiştir.²⁰

Beyaz çürükçül *P. ostreatus*'un katı faz fermentasyonunda, pamuk sapı ekstraktının kullanıldığı ortamda, kimyasal yapısı sentetik olarak belirlenmiş ortama göre lignin mineralizasyonunun arttığı, buna paralel olarak da Lakkaz aktivitesinin de arttığı gözlenmiştir. Total mineralizasyonun, kontrol grubunda ilk 16. günde %7, pamuk sapı ekstraktının kullanıldığı ortamda da %15 olarak saptanmıştır. Ayrıca, Lakkaz aktivitesinin 0.02 U.ml⁻¹ olduğu, kontrol ortamına pamuk sapı ekstraktı eklendiği zaman da 8. günde 0.95 U.ml⁻¹ seviyesine ulaştığı belirtilmektedir. Bu nedenle, odun ve bitki ekstraktlarının Lakkaz için bir aracı olarak görev yaptığı ve

fenolik olmayan lignin yapılarını oksitlemede görevli olan LiP yokluğunda, Lakkazın bu sistemi kullanarak etkili olduğu belirtilmiştir.⁷

Pamuk sapı ile *P. chrysosporium* ve *F. trogii*'nin yarı katı fermentasyonu sonucu oluşan Lakkaz, peroksidaz, Ligninaz ve Selülaz aktivitelerinin belirlendiği bir çalışmada, pamuk sapının kağıt üretimi için uygun bir hammadde kaynağı olduğu ve beyaz çürükçül fungusların bu alanda kullanımının enerji tasarrufu sağlayacağı belirtilmektedir. Aynı çalışmada, 20 günlük inkübasyon periyodunda, *P. chrysosporium*'da Ligninaz (LiP) aktivitesinin glukoz içeren ortamda 8.4 µmol/l, olarak fermentasyonun 16. gününde, *F. trogii* de ise yine glukozlu ortamda, peroksidaz (0.30 µmol/l) ve Lakkaz (0.59 µmol/l) aktivitelerinin 8. ve 10. günde maksimum aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Glukoz içermeyen ortamda enzimler 18. günde maksimuma ulaştığı belirlenmiştir. Lignin yıkımının ortamda daha kolay metabolize edilen glukoz gibi bir substratın varlığında, daha fazla aktive edildiği gösterilmiştir.²¹

Zeytin kara suyu (zeytinyağı fabrikalarının atık suyu olarak bilinmektedir) kullanılarak yapılan çalışmada, *Coriolus versicolor*, *P. chrysosporium* ME446, *F. trogii*, *P. ostreatus*, *P. sajor-caju*, *Lentinus tigrinus* ve *Laetiporus sulphureus* türlerinden özellikle *C. versicolor*, *F. trogii* ve *P. sajor-caju*'nun zeytin kara suyunu etkin bir şekilde dekolorize ettiği tespit edilmiştir. *P. sajor-caju*'da inkübasyonun 3. gününde yüksek Lakkaz aktivitesi gözlenmiştir. Yapılan çalışmada, zeytin kara suyunun büyük ölçüde fenol oksidaz üretimini arttırdığı belirtilmektedir.²²

P. chrysosporium ME-446 ile yapılan, katı faz fermentasyonunda substrat olarak çürümüş buğday sapının kullanıldığı bir çalışmada, LiP ve MnP aktiviteleri maksimum sırasıyla 2600 ve 1375 U/l olarak belirlenmiştir. Her iki enzim içinde

39°C sıcaklık ve besi ortamının katı/sıvı oranının düşük olduğu (LiP: pH 4, MnP: pH 5.5) optimum koşullarda maksimum aktiviteye; LiP'de 5. günde ulaşırken, MnP'de 4. günde ulaşmıştır. Aynı çalışmada, buğday taneleri substrat olarak kullanıldığında, buğday tanelerinin içindeki nişasta nedeniyle türün gelişmesinde etkili olduğu, ancak enzim aktivitelerinin ise düşük olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada kullanılan buğday sapının, enzim üretimi için hem kolay elde edilebilir besin sağladığı, hem de veratril alkolün yerine indükleyici olarak işlev gördüğü belirtilmiştir. Bu enzimlerin üretimi için çürümüş buğday sapının kullanımının hem maliyeti düşüreceği hem de çevre açısından daha faydalı olacağı tavsiye edilmiştir.²³

P. chrysosporium ile yapılan başka bir çalışmada, fermentasyon sırasındaki çalkalama ve azot konsantrasyonunun LiP kompozisyonu üzerine etkisi çalışılmış ve iyon değişim kromatografisi kullanılarak dört izoformu tespit edilmiştir. Maksimum LiP aktivitesi, 200 rpm dairesel hareket ile 4 mM azot konsantrasyonunda 764 U/L olarak tespit edilmiştir. *P. chrysosporium* için azot sınırlamasının LiP üretimini arttırdığı belirtilmektedir. Çalkalamanın LiP üretiminde ve enzimin stabil olmasında etkisi olduğu tespit edilmiştir.²⁴

Beyaz çürükçül *Irpex lactues* ile yapılan çalışmada, Lignolitik enzim aktiviteleri azot sınırlaması koşulunda sıvı kültürde tespit edilmiştir. Lakkaz, MnP, LiP aktivitesi sırasıyla 4, 7, 11. günlerde tespit edilmiştir. Bu türün, poliaromatik hidrokarbonlar gibi atıkların biyoremediasyonunda kullanıldığı belirtilmektedir.²⁵

Delignifikasyon için yapılan birçok çalışmada, *P. chrysosporium* ve *Trametes versicolor*'dan sentetik ortamda enzim üretiminin sağlanması düşünülmektedir. Bu durumun, lignin parçalanmasının detaylı bir şekilde açıklanması için delil oluşturduğu belirtilmektedir. Aynı çalışmada, *Daedalea flavida* ve iki *Phlebia spp.*

türü, bir çok çalışmada kullanılan *P. chrysosporium* ile lignolitik özellikler bakımından karşılaştırılmış, çalışılan *Phlebia spp.*'nin lignin parçalanma kapasitesinin değişik biyoteknolojik işlemlerde, *P. chrysosporium*'dan gözle görülür bir şekilde daha verimli olduğu belirtilmektedir. Çalışmada, buğday sapının katı faz fermentasyonu kullanılmış, *P. radiata* ve *P. floridensis*'in en iyi MnP ve Lakkaz üreticisi, *P. chrysosporium*'un ise en iyi LiP üreticisi olduğu belirtilmektedir. *P. chrysosporium*'da LiP aktivitesinin, 8. günde, en yüksek değere 0.94 U/ml ile ulaştığı tespit edilmiştir. MnP aktivitesi, *P. radiata*'da 29.89 U/ml ile en yüksek değere ulaşılmıştır. Bunun *P. chrysosporium*'da tespit edilen MnP aktivitesi ile karşılaştırıldığında, yaklaşık olarak 15 kat daha fazla olduğu belirtilmektedir. En yüksek Lakkaz aktivitesinin ise, *Phlebia fascicularia*'da 8.5 CU/ml olarak tespit edildiği belirtilmektedir.²⁶

Zimbabve ormanlarında yetişen beyaz çürükçül funguslarla boya dekolorizasyonu üzerine yapılan çalışmada, yeni izolatların optimum gelişme sıcaklıklarında boya parçalama kabiliyetleri incelenmiş ve lignolitik aktiviteleri çalışılmıştır. *T. versicolor*, *Datronica concentrica* ve DSPM95 olarak belirtilen türler en iyi lignin parçalanma aktivitesi göstermesiyle birlikte, bütün türlerde az miktarda da olsa aktivite tespit edilmiştir. Farklı boya türlerinin fungal parçalanmasında, DSPM95 ve en iyi lignolitik aktivite gösterdiği belirtilen *T. versicolor*, en iyi boya parçalayan türler olarak belirtilmiştir. *Irpex spp.*, *Pycnoporus sanguineus*, ve *Trametes elegans* önemli derecede dekolorizasyon kapasitesi göstermektedir. Bütün türlerde MnP ve Lakkaz aktivitesi tespit edilmesine rağmen, LiP aktivitesi tespit edilmemiştir.²⁷

Zeytin yağı fabrikası atık suyu ortamında, beyaz çürükçül fungus *Panus tigrinus* (CBS 577.79) ile hem katı faz fermentasyonu (darı sapı kullanılmıştır) hem

de submerged fermentasyonu tekniği kullanılarak yapılan çalışmada, submerged fermentasyonda en yüksek miktarda, Lakkaz aktivitesi $4600\pm98 \text{ U l}^{-1}$ olarak fermentasyon süresinin 13. gününde, MnP aktivitesi ise fermentasyonun 9. gününde $370\pm15 \text{ U l}^{-1}$ olarak belirlenmiştir. Katı faz fermentasyonunda en yüksek, Lakkaz aktivitesi, 9. günde $1309\pm20 \text{ U l}^{-1}$, MnP aktivitesi ise 13. günde, $292\pm12 \text{ U l}^{-1}$ olarak saptanmıştır. Total enzim aktivitesi temel alındığında, katı faz fermentasyonunun daha uygun olduğu, ancak submerged fermentasyonda üretim miktarının daha fazla olduğu belirtilmektedir.²⁸

Değişik sentetik kültür koşulları ve doğal kültür (peynir altı suyu) ortamı kullanılarak beyaz rkl funguslardan *C. versicolor* ve *F. trogii* türleri ile yapılan çalışmada, Lakkaz retiminde kültür koşullarının etkisi araştırılmış ve indükleyici olarak pamuk sapı kullanılmıştır. *C. versicolor* ve *F. trogii*'de, değişik ortamlara pamuk sapının ilave edilmesinin enzim üretimini 3-100 kat arttırdığı belirtilmektedir. Çalışmada, *C. versicolor*'da yüksek Lakkaz aktivitesi 4.406 U/ml olarak peynir altı suyuna pamuk sapı eklenmiş ortamda, *F. trogii*'de en yüksek Lakkaz aktivitesi 4.88 U/ml olarak, yine peynir altı suyuna pamuk sapı eklenmiş ortamda tespit edildiği belirtilmektedir. Yapılan çalışmada ucuz maliyetli ve güvenli olan pamuk sapı ve peynir altı suyunun lignolitik enzim üretimi ve diğer biyoteknolojik enzimlerin üretiminde kullanılabileceği belirtilmektedir.²⁹

Ligninaz retimi ve üretiminin düzenlenmesi üzerine metal iyonların etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, iki tür *Basidiomycetes* (*Lentinus squarrosulus* ve *Psathyrella atroumbonata*) lignoselülozik atıklar üzerinde kültüre alınmış, Mn^{2+} ve Ca^{2+} iyonlarının, 20 ila 80 mM konsantrasyonlarda kültür ortamına uygulanmasıyla, ligninaz üretiminin 2 ila 12 kat arttırdığı belirtilmektedir. Mg^{2+} ve K^+ iyonlarının

gelişmeyi indüklediği belirtilmektedir. Yapılan çalışmada, odun parçalarında 80 mM Mn^{2+} konsantrasyonu, ligninaz aktivitesini *L. squarrosulus*'da 11 kat, *P. atroumbonata*'da 14 kat artırdığı belirtilmektedir. 60 mM Ca^{2+} uygulanan ortamda ise *L. squarrosulus*'da ligninaz aktivitesi 20 kat artığı belirtilmektedir.³⁰

Muz atıkları katı faz fermentasyonu kullanılarak, *P. ostreatus* ve *P. sajor-caju*'nun lignolitik ve selülitik enzim üretimi incelendiğinde her iki türde, lignolitik enzim üretimine kıyasla çok düşük seviyede selülitik enzim aktivitesi tespit edildiği belirtilmiştir. Maksimum spesifik aktivite 40 günlük fermentasyon süresinin 10. ve 20. günlerinde tespit edildiği belirtilmektedir. *P. ostreatus*'da maksimum spesifik aktivite Lakkaz için 1.71 U/mg protein iken, LiP için 0.16 U/mg protein olarak saptanmıştır. *P. sajor-caju* için maksimum spesifik aktivite Lakkaz için, 1.67 U/mg protein iken, LiP için, 0.47 U/mg olarak tespit edilmiştir. Ucuz olarak elde edilebilen muz atıklarının endüstriyel öneme sahip enzimlerin üretiminde değerlendirilebileceği belirtilmiştir.³¹

Beyaz çürükçül *Fomes sclerodermeus* ile buğday kepeği üzerinde yapılan katı faz fermentasyonu çalışmasında, maksimum aktivite MnP için 6.30 U/g olarak 14. günde, Lakkaz için ise 270 U/g olarak 28. günde tespit edilmiştir. Her iki enzim için, ortama indükleyici ilavesinin enzim aktivitesini arttırmadığı ve bu nedenle de doğal ortamın tercih edildiği belirtilmektedir. İndükleyici eklenmeden *F. sclerodermeus*'un yüksek düzeyde Lakkaz ve MnP aktivitesi göstermesi, düşük maliyete neden olduğu için biyoremediyasyon işlemlerinde avantaj sağlayacağı ifade edilmektedir.³²

Beyaz çürükçül *F. sclerodermeus* üzerine yapılan başka bir çalışmada, Lakkaz üretimi için femantasyonun 16. gününde 13.50 U/ml aktivite elde edilen ortamına 0,2 mM Cu^{2+} , 6 g⁻¹ N ve 0,4 mM Mn^{2+} ilavesi, bu enzimin üretimi için

optimum olduğu belirtilmektedir. 1 mM Mn²⁺, 4 g⁻¹ N ve 0,2 µM Cu²⁺ eklenen ortamın MnP üretiminde optimum olduğu, bu ortamda maksimum aktiviteye 0.75 U/ml olarak fermentasyonun 13. gününde ulaştığı bildirilmiştir.³³

Karbon kaynağı olarak bitki materyallerinin kullanıldığı katı faz ve submerged fermentasyon koşullarında, *Pleurotus* türlerinin Lakkaz, MnP ve Versatil Peroksidaz (VP) aktivitesinin incelendiği çalışmada, farklı orjinlerden olan suşların, farklı lignolitik sistem etkinliği gösterdiği belirtilmiştir. Bitkisel atıklar kullanılarak hazırlanan katı faz fermentasyonunun, fungusların doğal gelişim alanlarına benzerliğinden dolayı lignolitik enzim aktivitesi için submerged fermentasyondan daha fazla tercih edildiği belirtilmektedir. Çalışmada *P. ostreatus* 493'de Lakkaz aktivitesi, katı faz fermentasyonu uygulandığında, submergede göre 20 kat artan miktarda enzim aktivitesi (2144.62±57.78 U/l) göstermesine rağmen, bazı suşlarda (201, 616 ve 393) submerged fermentasyonda daha fazla Lakkaz aktivitesi tespit edildiği belirtilmektedir. Kültür koşullarının Lakkaz, MnP ve VP aktivitesini belirtilen çalışmada en yüksek miktarda sırasıyla *P. ostreatus*'da ve *P. pulmonarius*'da asma talaşları kullanılarak hazırlanan katı faz fermentasyonunda tespit edildiği belirtilmektedir.³⁴

Termotolerant *C. versicolor* RC3 tarafından üretilen Lakkaz için uygun substratların araştırıldığı, katı ve sıvı ortamların denendiği çalışmada glukoz, buğday kepeği ve pirinç samanı ile karşılaştırıldığında, karbon kaynağı olarak %1 (g/l) pirinç kepeğinin en etkili substrat olduğu tespit edilmiştir. 37°C'lik sıvı kültür ortamında, inkübasyondan 15 gün sonra, Lakkaz aktivitesi 0.09, 0.01 ve 0.01 U/ml olarak sırasıyla buğday kepeği, glukoz ve pirinç samanında elde edilirken, pirinç kepeğinde 0.22 U/ml olarak tespit edilmiştir. Yüksek Lakkaz aktivitesin elde edildiği

15 günlük sıvı kültürün enzim aktivitesinin (22 U/g pirinç kepeği kullanılmış), en yüksek aktivitenin elde edildiği 30 günlük katı faz fermentasyonundan 11 kat fazla olduğu belirtilmektedir.³⁵

Yabani tip suş, *P. chrysosporium* ME-446 ile yapılan azot ve karbon sınırlaması olmayan submerged çalışmada, ortama lignoselülozik substrat eklendiğinde, bu türün etkin LiP ve MnP üretme kabiliyeti olduğu belirtilmektedir. Fungus, temel glukoz-pepton-mısır batık çözelti ortamında geliştiği zaman ise, LiP veya MnP aktivitesi gözlenmediği belirtilmektedir. Sadece lignoselüloz içeren substrat, buğday sapı veya haşhaşın odunsu çekirdeğini ortama eklediklerinde enzim üretimine neden olduğu saptanmaktadır. Elde edilen sonuçların, lignoselülozik substratlardan kaynaklanan bileşiklerin, lignolitik peroksidazların üretimi için, indükleyici olarak görev yapabildiğini güçlü bir şekilde desteklediği belirtilmiştir. En yüksek LiP aktivitesinin 800 U^l⁻¹ olarak haşhaşın odunsu çekirdeklerini içeren kültür ortamında, en yüksek MnP aktivitesinin ise 1800 U^l⁻¹ olduğu belirtilmektedir.¹⁶

Türkiye'nin 21 farklı yöresinden alınan örneklerden izole edilmiş *Streptomyces sp.* F2621'in temel tuzlar ve farklı karbon kaynaklarını içeren maya ekstraktında peroksidaz üretimi konusunda yapılan bir çalışmada, karbon kaynağının, konsantrasyonun, pH ve sıcaklığın enzim üretimi üzerinde etkinliği araştırılmıştır. En yüksek peroksidaz aktivitesi 30°C'deki inkübasyonda, 2-4 günde % 0.4 yulaf ksilan ve % 0.6 maya ekstraktı içeren, C/N=6 olan temel tuzlar ortamında, 0.58 U/ml olarak tespit edilmiştir. Bu türde, enzim üretimi için sırasıyla optimum pH 8 ve 9 olduğu belirtilmektedir. Yapılan çalışmada, *Streptomyces sp.* F2621'nin potansiyel olarak kağıt endüstrisinde kullanımının uygun olduğu bildirilmiştir.³⁶

Farklı ekolojik alanlardan elde edilmiş, tıbbi öneme sahip *Basidiomycetes*'de lignolitik enzim aktivitesi, mandalina kabuğu içeren submerged fermentasyonda, en yüksek Lakkaz aktivitesinin *Omphalotus olearius* 174'de 100.10 nkat/ml, *Trametes versicolor* 775'de 74.80 nkat/ml ve *P. ostreatus* 98'de de 62.00 nkat/ml olduğu belirtilmiştir. Çalışmada, türler arasındaki lignolitik enzim üretimindeki aşırı farklılığın türlerin ve suşların farklılığından ve kültürasyon metotlarından kaynaklandığı belirtilmektedir.³⁷

Muz atıklarının kullanıldığı, *Phylosticta spp* MPS-001 ve *Aspergillus spp* MPS-002 türlerinin katı faz fermentasyonunda, *Phylosticta spp* MPS-001'de en yüksek Lakkaz aktivitesi 2.72 U/mg, en yüksek LiP aktivitesi 2.30 U/mg olarak belirtilmiştir. *Aspergillus spp* MPS-002'da ise, en yüksek Lakkaz ve LiP aktivitesi sırasıyla 2.95 U/mg ve 2.62 U/mg olarak kültürasyonun 20. gününde tespit edilmiştir.³⁸

Poliüretan köpüklerle immobilize edilmiş, *P. chrysosporium*'un LiP aktivitesi batık olmayan kültürde, C/N oranının 28/44 olduğu ortamda, 3. günde maksimuma (197 U/l) ulaştığı, MnP aktivitesinin ise 4 günde bu değere (93 U/l) ulaştığı belirtilmektedir. Yapılan çalışmada, C/N oranının, LiP ve MnP üretimi üzerine etkisinin farklı olduğu, bu nedenle farklı stratejiler geliştirilerek yüksek enzim üretimi için stabilitenin sağlanabileceği bildirilmiştir.³⁹

Yenilebilen mantar *Lentinus tigrinus*'un buğday sapı üzerinde yapılan kültüründe, lignolitik enzim üretimi oranı araştırılmıştır. Bu türün buğday sapını parçalayabildiği ve buğday sapındaki lignin miktarında % 21.49 oranında azalmaya neden olduğu tespit edilmiştir. Aktivitenin Lakkaz'da 30 U/g ile 20. günde, MnP'de ise 750 mU/g ile 20. ve 90. günlerde maksimuma ulaştığı belirtilmektedir. Yapılan

çalışmada, lignin parçalanmasındaki aromatik bileşiklerin, ligninazlar için indükleyici olmadığı belirtilmiştir.⁴⁰

Bir süperoksit ajan olan menadione (2-methyl-1,4-naphtoquinone)'nin iki beyaz çürükçül *F. fomentarius* ve *Tyromyces pubescens*'in biyolojik aktivitesi incelendiğinde, kültür koşullarında Lakkaz ve MnP için kontrol grubuna göre arttırdığı belirtilmektedir. Ayrıca, bu maddenin funguslardaki hücre içi süperoksit dismütaz aktivitesini arttırdığı belirtilmektedir. *F. fomentarius* ve *T. pubescens*'in menadione maruz kalmaları, antioksidant sistemlerde değişimlere neden olduğu ve bu funguslardaki doğal lignolitik metabolizmanın, oksidatif stres koşullarına adapte olabilmek için geliştirilen bir sistem olduğu belirtilmektedir.⁴¹

Beyaz çürükçül *T. versicolor* ve *Abortiporus biennis*'de kültür ortamına sırasıyla 25 ve 20 µM Paraquat eklenmesi, Lakkaz aktivitesi kontrol grubuna göre arttırmıştır. Lakkaz aktivitesi en yüksek miktarda 100 nkat/mg ile *T. versicolor*'da gözlenmiştir. MnP aktivitesinin ise, her iki türde de tespit edildiği, fakat hücre içi MnP aktivitesinin paraquat eklenmesiyle artış gösterdiği belirtilmiştir. Paraquat varlığında Lakkaz aktivitesinin yükselmesi, Lakkazın fungusların oksidatif strese karşı defans mekanizmasında önemli olabileceği ifade edilmektedir.⁴²

Bakır eklenmiş çalkalamalı ve statik batık kültürde gelişen *F. trogii* ATCC 200800'nin Lakkaz aktivitesi, sırasıyla 4.61 ve 3.12 U/ml, *T. versicolor* ATCC 200801'nin ise 2.96 ve 2.34 U/ml olarak belirlenmiştir. Çalışmada, bakır eklenmiş *F. trogii* ve *T. versicolor* peletlerinin tekrarlanan batık kültürde Lakkaz aktivitesinin sırasıyla 40.29 ve 12.09'ye yükseldiği belirtilmiştir. Yapılan çalışmada, tekrarlamalı batık modun Lakkaz üretimi için çok iyi performans gösterdiği ve biyoteknolojik

öneme sahip enzimlerin üretimini teşvik eden etkin bir metot olabileceği belirtilmektedir.⁵

Submerged fermentasyonda besin endüstrisi atıkları kullanılarak *Phellinus robustus* ve *Ganoderma adspersum*'un Lakkaz ve MnP aktiviteleri araştırılmış ve *P. robustus*'un hem Lakkaz (700-4.000 U l⁻¹) hem de MnP (1.000-11.300 U l⁻¹) aktivitesi gözlenirken ve *G. adspersum*'da ise sadece Lakkaz (600-34.000 U l⁻¹) aktivitesi tespit edilmiştir. Mandalina kabukları, kivi meyvesi ve etanol üretimi yapılmış buğday tanelerinin atıklarının kullanıldığı çalışmada en iyi enzim aktivitesi her iki tür için, mandalina kabuklarında tespit edilmiştir. Amonyum sulfat ve amonyum tartaratın Lakkaz verimini 3 kat arttırdığı belirtilmiştir. Yapılan çalışma sonucunda, fungusların ürettiği oksidazların gerçek potansiyelinin değerlendirilmesi için farklı kompozisyonlardaki lignoselülozik substratların kullanılması gerektiği belirtilmektedir.⁴³

Pleurotus (*P. eryngii*, *P. ostreatus* ve *P. pulmonarius*) türlerinin Lakkaz ve peroksidaz üretimi üzerinde farklı karbon ve azot kaynaklarının etkinliği, hem submerged hem de katı faz fermentasyon koşullarında araştırılmıştır. Araştırılan karbon (üzüm sapı, glukoz, maltoz, mannitol, D-glukonik asit sodyum tuzu, ksilan, selüloz, karboksimetil glukoz, kurutulmuş mandalina kabuğu unu) ve azot (pepton, vitamin içermeyen kazein asit, mısır sıvı çözeltisi, KNO₃, NH₄Cl, (NH₄)₂SO₄, NH₄H₂PO₄, NH₄NO₃) kaynaklarının kullanıldığı ortamlarda *Pleurotus* türlerinde Lakkaz aktivitesi gösterdiği belirtilmiştir. En yüksek Lakkaz aktivitesi; *P. ostreatus*'da 2144U/l olarak üzüm sapının katı faz fermentasyonunda 10. gününde gözlenmiştir. MnP aktivitesi, submerged koşullarda, düşük olmasına rağmen

özellikle *P. ostreatus* suşlarında katı faz fermentasyonunda önemli düzeyde (184.6 nkat/ml) olduğu belirtilmiştir.⁴⁴

Pleurotus dryinus'un mandalina kabukları ve üç yapraklı bitkilerin submerged koşullarda lignolitik enzimlerin üretimi için kullanımı araştırılmıştır. En yüksek aktivite Lakkaz için %6 mandalina kabuğu ortamında 6493 U/l olarak, MnP için ise %2 mandalina kabuğunda 83 U/l olarak tespit edilmiştir. Azot kaynaklarından, (NH₄)₂SO₄ içeren ortam, en yüksek Lakkaz aktivitesi (6025 U/l) gösterirken, NH₄NO₃ içeren ortam ise, en yüksek MnP aktivitesi (116 U/l) gösterdiği bildirilmiştir.⁴⁵

P. chrysosporium'da MnP üretiminde farklı ortam ve gelişme koşullarında Mn²⁺, tween 80, fenilmetilsülfanilflorid (PMSF), oksijen, sıcaklık, pH, gliserol ve azot gibi bazı aktivatörlerin etkisinin araştırıldığı çalışmada, MnP aktivitesi tween 80 (0.05 % v/v) ve Mn²⁺ (174 µM) ilave edilen ortamda, kontrol grubuna göre 2 kat daha yüksek miktarda, 356 U/l olarak elde edildiği belirtilmektedir. MnP aktivitesinin PMSF ile artmadığı, fakat optimum değere geldiği ortamın 37°C, pH: 4.5'de, inkübasyonun 6. günü olduğu bildirilmiştir. Ayrıca enzim aktivitesi; azot konsantrasyonunun artmasıyla azaldığı ve değişik konsantrasyonlardaki gliserol miktarıyla da artmadığı belirtilmektedir.⁴⁶

T. versicolor'da Lakkaz üretimini arttırmak için, farklı konsantrasyonlarda katı lignin, lignosülfanat, veratil alkol, ksilidin ve etanol kullanılarak, indükleyici ve glukoz baskılamasının birlikte etkisi araştırılmıştır. En iyi sonucun (1240 U/l) kâğıt endüstrisinden elde edilen katı ligninde olduğu, Lakkaz aktivitesinin ksilidin eklenmesi ve glukoz baskılanmasının olduğu ortamında, 1583 U/l olarak en yüksek değere ulaştığı bildirilmiştir. Karbon sınırlamasının, her hangi bir indükleyici

olmadan Lakkaz üretimini 65 U/l'den 367 U/l'ye arttırmak için yeterli olduğu belirtilen bu çalışmada yüksek aktivitenin 3. ve 4. günde başladığı sekonder metabolizmada üretildiği belirtilmektedir.⁴⁷

Fomes sclerodermeus için soya ve buğday kepeğinin kullanıldığı katı faz fermentasyonunda, farklı substratların kullanılmasıyla enzim aktivitesinin belirgin bir farklılık gösterdiği belirtilmektedir. Soya kepeği kullanıldığında, en yüksek aktiviteye MnP inkubasyonun 15. gününden sonra 14.5 U g⁻¹ ile ulaşırken, Lakkaz ise inkübasyonun 28. gününde 520 U g⁻¹ olarak ulaştığı, buğday ve soya kepeği 1:1 oranında kullanıldığında, Ligninaz değerinin düştüğü, Lakkaz'ın 66.7 U g⁻¹ ve MnP'nin de 4.64 U g⁻¹ aktivite gösterdiği belirtilmektedir.⁹

Submerged koşullarda besin endüstrisi atıkları kullanılarak, *Basidiomycetes*'in 18 suşunun Lakkaz ve MnP aktivitelerinin incelendiği bir çalışmada, enzim aktivitesinin türe ve suşlara bağlı olarak değiştiği belirtilmektedir. *Trametes* genusundaki bütün türler yüksek miktarda Lakkaz aktivitesi gösterirken, *Ganoderma* genusundakilerde ise, 192-61.488 U/l olarak değişen miltarlarda aktiviteye gösterdiği bildirilmiştir. *Phellinus robustus* 250'nin MnP aktivitesinin 4000 U/l'den daha fazla olduğu ve bu konuda bu türün umut verici olduğu belirtilmiştir. Ayrıca Lakkaz ve MnP üretiminin çok fazla lignoselülozik metaryal kullanımına bağlı olduğu belirtilmektedir. Lakkaz aktivitesi, buğday ve soya kepeğinin kullanılması ile *Ganoderma lucidum* 447'de 93-97 U/ml ile maksimum değere ulaştığı belirtilmektedir. Besinlerdeki azot varlığının maksimal enzim aktivitesinin miktarını ve süresini etkilediği ifade edilmiştir.⁴⁸

Lentinus edodes ve *Pleurotus* türlerinin kültüründe farklı kompozisyondaki lignoselülozik atıklar kullanılarak, submerged ve katı faz fermentasyonu sonucu

oluşan lignoselüolitik enzim aktivitesi, daha önce yapılmış çalışmalarla kıyaslandığında Lakkaz aktivitesinin, *Pleurotus*'da 4103 U/l olarak elde edilen en iyi sonuç olduğu belirtilmektedir. Mantar kültüründe kullanılan metodun ve doğal lignoselüolitik kaynakların farklı enzimlerin başlangıçtaki oranının tespitinde önemli faktörler olduğu saptanmıştır.⁴⁹

Quercus petraea ormanından izole edilen saprofitik *Basidiomycetes* tarafından yaprak atıklarının parçalanması ve lignoselülozu parçalayan enzimlerin üretimleri, 12 hafta süren inkübasyonun sonucunda, *Gymnopus sp.*, *Hypholoma fasciculare* ve *Rhodocollybia butyracea* türlerinin geliştiği ortamdan sırasıyla; %38, %23 ve %32 oranında kuru maddenin parçalandığı, bütün türlerin Lakkaz ve MnP aktivitesi gösterdiği, fakat hiç birinin LiP aktivitesi göstermediği belirtilmiştir. En yüksek Lakkaz aktivitesi 2. ve 4. haftalarda, 230 ve 380 U/g olarak sırasıyla *R. butyracea* ve *H. fasciculare*'da tespit edilmiştir. *Gymnopus sp.*'mdaki Lakkaz aktivitesinin 4. haftadan deneyin bittiği haftaya kadar 240 U/g artışı belirtilmiştir. Çalışmada elde edilen bulguların, döküntüler içinde yaşayan saprofitik *Basidiomycetes*'in yaprak döküntülerini etkili bir şekilde parçaladığı ve bazılarının lignini uzaklaştırdığı ifade edilmektedir.⁵⁰

Odun çürükçül bir *Basidiomycete* olan *Cerrena unicolor* C-139 ile yapılan çalışmada, submerged fermentasyonda yeterli miktarda karbon ve azot (C/N = 16.69) içeren ortamlara Cu^{2+} eklenmesinin Lakkaz üretimini önemli ölçüde arttırdığı belirtilmektedir. Glukoz (10 g/l) ve L-asparajin (1.5 g/l) kullanılarak optimize edilmiş ortama 3., 6. ve 9. günlerde 10 μ M Cu^{2+} eklenmesiyle inkübasyonun 17. gününde maksimum Lakkaz aktivitesi (100.000 nkat/l) bildirilmiştir.⁵¹

Lignin parçalayıcı enzimlerin üretiminde, *Ceriporiopsis subvermispora*, *Physisporinus rivulosus*, ve *P. ostreatus* gibi beyaz çürükçül fungusların birlikte kültürasyonunun etkisinin araştırıldığı çalışmada, Lakkaz aktivitesinin yalnızca *P. ostreatus* ile *C. subvermispora* birlikte kültüre alındığında önemli derecede uyarıldığı MnP aktivitesinin ise *P. ostreatus*, *C. subvermispora* ile veya *P. rivulosus* ile birlikteliğinde uyarıldığı bildirilmiştir. Ayrıca yapılan çalışmada lignolitik enzimlerdeki değişimlerin ve/veya onların izoform kompozisyonu birlikte kültürasyonla değiştiği rapor edilmiştir.⁵²

P. ostreatus suşları (IE-8 ve CP-50) tarafından üretilen lignoselülozik enzimler üzerine kültür ortamında kullanılan substrat parçacıklarının boyutlarının ve ortama eklenen azot kaynağının etkisinin araştırıldığı çalışmada, en yüksek Lakkaz aktivitesi farklı parça boyutundaki şeker kamışı atıklarının (C:N = 142) katı faz fermentasyonundan, 0.040 IU/g kuru ağırlıkta, 1.68 mm büyüklükteki parçalarda gelişen ve amonyum sülfatın azot kaynağı olarak kullanıldığı kültür ortamından sağlandığı bildirilmiştir. Parça büyüklüğünün ve azot kaynağının etkisinin türlere göre değiştiği için biyoteknolojik uygulamalarda bu kriterin göz önünde bulundurulması gerektiği belirtilmektedir.⁵³

Beyaz çürükçül *Basidiomycete* türü olan *Trametes trogii* MYA 28-11'in etkili bir Lakkaz üreticisi olduğu belirtilmiş ve odun parçalarına malt ekstraktın eklenmesiyle oluşan katı faz fermentasyonu kullanılarak, enzim üretimine pH, Cu ve N konsantrasyonunun etkisinin araştırıldığı ve selülaz aktivitesinin minimuma indirilerek, lignolitik enzim üretiminin maksimuma çıkması amaçlanan çalışmada, peptonu 12.5 g/l, CuSO₄ 'ı da 11 mM olarak içeren ve pH: 4.5 olan kültür ortamında en yüksek, Lakkaz 901 U/g olarak ve MnP'de 20 U/g olduğu bildirilmiştir. Ayrıca

yapılan uygulamalarda ucuz ham enzim karışımının, izole edilmiş enzimden daha etkili olabileceği, bu durumda yüksek substrat spesifikliğinin gerekmediği belirtilmiştir.⁵⁴

Bazı ticari ve doğal mantar misellerinin lignolitik enzim aktiviteleri incelendiğinde; yabancı suşlardan *P. ostreatus*-1 (MCC45), *P. ostreatus*-2 (MCC40), *P. eryngii*-1 (MCC25), *P. eryngii*-2 (MCC26) ve ticari strainlerden *P. ostreatus*, *P.sajor-caju* ve *P. eryngii*'de LiP aktivitesi gözlemlendiği bildirilmiştir. En yüksek Lakkaz aktivitesi ticari suşlardan *P. eryngii*'de, 62.39 U/l olarak, doğal suşlardan da *P. ostreatus*-4'de 941 U/l olarak tespit edildiği bildirilmiştir. En yüksek MnP aktivitesi, *P. eryngii*-1' de 267.63 U/l olarak yine yabancı suşlarda tespit edilmiştir.⁵⁵

Beyaz çürükçül *Basidiomycetes* türü olan *Fomes fomentarius* MUCL 35117 tarafından üretilen Lakkaz üzerine kültür işlemlerinin ve bakır kullanımının etkisi araştırılmıştır. Buğday kepeğinin kullanıldığı katı faz fermentasyonunun 13. gününde 6400 U/l Lakkaz aktivitesi belirtilirken, ortama 2 mmol/l bakır sülfat eklendiğinde Lakkaz aktivitesinin kontrol grubuna göre 3 kattan daha fazla (27.864 U/l) arttığı belirtilmiştir.⁵⁶

T. versicolor tarafından enzim üretimi için fındık atıklarının kullanıldığı çalışmada, MnP'nin 47.09 U/l ve Lakkaz'ın ise 109.21 U/l seviyesinde en yüksek aktivite gösterdiği belirtilmiştir. Yapılan çalışmada fındık atıklarının hem karbon hem de azot kaynağı olduğu ve bu nedenle enzim üretiminde ucuz bir materyal olarak kullanılabilmesi ve yalnız lignoselülozik atıklar kullanılmasının enzim üretimini teşvik edebileceği belirtilmektedir.⁵⁷

Lignolitik enzimlerin biyoteknolojide potansiyel kullanımı, bu enzimleri üreten yeni türlerin tespitini ve bu enzimlerin üretimini daha ucuz bir yöntemle

arttırmaya yönelik araştırmaların yapılmasını gerektirmektedir. Ezim üretiminin pek çok faktörden etkilenmesi nedeniyle, fungusların gerçek lignolitik enzim potansiyelini değerlendirmek için yeni türlerin veya suşların araştırılması gerekmektedir. Amaçlanan enzim sentezinin elde edilmesinin, verimli teknolojilerin gelişmesinde önemli bir rol oynadığı düşünölmektedir.^{48,55}

2.3. KAYNAKLAR

1. Lankinen, P., *Lignolytic Enzymes Of The Basidiomycetous Fungi Agaricus bisporus and Phlebia radiata on Lignocellulose-Containing Media, Academic Dissertation in Microbiology, Helsinki, 2004.*
2. Hammel, K. E.; Cullen, D., *Role of Fungal Peroxidases in Biological Ligninolysis, Current Opinon on Biotechnology, 2008, 19, 166–172.*
3. Hofrichter, M., *Review: Lignin Conversion by Manganese Peroxidase (MnP), Enzyme and Microbial Technology, 2002, 30, 454–466.*
4. Martinez, A. T.; Speranza, M.; Ruiz-Duenas, F. J.; Ferreira, P.; Camarero, S.; Guillen, F.; Matinez, M. J.; Gutierrez, A.; Rio, J.C., *Biodegradation of Lignocellulosics: Microbial, Chemical, and Enzymatic Aspects of Fungal Attack of Lignin, International Microbiology, 2005, 8, 195–204.*
5. Birhanli, E.; Yesilada, Ö., *Increased Production of Laccase by Pellets of Funalia trogii ATCC 200800 and Trametes versicolor ATCC 20080 in Repeated-Batch Mode, Enzyme and Microbial Technology, 2006, 39 (6), 1286-1293.*
6. Kaluskar, V. M. ; Kapadnis, B. P.; Jaspers, C.; Pennickx, M. J.; *Production of Laccase by Immobilized Cells of Agaricus sp, Applied Biochemistry and Biotechnology, 1999, 76.*
7. Ardon, O.; Kerem, Z.; Hadar, Y., *Enhancement of Laccase Activity in Liquid Cultures of The Ligninolytic Fungus Pleurotus ostreatus by Cotton Stalk Extracte, J. Biotechnol. 1996, 51, 201-207.*
8. Hammel, K. E., *Fungal Degradation of Lignin, Plant Litter Quality and Decomposition, 1997, 33-45.*

9. Papinutti, V.L.; Forchiassin, F., *Lignocellulolytic Enzymes from Fomes Sclerodermeus Growing in Solid-State Fermentation*, *Journal of Food Engineering*, **2007**, 81, 54–59
10. Hamid, M.; Khalil-ur-Rehman, *Potential Applications of Peroxidases*, *Food Chemistry* **2009**, 115, 1177–1186.
11. Riva, S., *Laccases: Blue Enzymes for Green Chemistry*, *Trends in Biotechnology*, **2006**, 24, 219-226.
12. Arora, D. S.; Gill, P. K., *Comparison of Two Assay Procedures for Lignin Peroxidase*, *Enzyme Microb. Technol.*, **2001**, 28,602–605.
13. Mansur, M.; Suarez, T.; Fernandez-Larrea, J. B.; Brizuela, M. A.; Gonzalez, A. E., *Identification of a Laccase Gene Family in The New Lignin-Degrading Basidiomycete CECT 20197*, *Apply Environment Microbiol*, **1997**, 63: 2637–2646.
14. Master, T.; Field, J. A., *Characterization of a Novel Manganese Peroxidase-Lignin Peroxidase Hybrid Isozyme Produced by Bjerkandera Species Strain BOS55 in The Absence of Manganese*, *Journal Biol. Chem.*, **1998**, 273, 15412-15417.
15. Kaal, J. E. E.; Field, J. A.; Joyce T. W., *Increasing Ligninolytic Enzyme Activities in Several White-Rot Basidiomycetes by nitrogen-Sufficient Media*, *Bioresource Technology*, **1995**, 53, 133- 139.
16. Kapich, A. N.; Prior, B. A.; Botha, A.; Galkin, S.; Lundell, T.; Hatakka, A., *Effect of Lignocellulose-Containing Substrates on Production of Ligninolytic Peroxidases in Submerged Cultures of Phanerochaete*

- chryso sporium ME-446, Enzyme and Microbial Technology, 2004 , 34187–195.*
17. Cing, S., *Tekstil Boyalarının Renginin Gideriminde Mikroorganizma Kullanımı*, Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi, Malatya, **2001**.
18. Bonen, A. M.; Anton, L. H.; Orth, A. B., *Lignin-Degrading Enzymes of the Commerical Button Mushroom, Agaricus bisporus, Applied and Environmental Microbiology, 1994, 60, 960-965.*
19. Adhi, T. P.; Korus, R. A.; Crawford, D. L.; *Production of Major Extracellular Enzymes During Lignocellulose Degradation by Streptomyces in Agitated Submerged Culture, Applied and Environmental Microbiology, 1989, 55, 1165-1168.*
20. Camarero, S.; Böckle, B.; Matinez, M. J.; Martinez, A. T., *Manganese-Mediated Lignin Degradation by Pleurotus pulmonarius, Applied Environmental Microbiology, 1996, 62, 1070-1072.*
21. Sık, S.; Ünyayar, A., *Pamuk Sapı ile Phanerochaete chryso sporium ve Funalia trogii'nin Yarı-Katı Fermentasyonu Sonucu Olusan Lakkaz, Peroksidaz, Ligninaz ve Selüloz Aktiviteleri, Tr. J. of Biology, 1998, 22, 287-298.*
22. Yesilada, Ö.; Sık, S.; Sam, M.; *Treatment of Olive Oil Mill Wastewater With Fungi, Tr. J. of Biology, 1999, 23, 231-240.*
23. Fujian, X.; Hongzhang, C.; Zuohu., *Solid-State Production of Lignin Peroxidase (LiP) and Manganese Peroxidase (MnP) by Phanerochaete chryso sporium Using Steam-Exploded Straw as Substrate, Bioresource Technology, 2001, 80, 149-151.*

24. Podgornik, H.; Podgornik, A.; Milavec, P.; Perdih, A., *The Effect of Agitation and Nitrogen Concentration on Lignin Peroxidase (LiP) Isoform Composition During Fermentation of Phanerochaete chrysosporium*, *Journal of Biotechnology*, **2001**, 88, 173-176.
25. Rothschild, N.; Novotny, C.; Sasek, V.; Dosoretz, C.G., *Ligninolytic Enzymes of the Fungus Irpex lacteus (Polyporus tulipiferae): Isolation and Characterization of Lignin Peroxidase*, *Enzyme Microb. Technol*, **2002**, 31, 627-633.
26. Arora, D. S.; Chander, M.; Gill, P. K.; *Involvement of Lignin Peroxidase, Manganese Peroxidase and Laccase in Degradation and Selective Ligninolysis of Wheat Straw*. *Int. Biodeter. Biodegradation*, **2002**, 50, 115-120.
27. Tekere, M.; Mswaka, A. Y.; Zvauya, R.; Read, J. S., *Growth, Dye Degradation and Ligninolytic Activity Studies on Zimbabwean White-rot Fungi*, *Enzyme and Microbial Technology*, 2001, 28, 420-426.
28. Fenice, M.; Sermanni, G. G.; Federici, F.; D'Annibale, A., *Submerged and Solid-State Production of Laccase and Mn-Peroxidase by Panus Tigrinus on Olive Mill Wastewater-Based Media*, *Journal of Biotechnology*, **2003**, 100, 77- 85.
29. Kahraman, S. S.; Gurdal, İ. H., *Effect of Synthetic and Natural Culture Media on Laccase Production by White rot Fungi*, *Bioresource Technology*, **2002**, 82, 215-217.
30. Wuyeb, P. A.; Khan, A. U.; Nok, A. J., *Production and Regulation of Lignin Degradation Enzymes from Lentinus squarrosulus (mont.) Singer and*

- Psathyrella antroumbonata* Pegler, *African Journal of Biotechnology*, **2003**, 2(11), 444-447.
31. Reddy, G. V.; Babu, P. R. ; Komaraiah, P.; Roy, K. R. R. M. ; Kothari, I. L. *Utilization of Banana Waste for The Production of Lignolytic and Cellulolytic Enzymes by Solid Substrate Fermentation Using Two Pleuratus Species (P. ostreatus and P. sajor-caju)*, *Process Biochem*, **2003**, 38, 1457–1462.
32. Papinutti, V. L.; Diorio, L. A.; Forchiassin, F., *Production of Laccase and Manganese Peroxidase by Fomes Sclerdermeus Grown on Wheat Bran*, *J. Ind. Microbiol. Biotechnol*, **2003** 30, 157–160.
33. Papinutti, V. L.; Forchiassin, F., *Optimization of Manganese Peroxidase and Laccase Production in The South American Fungus Fomes sclerdermeus (Le' v.) Cke*, *J. Ind. Microbiol. Biotechnol*, **2003**, 30, 536–541.
34. Stajic, M.; Persky, L.; Friesem, D.; Cohen, E.; Hadar, Y.; Brceski, I.; Wasser, S. P.; Nevo, E., *Screening of Laccase, Manganese Peroksidase, and Versatile Peroksidase Activities of the Genus Pleurotus in Media with Some Raw Plant Materials as Carbon Sources*, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, **2004**, 117, 155-163.
35. Chawachart, N.; Khanongnuch, C.; Watanabe, T.; Lumyong, S., *Rice Bran as an Efficient Substrate for Laccase Production from Thermotolerant Basidiomycete Coriolus versicolor Strain RC3*, *Fungal Diversity*, **2004**, 15, 23-32.
36. Tuncer, M.; Kuru, A.; Isikli, M.; Sahin, N.; Çehenk, F. G., *Optimization of Extracellular Endoxylanase, Endoglucanase and Peroxidase Production*

by *Streptomyces sp. F2621 Isolated in Turkey*, *Journal of Applied Microbiology*, **2004**, 97, 783-791.

37. Mikiashvili, N., Wasser, S.; Nevo, E.; Chichua, D.; Elisashvili, V., *Lignocellulolytic Enzyme Activities of Medicinally Important Basidiomycetes from Different Ecological Niches*, *Int. J. Med. Mushr*, **2004**, 6, 63-71.

38. Shah, M. P.; Reddy, G. V.; Banerjee, R.; Babu, P. R.; Kothari, I. L., *Microbial Degradation of Banana Waste Under Solid State Bioprocessing Using Two Lignocellulolytic Fungi (Phylosticta spp. MPS-001 and Aspergillus spp. MPS-002)*, *Process Biochemistry*, **2005**, 40, 445-451.

39. Yu, G.; Wen, X.; Qian, Y., *Production of The Ligninolytic Enzymes by Immobilized Phanerochaete chrysosporium in an Air Atmosphere*, *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, **2005**, 21, 323–327.

40. Lechner, B. E., Papinutti, V. L., *Production of Lignocellulosic Enzymes During Growth and Fruiting of The Edible Fungus *Lentinus tigrinus* on Wheat Straw*, *Process Biochemistry*, **2005**, 41, 594-598.

41. Jaszek, M.; Zuchowski, J.; Dajczak, E.; Cimek, K.; Graz, M.; Grzywnowicz, K., *Ligninolytic Enzymes Can Participate in a Multiple Response System to Oxidative Stress in White-Rot Basidiomycetes: *Fomes fomentarius* and *Tyromyces pubescens**, *International Biodeterioration & Biodegradation*, **2006**, 58, 168–175.

42. Jaszek, M.; Grzywnowicz, K.; Malarczyk, E.; Leonowicz, A., *Enhanced Extracellular Laccase Activity as a Part Of The Response System of White Rot Fungi: *Trametes versicolor* and *Abortiporus biennis* to Paraquat-Caused*

Oxidative Stress Conditions, Pesticide Biochemistry and Physiology, **2006**, 85(3), 147-154.

43. Songulashvili, G.; Elisashvili, V.; Wasser, S. P.; Nevo, E.; Hadar, Y., *Laccase and Manganese Peroxidase Activities of *Phellinus robustus* and *Ganoderma adspersum* Grown on Food Industry Wastes in Submerged Fermentation*, *Biotechnol Lett*, **2006**, 28, 1425-1429.

44. Stajic, M.; Persky, L.; Friesem, D.; Hadar, Y.; Wasser, S. P.; Nevo, E.; Vukojevic, J., *Effect of Different Carbon and Nitrogen Sources on Laccase and Peroxidases Production by Selected *Pleurotus* Species*, *Enzyme and Microbial Technology*, **2006**, 38, 65–73.

45. Elisashvili, V.; Penninckx, M.; Kachlishvili, E.; Asatiani, M.; Kvesitadze, G., *Use of *Pleurotus dryinus* for Lignocellulolytic Enzymes Production in Submerged Fermentation of Mandarin Peels and Tree Leaves*, *Enzyme Microb Technol*, **2006**, 38, 998–1004.

46. Urek, R. O.; Pazarlioglu, N. K., *Enhanced Production of Manganese Peroxidase by *Phanerochaete chrysosporium**, *Agriculture, Agribusiness and Biotechnology*, **2007**, 1-12.

47. Xavier, A. M. R. B.; Tavares, A. P. M.; Ferreira, R.; Amado, F., *Trametes versicolor Growth and Laccase Induction with by-Products of Pulp and Paper Industry*, *Electronic Journal of Biotechnology*, ISSN: 0717-3458, **2007**, 10 (3), 444-451.

48. Songulashvili, G.; Elisashvili, V.; Wasser, S.P.; Nevo, E.; Hadar, Y., *Basidiomycetes Laccase and Manganese Peroxidase Activity in Submerged*

Fermentation of Food Industry Wastes, Enzyme and Microbial Technology, **2007**, 41(1-2), 57-61.

49. Elisashvili, V.; Penninckx, M.; Kachlishvili, E.; Tsiklauri, N.; Metreveli, E.; Kharziani, T.; Kvesitadze, G., *Lentinus edodes and Pleurotus Species Lignocellulolytic Enzymes Activity in Submerged and Solid-State Fermentation of Lignocellulosic Wastes of Different Composition*, *Bioresource Technology*, **2007**, 99 (3), 457-462.

50. Valaskova, V.; Snajdr, J.; Bittnerb, B.; Cajthaml, T.; Merhautova, V.; Hofrichter, M.; Baldrian, P., *Production of Lignocellulose-Degrading Enzymes and Degradation of Leaf Litter by Saprotrophic Basidiomycetes Isolated from a Quercus Petraea Forest*, *Soil Biology & Biochemistry*, **2007**, 39, 2651–2660.

51. Janusz, G.; Rogalski, J.; Szczodrak, J., *Increased Production of Laccase by Cerrena Unicolor in Submerged Liquid Cultures*, *World J. Microbiol. Biotechnol*, **2007** 23, 1459–1464.

52. Chi, Y.; Hatakka, A.; Maijala, P., *Can Co-Culturing of Two White-Rot Fungi Increase Lignin Degredation and Production of Lignin-Degrading Enzymes?*, *International Biodeterioration & Biodegradation*, **2007**, 32-39.

53. Membrillo, I.; Sánchez, C.; Meneses, M.; Favela, E.; Loera, O., *Effect of Substrate Particle Size and Additional Nitrogen Source on Production of Lignocellulolytic Enzymes by Pleurotus ostreatus Strains*, *Bioresource Technology*, **2008**, 99, (16), 7842-7847.

54. Levin, L.; Herrmann, C.; Papinutti, V. L., *Optimization of Lignocellulolytic Enzyme Production by the White-rot Fungus Trametes*

trogii in Solid-State Fermentation Using Response Surface Methodology, *Biochemical Engineering Journal*, **2008**, 39, 207-214.

55. Kalmış, E.; Yaşa, İ.; Kalyoncu, F.; Pazarbaşı, B.; Koçyiğit, A., *Ligninolytic Enzyme Activities in Mycelium of Some Wild and Commercial Mushrooms*, *African Journal of Biotechnology*, **2008**, 7 (23), 4314-4320.

56. Neifar, M. ; Jaouani, A. ; Ellouze-Ghorbel, R. ; Ellouze-Chaabouni, S. ; Penninckx, M. J., *Effect of Culturing Processes and Copper Addition on Laccase Production by The White-Rot Fungus Fomes fomentarius MUCL 35117*, *Letters in Applied Microbiology*, ISSN 0266-8254, **2009**, 1-6.

57. Erden, E.; Ucar, M. Ç.; Kaymaz, Y.; Pazarlioglu, N. K., *New and Different Lignocellulosic Materials from Turkey for Laccase and Manganese Peroxidase Production by Trametes versicolor*, *Eng. Life Sci*, **2009**, 9(1), 60-65.

3. MATERYAL ve METOT

3.1. MATERYAL

Çalışmada kullanılan funguslar, bölgemizde farklı tarihlerde yapılan arazi çalışmalarından sağlanmıştır. Dicle Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji Araştırma Laboratuvarına getirilerek tür tespiti yapılan funguslardan ana kültür olarak misel elde edilmiştir. Makrofungusların tanıları makroskopik incelemeler, ekolojik yapısal özelliklerle ilgili arazi çalışması ve saklanan örnekler kullanılarak yapılmıştır. Türlerin tanısı yaygın olarak kullanılan anahtar ve eserler vasıtasıyla yapılmıştır.^{1,2,3} Arazi çalışmasında toplanılan ve bu çalışmada kullanılan türler ve toplandığı yerler Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Deneysel çalışmada kullanılan pamuk sapı Mardin Göllü Köyünden, peynir altı atık suyu ise Diyarbakır Peynirciler Çarşısından temin edilmiştir.

3.2. METOT

3.2.1. Elde Edilen Funguslardan Ana Kültürlerin Elde Edilmesi

Dicle Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji Araştırma Laboratuvarına getirilerek yüzey dezenfeksiyonu yapılan fungus örnekleri, HEPA Filtreli Laminar Flow içerisinde, önceden hazırlanmış cam petri kapları içerisindeki %2’lik Malt ekstrakt-agar ortamına, şapkanın etli kısmından yaklaşık olarak 2-3 mm büyüklüğünde küçük bir parça steril bistüri yardımıyla kesilerek aktarılmıştır. Daha sonra petrilerin kapakları kapatılarak etiketlenmiş ve ana kültürlerin gelişmesi için 25°C’de inkübasyona bırakılmıştır. Aktarma işlemi tekrarlanarak bulaşık olmayan saf ana kültür eldesi sağlanmıştır. Daha sonra elde edilen misel, deneysel çalışmaların diğer aşamalarda kullanılmak üzere +4°C’de buzdolabında bekletilerek muhafaza edilmiştir.

3.2.2. Makrofungusların Prekültürasyonu

Buzdolabında muhafaza edilen fungus kültürleri, submerged kültür koşullarına aktarılması için prekültürasyonu yapılmıştır. Yapılan çalışmada besiyeri olarak Sabouraud dekstroz broth (30g/l) kullanılmıştır. Bu amaçla, 250 ml'lik erlenlerin her birine 100 ml besiyeri hazırlanmıştır. Bu besiyeri 121°C'de 15 dakika süreyle otoklavda bekletilerek steril edilmiştir. Hazırlanan sıvı kültür ortamına, malt ekstrakt-agarla birlikte yaklaşık olarak 1cm² büyüklüğünde parçalara bölünen misellerden 3 kesit aktararak, 150 rpm'de programlanmış çalkalayıcıyla 25±2°C'de kültüre alınmıştır. Kültürde yedi günlük inkübasyon süresinin sonunda oluşan peletler, steril koşullarda (Heidolph marka) homojenizatörle homojenize edilmiştir. Daha sonra homojenat submerged kültür işlemleri için kullanılmıştır.

3.2.3. Submerged Kültür Koşullarının Hazırlanması

Kültür koşulları, Songulasvili ve ark.⁴ (2007)'nin yöntemi, modifiye edilerek hazırlanmıştır. Farklı atık maddeler 60°C'de kurutulduktan sonra öğütülerek un haline getirilmiştir. 250 ml lik erlenlerde hazırlanan sıvı ortam, 150 rpm olarak programlanmış çalkalamalı shakerda 27±2°C'de kültüre alınmıştır.

Çalışmada kullanılan pamuk sapı (P); 60°C'de kurutulduktan sonra öğütülerek un haline getirilmiştir. Temel besi yeri olarak, sabouraud dextrose broth (BioChemika, SDB) ve peynir altı suyu (PAS) kullanılmıştır.

I. GRUP (SDB)

Litresinde 30 g SDB bulunan besiyeri, 250 ml'lik erlenlerin her birisine 100 ml olacak şekilde hazırlandı.

II. GRUP (SDB+P)

Litresinde 30 g SDB bulunan besiyerine 30 g pamuk sapı (P) eklenerek, 250 ml'lik erlenlerin her birisine 100 ml olacak şekilde hazırlandı.

III. GRUP (PAS)

20:100 oranında sulandırılmış peynir altı suyu (PAS), 250 ml'lik erlenlere 100 ml olacak şekilde hazırlandı.

IV. GRUP (PAS +P)

20:100 oranında sulandırılmış peynir altı suyu ile beraber 1 litreye 30 g pamuk sapı (P) eklenerek 250 ml'lik erlenlere 100 ml olacak şekilde hazırlandı.

Tüm deneme grupları, 121°C'de 15 dakika süreyle otoklavda steril edildi. Hazırlanan besiyerlerine 3 ml homojenat aktarılarak, 150 rpm'e programlanmış çalkalayıcıda 27±2°C'de kültüre alınmıştır. Deneyler 3 tekrarlı olarak hazırlanmıştır. 7, 10 ve 15. inkübasyon günlerinde 5 ml sıvı alınarak süzölmüş ve cam tüplere aktarılmıştır. Alınan sıvı örnekler, ekstraselüler enzim ölçümleri için -18°C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.4. Submerged Kültür Koşullarında Gelişen Mikroorganizmalarda Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

Submerged kültür koşullarında gelişen mikroorganizmaların Lakkaz, LiP ve MnP enzim aktivitelerini hesaplamak için literatüre^{5,6} göre uygun tampon çözeltiler modifiye edilerek hazırlanmıştır. Her tür için 7, 10 ve 15. gün spektrofotometrede (Schimadzu UV-VIS).uygun nanometrelerde absorbans okunmuş ve enzim aktiviteleri hesaplanmıştır.

3.2.5.Uygun Tamponların Hazırlanması ve Enzim Aktivitelerinin Hesaplanması

Yapılan ön çalışmalarla, enzim aktivitelerinin optimum olarak ölçebileceğimiz pH değerleri tespit edilmiştir. Buna göre; LiP aktivitesinin ölçülmesi için optimum pH=2.5, MnP ve Lakkaz için ise pH=4 olarak bulunmuştur. Bu nedenle, çalışmada adı geçen enzimlerin aktivitelerinin ölçülmesi için belirlenen pH'da aktivite ölçümü yapılmıştır.

3.2.5.1.1. Enzim aktivite tayin yöntemleri

3.2.5.1.1.1. MnP enzim aktivitesi ölçümü

Kimyasalların Hazırlanması

20 mM 2,6-DMP → 0.03084 g tartılıp distile su ile 10 ml'ye tamamlanır.
0.07710 g tartılıp distile su ile 25 ml'ye tamamlanır.

20 mM MnSO₄ → 0.03020 g tartılıp distile su ile 10 ml'ye tamamlanır.
0.07550 g tartılıp distile su ile 25 ml'ye tamamlanır.

4 mM H₂O₂ → 0.00860 ml alınıp distile su ile 25 ml'ye tamamlanır.
0.03440 ml alınıp distile su ile 100 ml'ye tamamlanır.

Na-Tartartat Tamponu

3 M Tartarik asit → 4.50270 g tartılıp distile su ile 10 ml'ye tamamlanır

0,25 M Na-ditartarat → 5.75200 g tartılıp distile su ile 100 ml'ye tamamlanır.

Sonra da hazırlanan çözelti tartarik asitle pH 4.5'a ayarlanır.

Ölçüm Yöntem

0,25 M Na-tartarat (pH 4.5) 1.8 ml

↓

20 mM 2,6 DMP 0.15 ml

	↓	
20 mM MnSO ₄		0.15 ml
	↓	
Enzim (kör için denatüre)		0.6 ml
	↓	
4 mM H ₂ O ₂		0.3 ml

Aktivite Ölçümü

469 nm'de 3 dakika boyunca 10 saniye aralıkla ölçüm alınır ($\epsilon_{469} = 27500$)

Δ Abs hesaplanarak aktivite hesaplaması yapılmaktadır.

Hesaplanması

A/ 1.8 = U/ml (MnP için 25°C de 469 nm dalga boyunda absorbanansı 1 birim artıran enzim miktarı Unit aktivite olarak hesaplandı).

3.2.5.1.1.2. LiP enzim aktivitesi ölçümü

Kimyasalların Hazırlanması

200 mM veratril alkol → 0.75750 ml alınıp distile su ile 25 ml'ye tamamlanır.

3.03000 ml alınıp distile su ile 100 ml'ye tamamlanır.

4 mM H₂O₂ → 0.00860 ml alınıp distile su ile 25 ml'ye tamamlanır.

0.03440 ml alınıp distile su ile 100 ml'ye tamamlanır.

Na-Tartartat Tamponu

3 M Tartarik asit → 4.50270 g tartılıp distile su ile 10 ml'ye tamamlanır

0,1 M Na-ditartarat → 2.30080 g tartılıp distile su ile 100 ml'ye tamamlanır.

Sonra da hazırlanan çözelti tartarik asitle pH 2.5'a ayarlanır.

Ölçüm Yöntemi

0,25 M Na-tartarat (pH 2.5)	2.3 ml
	↓
200 mM Veratril alkol	0.3 ml
	↓
Enzim (kör için denatüre)	0.1 ml
	↓
4 mM H ₂ O ₂	0.3 ml

Aktivite Ölçümü

310 nm'de 3 dakika boyunca 10 saniye aralıkla ölçüm alınır ($\epsilon_{310} = 9,3$)

Δ Abs hesaplanarak aktivite hesaplama yapılmaktadır.

Hesaplanması

$A/0.3 = U/ml$ (LiP için 37°C de 310 nm dalga boyunda absorbanı 1 birim artıran enzim miktarı Unit aktivite olarak hesaplandı).

$$Akt = \Delta Abs / \epsilon \times 3/1000 \times 10^6 \times 1/t \times 1/V_{enzim} = U/ml$$

↓ ↓ ↓

Molarite dönüşümü μ mol Enzim miktar (MnP ve LiP için geçerli)

3.2.5.1.1.3. Lakkaz enzim aktivitesi ölçümü

Na-Asetat Tamponu

Asetik asit → 1.80000 ml alınıp distile su ile 600 ml'ye tamamlanır.

Na-asetat → 2.72160 g tartılıp distile su ile 400 ml'de çözülür.

Na-asetat tamponu asetik asit ile pH'ı 4.5'a tamamlanır

(Asetik asidin nerdeyse tamamı kullanılmaktadır. Toplam hacim yaklaşık 900 ml olmaktadır)

0.02 ml guaiakol alınıp pH 4.5'a ayarlanmış Na-asetat tamponu ile 200 ml'ye tamamlanır.

0.08 ml guaiakol alınıp pH 4.5'a ayarlanmış Na-asetat tamponu ile 800 ml'ye tamamlanır.

Ölçüm Yöntemi

4.9 ml guaiakol tampon çözelti (substrat)

↓

0.1 ml enzim (kör için denatüre enzim)

↓

37 °C'de 15 dakika su banyosunda inkübasyona bırakılır.

↓

465 nm'de absorbans okunur.

Hesaplaması

$A/0.15 = U/ml$ (Lakkaz için 37°C de 465 nm dalga boyunda absorbanı 0.1 birim artıran enzim miktarı Unit aktivite olarak hesaplandı.)

3.3. VERİLERİN İSTATİSTİK ANALİZİ

Deneyler 3 tekrarlı olarak yapılmıştır. Elde edilen verilerin analizi ANOVA'ya göre yapılmıştır. Gruplar arasındaki farkın belirlenmesinde Duncan'ın çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır. Ortamlar arasındaki fark, $P<0,05$ olduğu zaman önemli kabul edilmiştir.

Çizelge 3.1: Çalışmada Kullanılan Türler ve Toplandığı Yerler

Türler	Toplandığı Yer
1. <i>Coriolus versicolor</i> 1	Mardin, Mazıdağ, Merkez, dere kenarı, kesilmiş söğüt ve kavak kütükleri üzerinde
2. <i>Coriolus versicolor</i> 2	Diyarbakır Çermik, Sinak Çayı çevresi söğüt ve kavak kütükleri üzerinde
3. <i>Agrocybe aegerita</i> 1	Diyarbakır Merkez Dicle Üniversitesi Kampüsü, kavak ağacı kütüklerin üzerinde
4. <i>Agrocybe aegerita</i> 2	Mardin Nusaybin Beyazsu Beldesi, kavak ağacı kütüklerinin üzerinde
5. <i>Armillariella tabescens</i> 1	Diyarbakır Merkez, Yenişehir Belediyesi Piknik Alanı, kesilmiş ağaç kütüklerinin üzerinde (çoğunlukla kavak)
6. <i>Armillariella tabescens</i> 2	Mardin Savur Sürgücü Beldesi, kesilmiş ağaç kütükleri üzerinde
7. <i>Fomes fomentarius</i> 1	Diyarbakır Çermik, Sinak Çayı çevresi, ağaç gövdeleri üzerinde
8. <i>Fomes fomentarius</i> 2	Mardin Nusaybin Çağlar Köyü, ağaç gövdeleri üzerinde
9. <i>Pleurotus ostreatus</i>	Diyarbakır Merkez Dicle Üniversitesi Kampüsü, söğüt ağacı kütükleri üzerinde

3.4. KAYNAKLAR

1. Gücin, F., *Elazığ İli Sınırları İçinde Yetişen Bazı Makrofunguslar Üzeinde Taksonomik Bir Araştırma*, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Bornova, İzmir, **1983**.
2. Dermek, A., *Mushrooms and Other Fungi*, Dorset Press, New York, **1984**.
3. Heim R., *Champignons D'europa*, Editions N. Boubee & Cie, Paris, **1969**.
4. Songulashvili, G.; Elisashvili, V.; Wasser, S. P.; Nevo, E.; Hadar ,Y., *Basidiomycetes Laccase and Manganese Peroxidase Activity in Submerged Fermentation of Food Industry Wastes*, *Enzyme and Microbial Technology*, **2007**, 41 (1-2), 57-61.
5. Erden, E.; Ucar, M. Ç.; Kaymaz, Y.; Pazarlioglu, N. K., *New and Different Lignocellulosic Materials from Turkey for Laccase and Manganese Peroxidase Production by Trametes versicolor*, *Eng. Life Sci*, **2009**, 9, (1), 60–65.
6. Sık, S.; Ünyayar, A., *Pamuk Sapı ile Phanerochaete chrysosporium ve Funalia trogii'nin Yarı-Katı Fermentasyonu Sonucu Olusan Lakkaz, Peroksidaz, Ligninaz ve Selülaz Aktiviteleri*, *Tr. J. of Biology*, **1998**, 22, 287-298.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. TÜRLERİN TESPİTİ

Diyarbakır ve Mardin illerinde arazi çalışması için makrofungusların yetiştirme şartları göz önünde bulundurularak, 8 istasyon belirlenmiştir. İstasyonlar ve çalışmanın yapıldığı tarihler aşağıda belirtilmektedir.

İstasyonlar:

1. Diyarbakır Çermik, Çüngüş ve çevresi (15-16/03/08)
2. Diyarbakır Silvan, Hazro, Kulp ve çevresi (12-13/04/08)
3. Diyarbakır Bismil, Çınar ve çevresi (15-16/04/08)
4. Diyarbakır Dicle, Eğil ve çevresi (01-02/04/08)
5. Mardin Midyat, Nusaybin ve çevresi (22-23/03/08)
6. Mardin Kabala, Yeşilli, Ömerli, Savur ve çevresi (7-8/04/08)
7. Mardin Mazıdağ, Derik, Kızıltepe ve çevresi (29-30/03/08)
8. Mardin- Diyarbakır Merkez köyler ve çevreleri (17/03/08 ile 20/04/08)

Genellikle kavak ve söğüt ağaçlarının bol bulunduğu, gölgelik veya az güneş gören dere kenarları, bölgemizde bulunan baraj göllerinin ağaçlık yerleri, dağ yamaçlarında konumlanmış bağ, bahçelerde mantar örneklerinin toplanması amacıyla arazi çalışması yapılmıştır. Buradan elde edilen bulgular, diğer araştırmacıların^{1,2,3} belirttiği makrofungusların tercih ettiği veya bulunduğu çevresel ve iklimsel özellikleriyle örtüşmektedir.

Mardin ve çevresinde yapılan arazi çalışmasında ayrıca *Agaricus sp.*, *Coprinus micaceus* ve *Coprinus atramentarius*'da tespit edilmiştir. Mardin'de daha önce makrofungus tespiti yapılmadığı için bulgular literatüre ilk olarak eklenmektedir. Ancak saptanan tür sayısının az olmasının nedeninin bölgede var olan

kuraklığın olduğunu düşünmekteyiz. 2007 sonbahar ve 2008 ilkbahar aylarında yeterli yağışın olmaması ile mantarın doğal olarak yetişmesi için gerekli nemin oluşmaması ve hava sıcaklığındaki ani artış, hem mantar türlerinin doğadaki yetişmesini ve hem de makrofungus florasındaki tür çeşitliliğini etkilediği gözlenmiştir.

4.2. LİGNOLİTİK ENZİM ÜRETİMİ

Farklı habitatlardan elde edilen 9 *Basidiomycetes*'in lignolitik aktiviteleri incelenmiş ve incelenen bütün funguslarda ortam koşullarına ve fermentasyon sürelerine bağlı olarak değişen Lakkaz, LiP ve MnP aktivitesi gözlenmiştir.

Lignolitik enzim üretim oranı, ortamın kompozisyonu, C/N oranı, pH, sıcaklık, havalandırma gibi birçok faktörden etkilenmektedir. Bu enzimlerin aktivitesi, mantarların fizyolojik karakterine etki eden kültür ortamına bağlıdır.⁴ Bu durum farklı habitatlarda yetişen türlerin farklı miktarlarda enzim üretebileceği veya bunlardan farklı izoformların var olabileceği düşündürmektedir.

4.2.1. Submerged Fermentasyon Koşullarında Lakkaz Enzimi Üzerine Farklı Ortamların Etkisi

Yapılan çalışmada farklı kültür koşulları kullanılarak, doğal yaşam alanlarından elde edilen fungusların fermentasyonun 7. gününde, en yüksek Lakkaz aktivitesi sırasıyla; 57.24 U/ml olarak *A. tabescens* 1'in SDB+P ortamından, 27.33 U/ml olarak *C. versicolor* 2'in SDB+P ortamından ve 20.32 U/ml olarak da *C. versicolor* 2'in SDB ortamından elde edilmiştir. En düşük aktivite (sırasıyla 0.03 ve 0.14 U/ml), *A. aegerita*'nin SDB ve PAS+P ortamlarından elde edilmiştir. Bu türler için Lakkaz aktivitesinin SDB+P ortamında, *A. tabescens* 1'de, diğer ortamlara göre,

C. versicolor 2’de ise sadece PAS ortamında istatistiksel olarak farklılık gösterdiği gözlenmiştir (Çizelge 4.1).

En yüksek Lakkaz aktivitesi, 10. günde, sırasıyla 107.83 U/ml olarak *A. tabescens* 2’nin PAS+P ortamında, 88.74 U/ml olarak *F. fomentarius* 2’in PAS+P ortamında ve 80.84 U/ml olarak da *A. tabescens* 1’nin SDB+P ortamında elde edilmiştir. İstatistiksel olarak farklı türlerin en yüksek Lakkaz aktivitesi gösterdiği ortamlar diğer ortamlardan farklıdır (Çizelge 4.2). En düşük aktivite ise *A. aegerita* 2 ve *F. fomentarius* 2’nin PAS ortamında sırasıyla 2.60 ve 2.66 U/ml olarak belirlenmiştir.

En yüksek Lakkaz aktivitesi 15. günde sırasıyla; 150.47 U/ml olarak *A. tabescens* 1’nin SDB+P ortamında, 100.24 U/ml olarak *A. tabescens* 2’nin PAS+P ortamında ve 83.85 U/ml olarak da *A. tabescens* 2’nin SDB+P ortamında tespit edilmiştir. Lakkaz aktivitesinin en yüksek gözleendiği ortamlar, her tür için farklılık göstermiştir (Çizelge 4.3). En düşük aktivite ise, 2.97 U/ml olarak *C. versicolor* 1’nin PAS+P ve 3.03 U/ml olarak *A. tabescens* 1’nin SDB ortamında tespit edilmiştir. Türe özgü, en yüksek ve en düşük aktivitenin tespit edildiği ortamlar Çizelge 4.3’te gösterilmiştir.

En yüksek Lakkaz aktivitesi 150.47 U/ml olarak *A. tabescens* 1’nin SDB+P ortamında fermentasyonun 15. gününde tespit edilirken, *A. aegerita* 2’ nin yetiştiği PAS ortamında ise fermentasyonun 7. gününde tespit edilmemiştir. Fermentasyon süresi arttıkça Lakkaz aktivitesi; *P. ostreatus*’un değişik kültür ortamlarında genel olarak arttığı, fakat diğer türler için bu konuda artma veya azalma yönünde genel bir sonuç elde edilmemiştir (Grafikler; 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9).

Ortamdaki pamuk sapının enzim aktivitesini indüklediği ve ortam koşullarının enzim aktivitesi üzerinde etkili olduğu saptanmıştır. Ayrıca farklı bölgelerden elde ettiğimiz aynı türlerin aynı kültür koşullarında farklı Lakkaz aktivitesi gösterdiği tespit edilmiştir. Lakkaz aktivitesindeki farklılığın türlerin ve suşların farklılığından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Bu durum literatürle de örtüşmektedir.^{5,6,7} Yapılan çalışmada 7 gün gibi kısa bir sürede elde edilen Lakkaz aktivitesinin literatürdeki farklı türlerden elde edilen verilerden^{6,8, 9,10,11,12,13,14,15,16,17} daha yüksek olduğu gözlenmektedir. Ayrıca fermentasyon süresi uzadıkça Lakkaz aktivitesinin bazı türlerde arttığı belirlenmiştir. Bu durumun ortamda besin kalmaması sonucunda türün strese maruz kaldığı ve bu stres durumunun literatürde de belirtildiği gibi^{18,19} Lakkaz aktivitesini teşvik ettiğini düşünmekteyiz.

Bunun sonucunda, yeni türlerin ve suşlarının biyoteknolojik uygulamalar için değerlendirilmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

4.2.2. Submerged Fermentasyon Koşullarında MnP Enzimi Üzerine Farklı Ortamların Etkisi

Farklı bir grup peroksidaz olan MnP ne bakteri, ne maya, ne küf ne de mikoriz *Basidiomycetes*'de tespit edilmiştir. *Basidiomycetes*'in beyaz çürükçül ve bazı yumuşak çürükçüllerde salınımı olduğu²⁰ ve diğer lignolitik enzimlerden daha çok yayılım gösterdiği ve yoğun olarak araştırılan pozitif bir alternatif olduğu düşünülmektedir.²¹

Yapılan çalışmada farklı kültür koşulları kullanılarak, doğal yaşam alanlarından toplanılan fungusların fermentasyonun 7. gününde en yüksek MnP aktivitesi sırasıyla; 0.6232 U/ml olarak *A. tabescens* 1'de SDB+P ortamından, 0.1428 U/ml olarak *C. versicolor* 2'de PAS ortamından ve 0.0522 U/ml olarak da *A.*

tabescens 2’de SDB+P ortamından elde edilmiştir. Çalışılan türlerin çoğunda genellikle fermentasyonun 7. gününde MnP aktivitesinin görülmediği tespit edilmiştir. Ayrıca farklı ortamların MnP aktivitesi üzerine etkisi istatistiksel olarak birbirinden farklılık göstermektedir (Çizelge 4.4).

Fermentasyonun 10. gününde en yüksek MnP aktivitesileri, 0.9548 U/ml olarak *A. tabescens* 1’in SDB+P ortamında, ayrıca, 0.0521 U/ml olarak *A. tabescens* 2’nin, SDB+P ortamlarında elde edilmiştir. *A. tabescens* 1’in farklı ortamlarının etkileri arasında istatistiksel olarak fark saptanırken, aynı durum *A. tabescens* 2’de gözlenmemiştir (Çizelge 4.5).

Fermentasyonun 15. gününde en yüksek MnP aktivitesi, *A. tabescens* 1’de 0.9895 U/ml olarak SDB+P ortamında, *A. tabescens* 2’de 0.4138 U/ml olarak SDB+P ortamında ve *P. ostreatus*’da da 0.0470 U/ml olarak SDB+P ortamında elde edilmiştir. En yüksek aktivitenin gözlendiği ortamlar arasında istatistiksel olarak farklılık belirlenmiştir. (Çizelge 4.6) Elde edilen MnP aktivitesi (Grafik; 4.10, 4.11, 4.12, 4.13, 4.14, 4.15, 4.16, 4.17, 4.18), literatürde bazı türler için belirlenen MnP aktivitesinden daha yüksek^{22,23,24,25,26,27,28,29,30} ve bazılarından da daha az^{4, 14,31,32,33, 34} olduğu belirlenmiştir.

Yapılan çalışmada en yüksek MnP aktivitesinin *A. tabescens* 1’in SDB+P ortamında fermentasyonun 15. gününde gözlenmesi, Lechner ve Papinutti²⁹ (2005)’nin belirirttiği görüşün tersine, lignin parçalanmasındaki aromatik bileşiklerin peroksidazlar için indükleyici olduğunu düşünmekteyiz. *P. ostreatus* fermentasyonun 7. gününde hiçbir ortamda MnP aktivitesi gözlenmezken, 15. günde yüksek aktivite göstermesinin C/N oranındaki değişime bağlı olabileceğini düşünmekteyiz. Literatürde belirtilen görüşe uygun olarak^{35,36,37} C/N oranının,

lignolitik enzim üretimi üzerine farklı etkisinin olduğunu, bu nedenle farklı stratejiler geliştirilerek yüksek enzim üretimi için stabilitenin sağlanabileceği görüşü bulgularımız tarafından da desteklenmektedir.

Lignoselülozik materyallerin tek başına ortama eklenmesinin *A. tabescens*-2'nin MnP aktivitesini teşvik ettiği gözlemlenmiştir (Çizelge 4.6). Elde edilen sonuçların, lignoselülozik substratlardan kaynaklanan bileşiklerin, lignolitik peroksidazların üretimi için, indükleyici olarak görev yapabildiği fikri literatürle^{4,16} de desteklenmektedir. Ancak fermentasyonun 7. gününde *C. versicolor* 2'de PAS ortamında yüksek aktivitenin elde edilmesinin türe özgü olduğunu, herhangi bir indükleyicinin ortama eklenmesinin MnP aktivitesini teşvik etmediği gözlenmiştir. Bulgularımız Papinutti ve ark.³⁸ (2003) ile uygunluk göstermektedir. PAS ortamında 7. günde *C. versicolor* 2 ile elde edilen sonuca göre, besinlerdeki azot varlığının maksimal enzim aktivitesinin miktarını ve zamanını etkilediği³⁴ görüşü bulgularımız tarafından da desteklenmektedir.

Bu çalışma, ucuz maliyetli ve güvenilir olan pamuk sapı ve peynir altı suyunun lignolitik enzim üretimi ve diğer biyoteknolojik enzimlerin üretiminde kullanılabileceği düşüncesini^{6,31} desteklemektedir.

4.2.3.Submerged Fermentasyon Koşullarında LiP Enzimi Üzerine Farklı Ortamların Etkisi

LiP, ilk olarak *P. chrysosporium*'da keşfedilmiştir.^{21,39,40} Bu enzimin, diğer tipik peroksidazlardan daha güçlü bir oksidant olduğu, ayrıca yalnızca fenol ve analin gibi genel peroksidaz substratları değil, aynı zamanda fenolik olmayan maddeleri de oksitleyebilmektedir.^{25,39} Merkezi lignolitik rol olan LiP'in aktivitesinin, araştırılan birçok *Basidiomycetes*'de saptanmamıştır.

Yaptığımız çalışmada, en yüksek LiP aktivitesi; 7. günde, 140.98 U/ml olarak *A. tabescens* 2'nin SDB ortamında, 86.02 U/ml olarak *C. versicolor* 2'nin SDB ortamında ve 79.96 U/ml olarak da *A. aegerita* 2'nin SDB ortamında elde edilmiştir. *A. aegerita* 1'nin ise 7. günde hiçbir ortamda aktivite gözlenmemiştir. Farklı kültür ortamlarının *A. tabescens* 2 ve *A. aegerita* 2'nin LiP aktivitesi üzerine etkisi istatistiksel olarak farklılık göstermektedir. Bu durum; *C. versicolor* 2 için SDB, PAS+P ve SDB+P ortamları arasında gözlenmemiştir (Çizelge 4.7).

En yüksek LiP aktivitesi 10. günde, 125.45 U/ml olarak *A. tabescens* 2' nin SDB ortamında, 86.02 U/ml olarak, *C. versicolor* 2' nin PAS+P ortamında ve 78.85 U/ml olarak da *A. aegerita* 2' nin SDB ortamında gözlenmiştir. En düşük aktivite, 2.39 U/ml olarak *A. tabescens* 2' nin PAS ortamından elde edilmiştir. En yüksek aktivitenin gözleendiği ortamların etkisinin istatistiksel olarak birbirinden farklı olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.8)

En yüksek LiP aktivitesi; *F. fomentarius* 1, *F. fomentarius* 2 ve *C. versicolor* 2'nin 15. günde, sırasıyla; 47.79, 45.40 ve 45.40 U/ml olarak SDB+P, SDB+P ve SDB ortamlarında tespit edilmiştir. En düşük aktivite ise 2.39 U/ml olarak *F. fomentarius* 2'nin SDB ortamında elde edilmiştir. İstatistiksel olarak, *F. fomentarius* 1 ve *F. fomentarius* 2 suşlarında en yüksek aktivitenin elde edildiği ortamların farklı olduğu, buna karşılık *C. versicolor* 2'nin ise SDB ve PAS+P ortamlarındaki sonucun farklı olmadığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.9).

Fermentasyonun 15 günlük süresi sonunda elde edilen en yüksek LiP aktivitesi (Grafik; 4.19, 4.20, 4.21, 4.22, 4.23, 4.24, 4.25, 4.26, 4.27), literatürle^{4,5,9,12,31,32,35,41} karşılaştırıldığında, bulgularımızın daha yüksek olduğu görülmektedir. Farklı N ve C kaynaklarının LiP üretimi üzerinde farklı etkisinin

olduğun saptanması sonucu, farklı stratejiler geliştirilerek yüksek enzim üretimi için stabilitenin sağlanabileceğini düşünmekteyiz. Papinutti ve ark.³⁸ (2003)'nin belirttiği birçok türde indükleyici kullanımının herhangi bir artışa neden olmadığı görüşü göz önüne alındığında, yüksek LiP aktivitesi bulduğumuz SDB ortamın, basit bir ortam olup, bazı türler için ligninaz üretiminde herhangi bir indükleyicinin burada teşvik edici olmadığı görüşünü desteklemekteyiz.

Çalışmamızda bütün türlerde farklı ortam ve sürelerde farklı LiP aktivitesi gözlenmesi, özellikle fermentasyonun 7. gününde, 140.98 U/ml olarak *A. tabescens* 2'nin enzim aktivitesi, bu türün biyoteknolojik uygulamalar için iyi bir potansiyel ortaya koyduğunu düşünmekteyiz.

4.2.4. PAS Ortamında 15 Günlük Fermentasyon Süresinde Lakkaz, MnP Ve LiP Aktivitesi

Songulashvili ve ark.³⁴ (2007)'nin belirtildiği gibi beyaz çürükçül fungusların lignolitik enzim kompleksleri önemli ölçüde birbirinden farklıdır. Bu türlerden bazıları lignin parçalanması için yalnızca bir enzim salgılamak, diğer bazıları üçten fazla enzim salgılamaktadırlar. Bu farklılık; farklı ortamlara karşı değişik tepkiler oluşturmaktadır. Bundan dolayı, çalışmamızın bu kısmında, ucuz bir maliyetle elde edilebilen peynir altı suyunun (PAS) bulunduğu ortamda geliştirilen türlerin verdiği yanıt değerlendirilmiştir.

Yapılan çalışmada, 7. günde PAS ortamında elde edilen Lakkaz aktivitesi en yüksek, 3.89 U/ml olarak *C. versicolor* 2'de, en düşük aktivite ise 0.61 U/ml olarak *P. ostreatus*'da tespit edilmiştir. Buna karşılık, *A. aegerita* 2'de aktivite gözlenmemiştir. *C. versicolor* 2'nin PAS ortamında 7. günde gösterdiği Lakkaz aktivitesi diğer türlere göre istatistiksel olarak farklı olduğu gözlenmiştir (Çizelge

4.11). MnP aktivitesi, en yüksek miktarda 0.0307 U/ml olarak *C. versicolor* 2’de elde edilirken, diğer örneklerde (*C. versicolor* 1, *A. aegerita* 1, *A. tabescens* 1, *A. tabescens* 2, *F. fomentarius* 1 ve *P. ostreatus*) ise gözlenmemiştir. En yüksek aktivitenin gözleendiği funguslara ait değerler arasında istatistiksel olarak fark saptanmıştır (Çizelge 4.10). LiP aktivitesi en yüksek miktarda *C. versicolor* 1 ve *F. fomentarius* 1’de sırasıyla, 14.34 ve 11.95 U/ml olarak tespit edilmiştir. Bu aktivite *C. versicolor* 2, *A. aegerita* 1, *F. fomentarius* 2 ve *P. ostreatus*’da ise gözlenmemiştir. Aktivitenin en yüksek düzeyde gözleendiği türlerin ortamlara tepkisi de istatistiksel olarak birbirinden farklı olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.10).

Lakkaz aktivitesi, 10. günde en yüksek 7.18 U/ml olarak *P. ostreatus*’da, en düşük ise 2.60 U/ml olarak *A. aegerita* 2’de tespit edilmiştir. Lakkaz aktivitesi bakımından *P. ostreatus* 10. günde diğer türlerden istatistiksel olarak daha etkili olduğu gözlenmiştir (çizelge 4.11). MnP aktivitesi *C. versicolor* 2’de en yüksek 0.0053 U/ml olarak gözlenirken, *C. versicolor* 1 ve *F. fomentarius* 1’de ise gözlenmemiştir. *C. versicolor* 2, 10. günde MnP aktivitesi bakımından diğer türlere göre istatistiksel olarak farklılık göstermektedir (Tablo 4.11). LiP aktivitesi, *F. fomentarius* 1’de en yüksek 32.26 U/ml olarak gözlenirken, *C. versicolor* 2, *A. aegerita* 1, *A. aegerita* 2, *F. fomentarius* 2 ve *P. ostreatus*’da da gözlenmemiştir. *F. fomentarius* 1, LiP aktivitesi bakımından diğer türlerden istatistiksel olarak farklı olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.11).

Lakkaz, MnP ve LiP aktivitesi, *A. tabescens* 2, *P. ostreatus* ve *F. fomentarius* 1’de 15. günde en yüksek miktarda sırasıyla; 17.32, 0.0143 ve 9.56 U/ml olarak tespit edilmiştir. En yüksek Lakkaz, MnP aktivitesinin gözleendiği türler arasında istatistiksel olarak farklılık olduğu, buna karşılık LiP aktivitesi için ise *P. ostreatus*,

F. fomentarius 1 ve *C. versicolor* 1'de elde edilen değerlerin farklı olmadığı gözlenmiştir (Çizelge 4.12).

Çalışılan bütün türlerde her hangi bir indükleyicinin olmadığı PAS ortamında, fermentasyonun farklı günlerinde Lakkaz aktivitesi tespit edilmiştir (Çizelge 4.10, 4.11, 4.12). LiP aktivitesi çalışılan türlerden sadece *C. versicolor* 2'de gözlenmemiştir. MnP aktivitesi ise bazı ortamlarda çok az miktarda gözlenmiş, bazılarında da gözlenmemiştir. Aynı türün farklı yerlerden toplanmış örneklerinde, lignolitik enzim aktivitesindeki değişiklik, literatürde^{42,26} da belirtildiği gibi tür içindeki varyasyonların spesifikliğinden kaynaklandığını, bunun kültürasyonuna karşı farklı yanıt olarak oluştuğunu düşünmekteyiz. Sonuç olarak Kalmış ve ark.²⁷ (2008)'nın belirtildiği gibi, doğadaki değişik özellikleri bünyesinde barındıran organizmaların biyoteknolojik uygulamalar için de en büyük kaynak olduğu görüşü bulgularımız tarafından da desteklenmektedir.

4.2.5. SDB Ortamında 15 Günlük Fermentasyon Süresinde Lakkaz, MnP ve LiP Aktivitesi

Papinutti ve ark.³⁸ (2003)'nın belirttiği, birçok türde indükleyici kullanımının herhangi bir aktivite artışına neden olmadığı göz önüne alınarak, çalışmanın bu kısmında herhangi bir indükleyici kullanılmamıştır. SDB ortamının 7. gündeki en yüksek Lakkaz aktivitesi 18.33 U/ml olarak *C. versicolor* 2'de, MnP aktivitesi 0.032 U/ml olarak *F. fomentarius* 2'de ve LiP aktivitesi ise 140.98 U/ml olarak *A. tabescens* 2'de tespit edilmiştir. En düşük aktivite ise sırasıyla; 0.03 U/ml olarak *A. aegerita* 2'de, 0.0001 U/ml olarak *A. tabescens* 2, *F. fomentarius* 1 ve *P. ostreatus*' da ve 3.58 U/ml olarak da *A. tabescens* 1'de tespit edilmiştir. Çalışılan bütün türlerde Lakkaz ve MnP aktivitesi 7. günde gözlenirken, *F. fomentarius* 1, *F. fomentarius* 2,

A. aegerita 1 ve *C. versicolor* 1’de LiP aktivitesi gözlenmemiştir. Her bir enzim aktivitesi için yüksek değer elde edilen fungusa ait aktivite değerlerinin, diğer örneklere ait değerlerden istatistiksel olarak farklı olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.13).

Lakkaz, MnP ve LiP aktivitesi 10. günde en yüksek değerde sırasıyla; 11.76 U/ml olarak *F. fomentarius* 2’de, 0.0014 U/ml olarak *F. fomentarius* 2’ de ve 125.45 U/ml olarak *A. tabescens* 2’de tespit edilmiştir. *F. fomentarius* 2, *A. tabescens* 2 ve *P. ostreatus*’un Lakkaz aktivitesi değerleri arasında istatistiksel olarak arasında herhangi bir fark tespit edilmemiştir. Çalışılan örneklerden *C. versicolor* 2, *A. tabescens* 1 ve *A. tabescens* 2’de 10. günde MnP aktivitesinin gözlenmemesi ve *C. versicolor* 1, *F. fomentarius* 1 ve *F. fomentarius* 2’ de de LiP aktivitesinin gözlenmemesini (Çizelge 4.14) benzer bir şekilde çalışılan birçok fungusta da Hammel³⁹ (1997)’in belirttiği gibi, lignolizinin besin azlığında sekonder metabolizma sırasında meydana geldiğini, fungusun substratı elde edebildiği durumda, metabolik olarak pahalı olan bu lignolitik ajanların sentezini ve salınımını yapmadığını düşünmekteyiz.

Fermentasyonun 15. gününde en yüksek Lignolitik aktivite Lakkaz için, sırasıyla; 21.86, ve 21.68 U/ml olarak *A. tabescens* 2 ve *F. fomentarius* 2’de gözlenmiş, MnP ve LiP için ise *C. versicolor* 2’de sırasıyla; 0.0049, ve 45.40 U/ml olarak tespit edilmiştir. En yüksek Lakkaz, MnP ve LiP aktivitelerin gözlendiği örneklere ait değerlerin diğer örneklere ait aktivite değerlerinden istatistiksel olarak farklı olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.15).

Özellikle bazı örneklerde LiP aktivitesi için herhangi bir indükleyicinin gerekli olmayışı, LiP üretimini artırmak için hem ucuz kültür ortamının hem de en

yüksek aktivitenin gözleendiği *A. tabescens 2*'nin biyoteknolojik uygulamalarda değerlendirilmesi için en uygun örnek olarak önerebiliriz.

4.2.6. PAS+P Ortamında 15 Günlük Fermentasyon Süresinde Lakkaz, MnP ve LiP Aktivitesi

Biyoteknolojik işlemlerde çok miktarda düşük maliyetli enzimlerin gerekliliğinden dolayı, üretim için lignoselülozik atıkların kullanılması ve lignolitik enzimleri iyi üretebilen türlerin tespiti takdir edilebilecek bir yaklaşım olarak görülmektedir.³⁴

Bu durum göz önüne alınarak Güneydoğu Anadolu Bölgesinde bol bulunan pamuk sapını indükleyici olarak kullanıldığı PAS+P ortamının 7. gününde en yüksek Lakkaz, MnP ve LiP aktiviteleri sırasıyla, 12.61, 0.0444 ve 53.09 U/ml olarak, *A. tabescens 2*, *F. fomentarius 2* ve *C. versicolor 2*'de belirlenmiştir. İstatistiksel olarak PAS+P ortamında, Lakkaz aktivitesi için *A. tabescens 2* ve *F. fomentarius 2* türleri arasında fark gözlenmemiştir. En yüksek MnP aktivitelerinin elde edildiği *A. tabescens 1*, *A. tabescens 2* ve *F. fomentarius 2* arasında da istatistiksel olarak bir fark belirlenmemiştir (Çizelge 4.16).

10. günde belirlenen en yüksek Lakkaz, MnP ve LiP aktiviteleri sırasıyla; *A. tabescens 2*, *F. fomentarius 2* ve *C. versicolor 2*'de belirlenmiştir (107.83, 0.3500 ve 86.02 U/ml). En yüksek Lakkaz, MnP ve LiP aktivitelerin gözleendiği örneklere ait değerlerin diğer örneklere ait aktivite değerlerinden istatistiksel olarak farklı olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.17).

Lakkaz, MnP ve LiP aktivitelerinin 15. gündeki değerleri incelendiğinde, en yüksek Lakkaz aktivitesinin yine *A. tabescens 2*'de (100.24 U/ml) belirlendi. Ancak en yüksek MnP aktiviteleri, sırasıyla; 0.0177 ve 0.0161 U/ml olarak *P. ostreatus* ve

A. tabescens 1’de belirlenmiştir. En yüksek LiP aktivitesinin belirlendiği türün ise yine *C. versicolor* 2 olduğunu görmekteyiz. En yüksek Lakkaz, MnP ve LiP aktivitelerin gözlemlendiği örneklerle ait değerlerin, diğer örneklerle ait aktivite değerlerinden istatistiksel olarak farklı olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.18).

Lakkaz aktivitesi, *A. tabescens* 2’nin PAS ortamında 2.79 U/ml olarak gözlenirken, PAS+P ortamında 50 kat daha fazla (107.83 U/ml) gözlenmesi, pamuk sapının enzimin üretimini çok etkin bir şekilde teşvik ettiği tespit edilmiştir. Ligninolitik atıkların Lakkaz aktivitesini tetiklediği literatürlerde^{11,30,33,44} belirtilmiştir. Çalışma bölgemizde bol ve ucuz maliyetle sağlanılabilen pamuk sapıyla iyi bir Lakkaz aktivitesinin sağlanmış olması, mevcut materyalin enzimin üretimi için iyi bir potansiyel oluşturduğunu düşünmekteyiz. *C. versicolor* 2’de LiP aktivitesinin; PAS+P ortamında PAS ortamına göre yaklaşık olarak 40-80 kat daha yüksek olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.10, 4.11, 4.12, 4.16, 4.17, 4.18). Papinutti ve ark.³⁸ (2003) peroksidaz üretiminde indükleyici kullanımının gerekli olmadığı belirtilmiştir. Ancak çalışmamızda bu literatürden farklı olarak bazı örneklerin enzim aktivitelerinin pamuk sapıyla indüklendiği tespit edilmiştir. Enzim aktivitesindeki değişikliğin tür veya suş spesifikliğinden kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz.

4.2.7. SDB+P Ortamında 15 Günlük Fermentasyon Süresinde Lakkaz, MnP ve LiP Aktivitesi

Mantar kültüründe kullanılan doğal lignoselülozik kaynakların enzim üretimindeki kullanımı, Elisashvili ve ark.¹⁶ belirtildiği gibi, hem enzim kompleksinin başlangıçtaki miktarının belirlenmesinde hem de aktivite üzerindeki baskısının saptanmasında önemli bir faktör olduğu düşünülmektedir.

Yaptığımız çalışmada, SDB+P ortamında gelişen örneklerin, 7. gündeki Lakkaz ve MnP aktivitesi *A. tabescens* 1’de sırasıyla 57.24 ve 0.6238 U/ml olarak gözlenmiştir. LiP aktivitesi *C. versicolor* 2 ve *A. aegerita* 2’de en yüksek 66.00 U/ml olarak tespit edilmiştir. En yüksek Lakkaz, MnP ve LiP aktivitelerin gözlendiği örneklere ait değerlerin diğer örneklere ait aktivite değerlerinden istatistiksel olarak farklı olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.19).

Örneklerin 10. gündeki en yüksek Lakkaz ve MnP aktivitesi, sırasıyla 80.84, ve 0.9548 U/ml olarak yine *A. tabescens* 1’de gözlenmiştir. LiP aktivitesi *C. versicolor* 1 ve *P. ostreatus*’da sırasıyla; 53.76 ve 52.57 U/ml olarak tespit edilmiştir. En yüksek Lakkaz, MnP ve LiP aktivitelerin gözlendiği örneklere ait değerlerin diğer örneklere ait aktivite değerlerinden istatistiksel olarak farklı olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.20).

Fermentasyonun 15. gününde en yüksek Lakkaz ve MnP aktivitesi, sırasıyla; 150.47 ve 0.9895 U/ml olarak yine *A. tabescens* 1’de (Lakkaz aktivitesinin sadece SDB ile karşılaştırıldığında yaklaşık olarak 50 kat daha fazla olduğu görülmüştür) tespit edilmiştir. En yüksek LiP aktivitesi *F. fomentarius* 1 ve *F. fomentarius* 2’de sırasıyla 47.79 ve 45.40 U/ml olarak tespit edilmiştir. En yüksek Lakkaz, MnP ve LiP aktivitelerinin gözlendiği örneklere ait değerlerin diğer örneklere ait aktivite değerlerinden istatistiksel olarak farklı olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.21).

Farklı bölgelerden elde edilmiş aynı türlere ait örneklerin enzim aktivitesindeki farklılığın tür içindeki varyasyonlardan kaynaklanabileceği düşüncesindeyiz. Ayrıca, Kapich ve ark.⁴ (2004)’nın belirttiği gibi, lignolitik enzim üretim oranı, ortam kompozisyonu, C/N oranı, pH, sıcaklık, havalandırma gibi birçok faktörden etkilenmektedir. Enzimlerin oluşumu sadece mantarların fizyolojik

karakterlerine bağlı olmayıp, aynı zamanda mantarın yetiştiği kültür ortamına da bağlıdır. Bu durum, farklı habitatlarda yetişen türlerin farklı miktarlarda enzim üretebileceği veya bunlardan farklı izoformların varlığını düşündürmektedir.

Çizelge 4.1. Submerged Kuşullarda Fermentasyonun 7. Gününde Ortamların Lakkaz Üretimi Üzerine Etkisi

7. Gün Lakkaz U/ml (ortalama±SE)

Ortam*	<i>C. versicolor</i> 1	<i>C. versicolor</i> 2	<i>A. aegerita</i> 1	<i>A. aegerita</i> 2	<i>A. tabescens</i> 1	<i>A. tabescens</i> 2	<i>P. ostreatus</i>	<i>F. fomentariu</i> 1	<i>F. fomentarius</i> 2
PAS	3.53±0.07 ^b	3.66±1.30 ^b	3.20±0.12 ^c	0.00±0.00 ^c	2.80±0.30 ^b	0.42±0.01 ^c	0.61±0.03 ^b	3.21±0.07 ^b	2.79±0.03 ^c
SDB	4.37±0.90 ^{ab}	20.32±8.34 ^{ab}	3.20±0.01 ^c	0.03±0.01 ^c	10.53±4.12 ^b	1.65±0.28 ^{bc}	2.44±0.08 ^a	3.84±0.53 ^b	6.61±1.35 ^b
PAS+P	5.17±0.81 ^{ab}	17.22±1.82 ^{ab}	4.13±0.10 ^b	0.14±0.04 ^b	7.25±1.04 ^b	12.61±0.26 ^a	0.18±0.01 ^c	7.36±0.15 ^a	12.00±0.11 ^a
SDB+P	6.27±0.30 ^a	27.23±4.36 ^a	4.37±0.03 ^a	0.86±0.00 ^a	57.24±8.02 ^a	2.61±0.42 ^b	0.07±0.00 ^c	8.96±0.68 ^a	11.60±0.54 ^a

Ortamlar arasındaki fark, P <0,05 olan bir sütünde farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden farklıdır.

Ortam* : PAS: Peynir altı suyu

SDB: Sabouraud dextrose broth

PAS+P: Peynir altı suyu+pamuk sapı

SDB+P: Sabouraud dextrose broth+ pamuk sapı

Çizelge 4.2. Submerged Koşullarda Fermentasyonun 10. Gününde Ortamların Lakkaz Üretimi Üzerine Etkisi

10. Gün Lakkaz U/ml (ortalama±SE)									
Ortam [*]	<i>C. versicolor</i> 1	<i>C. versicolor</i> 2	<i>A. aegerita</i> 1	<i>A. aegerita</i> 2	<i>A. tabescens</i> 1	<i>A. tabescens</i> 2	<i>P. ostreatus</i>	<i>F. fomentarius</i> 1	<i>F. fomentarius</i> 2
PAS	3.48±0.25 ^b	4.16±1.51 ^c	3.02±0.06 ^b	2.60±0.01 ^d	3.58±0.96 ^b	2.79±0.01 ^c	7.18±2.18 ^b	3.78±0.06 ^b	2.66±0.03 ^c
SDB	3.76±0.14 ^b	5.61±0.55 ^c	2.94±0.02 ^b	7.36±0.13 ^b	2.76±0.02 ^b	10.43±1.94 ^c	11.16±0.14 ^{ab}	3.03±0.13 ^b	11.77±0.19 ^b
PAS+P	4.62±0.52 ^b	18.15±1.56 ^b	7.17±0.95 ^a	9.20±0.20 ^a	26.84±5.33 ^b	107.83±3.48 ^a	9.53±0.55 ^b	4.45±0.29 ^b	88.74±1.36 ^a
SDB+P	6.89±0.53 ^a	32.45±3.96 ^a	4.49±0.10 ^b	5.81±0.06 ^c	80.84±10.16 ^a	39.33±6.79 ^b	15.51±1.62 ^a	8.44±0.64 ^a	12.56±1.49 ^b

Ortamlar arasındaki fark, P <0,05 olan bir sütünde farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden farklıdır.

Ortam^{*} : PAS: Peynir altı suyu

SDB: Sabouraud dextrose broth

PAS+P: Peynir altı suyu+pamuk sapı

SDB+P: Sabouraud dextrose broth+ pamuk sapı

Çizelge 4.3. Submerged Koşullarda Fermentasyonun 15. Gününde Ortamların Lakkaz Üretimi Üzerine Etkisi

15. Gün Lakkaz U/ml (ortalama±SE)									
Ortam*	<i>C. versicolor</i> 1	<i>C. ersicolor</i> 2	<i>A. aegerita</i> 1	<i>A. aegerita</i> 2	<i>A. tabescens</i> 1	<i>A. tabescens</i> 2	<i>P. ostreatus</i>	<i>F. fomentarius</i> 1	<i>F. omentarius</i> 2
PAS	3.73±0.18 ^b	4.26±0.76 ^b	6.66±0.78 ^b	7.41±0.00 ^a	3.91±1.16 ^c	17.32±0.00 ^c	3.89±0.57 ^c	3.46±0.30 ^b	3.26±0.03 ^c
SDB	3.49±0.13 ^b	10.41±2.88 ^b	3.68±0.07 ^c	3.70±0.08 ^b	3.03±0.20 ^c	21.86±2.10 ^c	12.65±0.09 ^b	6.99±0.42 ^a	21.68±0.42 ^b
PAS+P	2.97±0.03 ^b	16.40±1.86 ^b	8.87±0.02 ^a	6.36±0.65 ^a	34.49±13.57 ^b	100.24±0.78 ^a	11.91±0.98 ^b	3.34±0.15 ^b	59.04±1.97 ^a
SDB+P	5.24±0.26 ^a	25.08±0.47 ^a	5.91±0.30 ^b	4.75±0.14 ^b	150.47±1.29 ^a	83.85±1.81 ^b	20.77±0.30 ^a	7.32±0.18 ^a	53.62±6.39 ^a

Ortamlar arasındaki fark, P <0,05 olan bir sütünde farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden farklıdır.

Ortam* : PAS: Peynir altı suyu

SDB: Sabouraud dextrose broth

PAS+P: Peynir altı suyu+pamuk sapı

SDB+P: Sabouraud dextrose broth+ pamuk sapı

Çizelge 4.4. Submerged Koşullarda Fermentasyonun 7. Gününde Ortamların MnP Üretimi Üzerine Etkisi

7. Gün MnP U/ml (ortalama±SE)									
Ortam [*]	<i>C. ersicolor</i> 1	<i>C. versicolor</i> 2	<i>A. aegerita</i> 1	<i>A. aegerita</i> 2	<i>A. tabescens</i> 1	<i>A. tabescens</i> 2	<i>P. ostreatus</i>	<i>F. fomentarius</i> 1	<i>F. fomentarius</i> 2
PAS	0.0000±0.0 ^b	0.1428±0.1 ^a	0.0001±0.0 ^b	0.0002±0.0 ^b	0.0000±0.00 ^c	0.0000±0.00 ^b	0.0000±0.0 ^b	0.0000±0.0 ^b	0.0001±0.0 ^b
SDB	0.0003±0.0 ^a	0.0007±0.0 ^b	0.0004±0.0 ^a	0.0006±0.0 ^a	0.0009±0.00 ^c	0.0001±0.00 ^b	0.0001±0.0 ^b	0.0001±0.0 ^b	0.0032±0.0 ^b
PAS+P	0.0000±0.0 ^b	0.0000±0.0 ^b	0.0000±0.0 ^c	0.0001±0.0 ^b	0.0364±0.01 ^b	0.0348±0.00 ^{ab}	0.0000±0.0 ^b	0.0075±0.0 ^a	0.0444±0.0 ^a
SDB+P	0.0004±0.0 ^a	0.0000±0.0 ^b	0.0000±0.0 ^c	0.0001±0.0 ^b	0.6238±0.00 ^a	0.0522±0.01 ^a	0.0003±0.0 ^a	0.0001±0.0 ^b	0.0070±0.0 ^b

Ortamlar arasındaki fark, $P < 0,05$ olan bir sütünde farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden farklıdır.

Ortam^{*} : PAS: Peynir altı suyu

SDB: Sabouraud dextrose broth

PAS+P: Peynir altı suyu+pamuk sapı

SDB+P: Sabouraud dextrose broth+ pamuk sapı

Çizelge 4.5. Submerged Koşullarda Fermentasyonun 10. Gününde Ortamların MnP Üretimi Üzerine Etkisi

10. Gün MnP U/ml (ortalama±SE)									
Ortam*	<i>C. versicolor</i> 1	<i>C. versicolor</i> 2	<i>A. aegerita</i> 1	<i>A. aegerita</i> 2	<i>A.tabescens</i> 1	<i>A.tabescens</i> 2	<i>P. ostreatus</i>	<i>F.fomentarius</i> 1	<i>F.fomentarius</i> 2
PAS	0.0000±0.0 ^c	0.0053±0.02 ^a	0.0001±0.0 ^b	0.0001±0.0 ^b	0.0001±0.0 ^c	0.0002±0.0 ^b	0.0017±0.0 ^b	0.0000±0.0 ^c	0.0005±0.0 ^b
SDB	0.0002±0.0 ^b	0.0000±0.0 ^b	0.0003±0.0 ^a	0.0002±0.0 ^a	0.0000±0.0 ^c	0.0000±0.0 ^b	0.0002±0.0 ^b	0.0003±0.0 ^b	0.0014±0.0 ^b
PAS+P	0.0000±0.0 ^c	0.0000±0.0 ^b	0.0000±0.0 ^c	0.0000±0.0 ^c	0.0793±0.01 ^b	0.0541±0.01 ^a	0.0026±0.0 ^b	0.0000±0.0 ^c	0.3500±0.0 ^a
SDB+P	0.0004±0.0 ^a	0.0004±0.0 ^b	0.0000±0.0 ^c	0.0000±0.0 ^{bc}	0.9548±0.01 ^a	0.0521±0.0 ^a	0.0078±0.0 ^a	0.0024±0.0 ^a	0.0103±0.0 ^b

Ortamlar arasındaki fark, $P < 0,05$ olan bir sütünde farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden farklıdır.

Ortam* : PAS: Peynir altı suyu

SDB: Sabouraud dextrose broth

PAS+P: Peynir altı suyu+pamuk sapı

SDB+P: Sabouraud dextrose broth+ pamuk sapı

Çizelge 4.6. Submerged Koşullarda Fermentasyonun 15. Gününde Ortamların MnP Üretimi Üzerine Etkisi

15. Gün MnP U/ml (ortalama±SE)									
Ortam*	<i>C. versicolor</i> 1	<i>C. versicolor</i> 2	<i>A. aegerita</i> 1	<i>A. aegerita</i> 2	<i>A. tabescens</i> 1	<i>A. tabescens</i> 2	<i>P. ostreatus</i>	<i>F. fomentarius</i> 1	<i>F. omentarius</i> 2
PAS	0.0000±0.0 ^c	0.0047±0.0 ^a	0.0002±0.0 ^a	0.0000±0.0 ^b	0.0001±0.0 ^b	0.0002±0.0 ^b	0.0143±0.0 ^b	0.0000±0.0 ^c	0.0002±0.0 ^c
SDB	0.0001±0.0 ^b	0.0049±0.0 ^a	0.0001±0.0 ^a	0.0004±0.0 ^a	0.0014±0.0 ^b	0.0005±0.0 ^b	0.0005±0.0 ^c	0.0001±0.0 ^b	0.0000±0.0 ^d
PAS+P	0.0001±0.0 ^a	0.0002±0.0 ^a	0.0000±0.0 ^b	0.0005±0.0 ^a	0.0161±0.0 ^b	0.0110±0.0 ^b	0.0177±0.0 ^b	0.0001±0.0 ^b	0.0035±0.0 ^a
SDB+P	0.0000±0.0 ^c	0.0003±0.0 ^a	0.0002±0.0 ^a	0.0001±0.0 ^b	0.9895±0.07 ^a	0.4138±0.01 ^a	0.0470±0.0 ^a	0.0011±0.0 ^a	0.0023±0.0 ^b

Ortamlar arasındaki fark, P <0,05 olan bir sütünde farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden farklıdır.

Ortam* : PAS: Peynir altı suyu

SDB: Sabouraud dextrose broth

PAS+P: Peynir altı suyu+pamuk sapı

SDB+P: Sabouraud dextrose broth+ pamuk sapı

Çizelge 4.7. Submerged Koşullarda Fermentasyonun 7. Gününde Ortamların LiP Üretimi Üzerine Etkisi

7. Gün LiP U/ml (ortalama±SE)									
Ortam *	<i>C.versicolor</i> 1	<i>C.versicolor</i> 2	<i>A.aegerita</i> 1	<i>A. aegerita</i> 2	<i>A.tabescens</i> 1	<i>A.tabescens</i> 2	<i>P. ostreatus</i>	<i>F.fomentarius</i> 1	<i>F.fomentariu</i> 2
PAS	14.34±0.0 ^a	0.00±0.0 ^b	0.00	8.36±1.19 ^b	2.39±1.19 ^b	2.39±1.19 ^b	0.00±0.0 ^b	11.95±5.97 ^b	0.00±0.0 ^c
SDB	0.00±5.5 ^c	86.02±9.16 ^a	0.00	79.96±15.31 ^a	3.58±0.0 ^b	140.98±9.46 ^a	11.95±2.72 ^a	0.00±0.0 ^c	0.00±0.0 ^c
PAS+P	8.36±1.2 ^b	53.09±5.21 ^a	0.00	0.0000±0.0 ^b	0.00±0.0 ^b	0.00±0.0 ^b	0.00±0.0 ^b	22.70±0.59 ^a	5.97±0.59 ^b
SDB+P	0.00±0.0 ^c	66.00±14.22 ^a	0.00	7.17±0.0 ^b	33.45±7.13 ^a	11.95±1.83 ^b	7.17±1.52 ^a	0.00±0.0 ^c	20.31±1.83 ^a

Ortamlar arasındaki fark, P <0,05 olan bir sütünde farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden farklıdır.

Ortam * : PAS: Peynir altı suyu

SDB: Sabouraud dextrose broth

PAS+P: Peynir altı suyu+pamuk sapı

SDB+P: Sabouraud dextrose broth+ pamuk sapı

Çizelge 4.8. Submerged Koşullarda Fermentasyonun 10. Gününde Ortamların LiP Üretimi Üzerine Etkisi

10. Gün LiP (ortalama±SE)									
Ortam*	<i>C. versicolor</i> 1	<i>C. versicolor</i> 2	<i>A. aegerita</i> 1	<i>A. aegerita</i> 2	<i>A. tabescens</i> 1	<i>A. tabescens</i> 2	<i>P. ostreatus</i>	<i>F.fomentarius</i> 1	<i>F.fomentarius</i> 2
PAS	23.89±1.19 ^b	0.00±0.0 ^c	0.00±0.0 ^b	0.00±0.0 ^b	3.58±0.0 ^b	2.39±1.19 ^c	0.00±0.0 ^b	32.26±10.94 ^b	0.00±0.0 ^c
SDB	0.00±0.0 ^c	60.93±7.28 ^b	5.97±0.75 ^a	78.85±4.53 ^a	10.75±0.0 ^b	125.45±9.06 ^a	51.37±12.84 ^a	0.00±0.0 ^d	0.00±0.0 ^c
PAS+P	8.36±1.19 ^c	86.02±6.78 ^a	0.00±0.0 ^b	0.00±0.0 ^b	9.56±0.59 ^b	20.31±4.77 ^{bc}	0.00±0.0 ^b	53.76±0.0 ^a	4.78±0.59 ^b
SDB+P	53.76±4.58 ^a	0.00±0.0 ^c	0.00±0.0 ^b	3.58±0.0 ^b	20.31±2.83 ^a	37.04±8.57 ^b	52.57±5.09 ^a	16.73±0.50 ^c	20.31±1.01 ^a

Ortamlar arasındaki fark, P <0,05 olan bir sütünde farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden farklıdır.

Ortam* : PAS: Peynir altı suyu

SDB: Sabouraud dextrose broth

PAS+P: Peynir altı suyu+pamuk sapı

SDB+P: Sabouraud dextrose broth+ pamuk sapı

Çizelge 4.9. Submerged Koşullarda Fermentasyonun 15. Gününde Ortamların LiP Üretimi Üzerine Etkisi

Ortam*	15. Gün LiP U/ml (ortalama±SE)								
	<i>C. versicolor</i> 1	<i>C. versicolor</i> 2	<i>A. aegerita</i> 1	<i>A. aegerita</i> 2	<i>A. tabescens</i> 1	<i>A. tabescens</i> 2	<i>P. ostreatus</i>	<i>F.fomentarius</i> 1	<i>F.fomentarius</i> 2
PAS	8.36±3.16 ^a	0.00±0.0 ^b	4.78±1.19 ^b	0.00±0.0 ^c	0.00±0.0 ^c	5.97±1.19 ^{bc}	8.36±1.19 ^c	9.56±3.16 ^b	5.97±1.19 ^b
SDB	8.36±1.99 ^a	45.40±3.29 ^a	15.53±0.75 ^a	8.36±0.75 ^a	0.00±0.0 ^c	0.00±0.0 ^c	19.12±0.75 ^b	0.00±0.0 ^b	2.39±0.75 ^b
PAS+P	0.00±0.0 ^b	41.82±8.79 ^a	0.00±0.0 ^c	4.78±0.59 ^b	10.75±1.03 ^b	38.23±8.79 ^a	21.51±0.0 ^a	4.78±0.59 ^b	5.97±1.19 ^b
SDB+P	0.00±0.0 ^b	15.53±2.03 ^b	0.00±0.0 ^c	0.00±0.0 ^c	21.51±3.18 ^a	21.51±3.18 ^{ab}	0.00±0.0 ^d	47.79±4.52 ^a	45.40±3.56 ^a

Ortamlar arasındaki fark, P <0,05 olan bir sütünde farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden farklıdır.

Ortam* : PAS: Peynir altı suyu

SDB: Sabouraud dextrose broth

PAS+P: Peynir altı suyu+pamuk sapı

SDB+P: Sabouraud dextrose broth+ pamuk sapı

Çizelge 4.10. Submerged Koşullarda Fermentasyonun 7. Gününde PAS Ortamında Türlerin Ürettiği Lakkaz, MnP ve LiP Üretimi Üzerine Etkisi

7. Gün PAS* (ortalama ± SE)			
Tür	Lakkaz (U/ml)	MnP (U/ml)	LiP (U/ml)
<i>C. versicolor1</i>	3.53±0.07 ^b	0.0000±0.00 ^b	14.34±5.47 ^a
<i>C. versicolor2</i>	3.89±0.73 ^a	0.0307±0.07 ^a	0.00±0.00 ^c
<i>A. aegerita1</i>	3.20±0.06 ^b	0.0000±0.00 ^b	0.00±0.00 ^c
<i>A. aegerita2</i>	0.00±0.00 ^e	0.0001±0.00 ^b	8.36±0.50 ^b
<i>A. tabescens1</i>	2.80±0.11 ^c	0.0000±0.00 ^b	2.39±0.45 ^c
<i>A. tabescens2</i>	0.41±0.00 ^d	0.0000±0.00 ^b	2.39±0.40 ^c
<i>F. fomentarius1</i>	3.21±0.02 ^b	0.0000±0.00 ^b	11.95±1.88 ^a
<i>F. fomentarius2</i>	2.79±0.00 ^c	0.0001±0.00 ^b	0.00±0.00 ^c
<i>P. ostreatus</i>	0.61±0.01 ^d	0.0000±0.00 ^b	0.00±0.00 ^c

Ortamlar arasındaki fark, $P < 0,05$ olan bir sütünde farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden farklıdır.

PAS* : Peynir altı suyu

Çizelge 4.11. Submerged Koşullarda Fermentasyonun 10. Gününde PAS Ortamında Türlerin Ürettiği Lakkaz, MnP Ve LiP Üretimi Üzerine Etkisi

10. Gün PAS* (ortalama ± SE)			
Tür	Lakkaz (U/ml)	MnP (U/ml)	LiP (U/ml)
<i>C. versicolor1</i>	3.48±0.25 ^b	0.0000±0.00 ^c	23.89±1.19 ^b
<i>C. versicolor2</i>	4.16±0.95 ^b	0.0053±0.00 ^a	0.00±0.00 ^c
<i>A. aegerita1</i>	3.02±0.03 ^b	0.0001±0.00 ^c	0.00±0.00 ^c
<i>A. aegerita2</i>	2.60±0.00 ^b	0.0001±0.00 ^c	0.00±0.00 ^c
<i>A. tabescens1</i>	3.58±0.36 ^b	0.0001±0.00 ^c	3.58±0.00 ^c
<i>A. tabescens2</i>	2.79±0.00 ^b	0.0002±0.00 ^c	2.39±0.00 ^c
<i>F. fomentarius1</i>	3.78±0.02 ^b	0.0000±0.00 ^c	32.26±3.46 ^a
<i>F. fomentarius2</i>	2.66±0.01 ^b	0.0005±0.00 ^c	0.00±0.00 ^c
<i>P. ostreatus</i>	7.18±0.60 ^a	0.0017±0.00 ^b	0.00±0.00 ^c

Ortamlar arasındaki fark, $P < 0,05$ olan bir sütünde farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden farklıdır.

PAS* : Peynir altı suyu

Çizelge 4.12. Submerged Koşullarda Fermentasyonun 15. Gününde PAS Ortamında Türlerin Ürettiği Lakkaz, MnP Ve LiP Üretimi Üzerine Etkisi

15. Gün PAS* (ortalama ± SE)			
Tür	Lakkaz (U/ml)	MnP (U/ml)	LiP (U/ml)
<i>C. versicolor1</i>	3.723±0.18 ^{de}	0.0000±0.00 ^b	8.36±3.16 ^a
<i>C. versicolor2</i>	4.26±0.48 ^d	0.0047±0.00 ^b	0.00±0.00 ^c
<i>A. aegerita1</i>	6.66±0.39 ^c	0.0002±0.00 ^b	4.78±0.59 ^b
<i>A. aegerita2</i>	7.41±0.00 ^b	0.0000±0.00 ^b	0.00±0.00 ^c
<i>A. tabescens1</i>	3.91±0.43 ^{de}	0.0001±0.00 ^b	0.00±0.00 ^c
<i>A. tabescens2</i>	17.32±0.00 ^a	0.0002±0.00 ^b	5.97±0.40 ^b
<i>F. fomentarius1</i>	3.46±0.09 ^{de}	0.0000±0.00 ^b	9.56±0.99 ^a
<i>F. fomentarius2</i>	3.26±0.00 ^e	0.0002±0.00 ^b	5.97±0.35 ^b
<i>P. ostreatus</i>	3.89±0.16 ^{de}	0.0143±0.00 ^a	8.36±0.33 ^a

Ortamlar arasındaki fark, $P < 0,05$ olan bir sütünda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden farklıdır.

PAS* : Peynir altı suyu

Çizelge 4.13. Submerged Koşullarda Fermentasyonun 7. Gününde SDB Ortamında Türlerin Ürettiği Lakkaz, MnP Ve LiP Üretimi Üzerine Etkisi

7. Gün SDB* (ortalama ± SE)			
Tür	Lakkaz (U/ml)	MnP (U/ml)	LiP (U/ml)
<i>C. versicolor</i> 1	4.20±1.52 ^{cd}	0.0003±0.00 ^b	0.00±0.00 ^c
<i>C. versicolor</i> 2	18.33±7.09 ^a	0.0007±0.00 ^b	86.02±9.16 ^b
<i>A. aegerita</i> 1	3.20±0.01 ^{cd}	0.0004±0.00 ^b	0.00±0.00 ^c
<i>A. aegerita</i> 2	0.03±0.00 ^d	0.0006±0.00 ^b	79.96±10.32 ^b
<i>A. tabescens</i> 1	10.53±2.46 ^b	0.0009±0.00 ^b	3.58±0.00 ^c
<i>A. tabescens</i> 2	1.65±0.15 ^{cd}	0.0001±0.00 ^b	140.98±5.13 ^a
<i>F. fomentarius</i> 1	3.34±0.34 ^{cd}	0.0001±0.00 ^b	0.00±0.00 ^c
<i>F. fomentarius</i> 2	6.61±0.63 ^{bc}	0.0032±0.00 ^a	0.00±0.00 ^c
<i>P. ostreatus</i>	2.44±0.03 ^{cd}	0.0001±0.00 ^b	11.95±6.20 ^c

Ortamlar arasındaki fark, $P < 0,05$ olan bir sütünde farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden farklıdır.

SDB* : Sabouraud dextrose broth

Çizelge 4.14. Submerged Koşullarda Fermentasyonun 10. Gününde SDB Ortamında Türlerin Ürettiği Lakkaz, MnP Ve LiP Üretimi Üzerine Etkisi

10. Gün SDB* (ortalama ± SE)			
Tür	Lakkaz (U/ml)	MnP (U/ml)	LiP (U/ml)
<i>C. versicolor</i> 1	3.76±0.22 ^{cd}	0.0002±0.00 ^{de}	0.00±0.00 ^d
<i>C. versicolor</i> 2	5.16±0.80 ^c	0.0000±0.00 ^f	60.93±7.28 ^c
<i>A. aegerita</i> 1	2.94±0.01 ^d	0.0003±0.00 ^b	5.97±0.59 ^d
<i>A. aegerita</i> 2	7.36±0.09 ^b	0.0002±0.00 ^{cd}	78.85±3.05 ^b
<i>A. tabescens</i> 1	2.76±0.13 ^d	0.0000±0.00 ^f	10.75±0.00 ^d
<i>A. tabescens</i> 2	10.43±1.05 ^a	0.0000±0.00 ^f	125.45±4.91 ^a
<i>F. fomentarius</i> 1	3.03±0.06 ^d	0.0003±0.00 ^c	0.00±0.00 ^d
<i>F. fomentarius</i> 2	11.76±0.09 ^a	0.0014±0.00 ^a	0.00±0.00 ^d
<i>P. ostreatus</i>	11.16±0.06 ^a	0.0002±0.00 ^e	51.37±5.61 ^c

Ortamlar arasındaki fark, $P < 0,05$ olan bir sütünde farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden farklıdır.

SDB* : Sabouraud dextrose broth

Çizelge 4.15. Submerged Koşullarda Fermentasyonun 15. Gününde SDB Ortamında Türlerin Ürettiği Lakkaz, MnP Ve LiP Üretimi Üzerine Etkisi

15. Gün SDB* (ortalama ± SE)			
Tür	Lakkaz (U/ml)	MnP (U/ml)	LiP (U/ml)
<i>C. versicolor</i> 1	3.49±0.20 ^e	0.0001±0.00 ^b	8.36±3.16 ^d
<i>C. versicolor</i> 2	10.41±2.88 ^c	0.0049±0.00 ^a	45.40±3.29 ^a
<i>A. aegerita</i> 1	3.68±0.05 ^e	0.0001±0.00 ^b	15.53±0.59 ^c
<i>A. aegerita</i> 2	3.70±0.05 ^e	0.0004±0.00 ^b	8.36±0.50 ^d
<i>A. tabescens</i> 1	3.03±0.12 ^e	0.0014±0.00 ^b	0.00±0.00 ^f
<i>A. tabescens</i> 2	21.86±1.14 ^a	0.0005±0.00 ^b	0.00±0.00 ^f
<i>F. fomentarius</i> 1	6.99±0.21 ^d	0.0001±0.00 ^b	0.00±0.00 ^f
<i>F. fomentarius</i> 2	21.68±0.20 ^a	0.0000±0.00 ^b	2.39±0.35 ^e
<i>P. ostreatus</i>	12.65±0.04 ^b	0.0005±0.00 ^b	19.12±0.33 ^b

Ortamlar arasındaki fark, $P < 0,05$ olan bir sütünde farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden farklıdır.

SDB* : Sabouraud dextrose broth

Çizelge 4.16. Submerged Koşullarda Fermentasyonun 7. Gününde PAS+P Ortamında Türlerin Ürettiği Lakkaz, MnP Ve LiP Üretimi Üzerine Etkisi

7. Gün PAS +P* (ortalama ± SE)			
Tür	Lakkaz (U/ml)	MnP (U/ml)	LiP (U/ml)
<i>C. versicolor</i> 1	5.18±1.62 ^d	0.0000±0.00 ^b	8.36±2.38 ^c
<i>C. versicolor</i> 2	10.00±2.34 ^b	0.0000±0.00 ^b	53.09±6.59 ^a
<i>A. aegerita</i> 1	4.13±0.10 ^d	0.0000±0.00 ^b	0.00±0.00 ^d
<i>A. aegerita</i> 2	0.14±0.03 ^e	0.0001±0.00 ^b	0.00±0.00 ^d
<i>A. tabescens</i> 1	7.26±0.78 ^c	0.0364±0.00 ^a	0.00±0.00 ^d
<i>A. tabescens</i> 2	12.61±0.18 ^a	0.0348±0.00 ^a	0.00±0.00 ^d
<i>F. fomentarius</i> 1	5.00±0.79 ^d	0.0075±0.00 ^b	22.70±0.37 ^b
<i>F. fomentarius</i> 2	12.00±0.06 ^a	0.0444±0.00 ^a	5.97±0.35 ^c
<i>P. ostreatus</i>	0.18±0.00 ^e	0.0000±0.00 ^b	0.00±0.00 ^d

Ortamlar arasındaki fark, $P < 0,05$ olan bir sütünde farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden farklıdır.

PAS +P* : Peynir altı suyu+pamuk sapı

Çizelge 4.17. Submerged Koşullarda Fermentasyonun 10. Gününde PAS+P Ortamında Türlerin Ürettiği Lakkaz, MnP Ve LiP Üretimi Üzerine Etkisi

10. Gün PAS +P* (ortalama ± SE)			
Tür	Lakkaz (U/ml)	MnP (U/ml)	LiP (U/ml)
<i>C. versicolor</i> 1	4.62±1.05 ^e	0.0000±0.00 ^d	8.36±2.38 ^d
<i>C. versicolor</i> 2	18.15±1.97 ^d	0.0000±0.00 ^d	86.02±2.58 ^a
<i>A. aegerita</i> 1	7.17±0.95 ^e	0.0000±0.00 ^d	0.00±0.00 ^e
<i>A. aegerita</i> 2	9.20±0.17 ^e	0.0000±0.00 ^d	0.00±0.00 ^e
<i>A. tabescens</i> 1	26.84±4.03 ^c	0.0793±0.01 ^b	9.56±0.45 ^d
<i>A. tabescens</i> 2	107.83±2.39 ^a	0.0541±0.00 ^c	20.31±3.27 ^c
<i>F. fomentarius</i> 1	4.45±0.18 ^e	0.0000±0.00 ^d	53.76±0.00 ^b
<i>F. fomentarius</i> 2	88.74±0.80 ^b	0.3500±0.00 ^a	4.78±0.35 ^{de}
<i>P. ostreatus</i>	9.53±0.30 ^e	0.0026±0.00 ^d	0.00±0.00 ^e

Ortamlar arasındaki fark, P < 0,05 olan bir sütünde farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden farklıdır.

PAS +P* : Peynir altı suyu+pamuk sapı

Çizelge 4.18. Submerged Koşullarda Fermentasyonun 15. Gününde PAS+P Ortamında Türlerin Ürettiği Lakkaz, MnP Ve LiP Üretimi Üzerine Etkisi

15. Gün PAS +P* (ortalama ± SE)			
Tür	Lakkaz (U/ml)	MnP (U/ml)	LiP (U/ml)
<i>C. versicolor1</i>	2.97±0.07 ^d	0.0001±0.00 ^c	0.00±0.00 ^c
<i>C. versicolor2</i>	16.40±2.36 ^d	0.0002±0.00 ^c	41.82±11.13 ^a
<i>A. aegerita1</i>	8.87±0.02 ^d	0.0000±0.00 ^c	0.00±0.00 ^c
<i>A. aegerita2</i>	6.36±0.56 ^d	0.0005±0.00 ^c	4.78±0.50 ^c
<i>A. tabescens1</i>	34.50±10.26 ^c	0.0161±0.00 ^a	10.75±0.78 ^c
<i>A. tabescens2</i>	100.24±0.53 ^a	0.0110±0.00 ^b	38.23±6.03 ^a
<i>F. fomentarius1</i>	3.34±0.09 ^d	0.0001±0.00 ^c	4.78±0.37 ^c
<i>F. fomentarius2</i>	59.04±1.16 ^b	0.0035±0.00 ^c	5.97±0.70 ^c
<i>P. ostreatus</i>	11.91±0.54 ^d	0.0177±0.00 ^a	21.51±0.00 ^b

Ortamlar arasındaki fark, $P < 0,05$ olan bir sütünde farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden farklıdır.

PAS +P* : Peynir altı suyu+pamuk sapı

Çizelge 4.19. Submerged Koşullarda Fermentasyonun 7. Gününde SDB+P Ortamında Türlerin Ürettiği Lakkaz, MnP Ve LiP Üretimi Üzerine Etkisi

7. Gün SDB +P* (ortalama ± SE)			
Tür	Lakkaz (U/ml)	MnP (U/ml)	LiP (U/ml)
<i>C. versicolor</i> 1	6.28±0.72 ^{bcd}	0.0004±0.00 ^c	0.00±0.00 ^c
<i>C. versicolor</i> 2	13.80±2.03 ^b	0.0000±0.00 ^c	66.00±21.10 ^a
<i>A. aegerita</i> 1	4.38±0.04 ^{cd}	0.0000±0.00 ^c	0.00±0.00 ^c
<i>A. aegerita</i> 2	0.86±0.00 ^d	0.0001±0.00 ^c	66.00±14.22 ^a
<i>A. tabescens</i> 1	57.24±7.11 ^a	0.6238±0.00 ^a	33.45±6.32 ^b
<i>A. tabescens</i> 2	2.61±0.34 ^{cd}	0.0522±0.00 ^b	11.95±1.47 ^c
<i>F. fomentarius</i> 1	8.96±0.50 ^{bcd}	0.0001±0.00 ^c	0.00±0.00 ^c
<i>F. fomentarius</i> 2	11.60±0.37 ^{bc}	0.0070±0.00 ^c	20.31±1.27 ^{bc}
<i>P. ostreatus</i>	0.07±0.00 ^d	0.0003±0.00 ^c	7.17±0.99 ^c

Ortamlar arasındaki fark, $P < 0,05$ olan bir sütünde farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden farklıdır.

SDB +P* : Sabouraud dextrose broth + pamuk sapı

Çizelge 4.20. Submerged Koşullarda Fermentasyonun 10. Gününde SDB+P Ortamında Türlerin Ürettiği Lakkaz, MnP Ve LiP Üzerine Etkisi

10. Gün SDB +P* (ortalama ± SE)			
Tür	Lakkaz (U/ml)	MnP (U/ml)	LiP (U/ml)
<i>C. versicolor</i> 1	6.89±1.25 ^c	0.0004±0.00 ^c	53.76±10.72 ^a
<i>C. versicolor</i> 2	32.46±5.88 ^b	0.0004±0.00 ^c	0.00±0.00 ^d
<i>A. aegerita</i> 1	4.49±0.11 ^c	0.0000±0.00 ^c	0.00±0.00 ^d
<i>A. aegerita</i> 2	5.81±0.05 ^c	0.0005±0.00 ^c	3.58±0.00 ^d
<i>A. tabescens</i> 1	80.84±9.01 ^a	0.9548±0.00 ^a	20.31±2.51 ^c
<i>A. tabescens</i> 2	39.33±5.46 ^b	0.0521±0.00 ^b	37.04±6.89 ^b
<i>F. fomentarius</i> 1	8.44±0.48 ^c	0.0024±0.00 ^c	16.73±0.37 ^c
<i>F. fomentarius</i> 2	12.56±1.03 ^c	0.0103±0.00 ^c	20.31±0.70 ^c
<i>P. ostreatus</i>	15.51±1.05 ^c	0.0078±0.00 ^c	52.57±3.31 ^a

Ortamlar arasındaki fark, $P < 0,05$ olan bir sütünde farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden farklıdır.

SDB +P* : Sabouraud dextrose broth + pamuk sapı

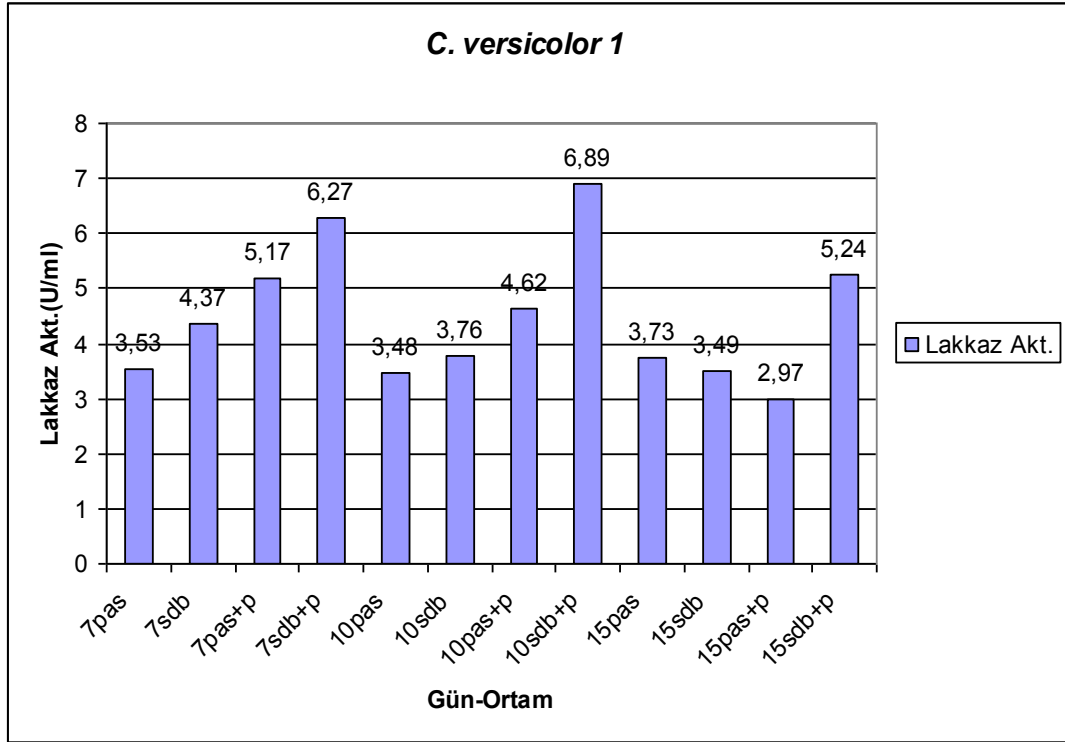
Çizelge 4.21. Submerged Koşullarda Fermentasyonun 15. Gününde SDB+P Ortamında Türlerin Ürettiği Lakkaz, MnP Ve LiP Üzerine Etkisi

15. Gün SDB +P* (ortalama ± SE)			
Tür	Lakkaz (U/ml)	MnP (U/ml)	LiP (U/ml)
<i>C. versicolor1</i>	5.24±0.63 ^e	0.0000±0.00 ^c	0.00±0.00 ^d
<i>C. versicolor2</i>	25.08±0.70 ^d	0.0003±0.00 ^c	15.53±3.02 ^{bc}
<i>A. aegerita1</i>	5.91±0.36 ^e	0.0002±0.00 ^c	0.00±0.00 ^d
<i>A. aegerita2</i>	4.75±0.14 ^e	0.0001±0.00 ^c	0.00±0.00 ^d
<i>A. tabescens1</i>	150.47±1.14 ^a	0.9895±0.06 ^a	10.75±0.78 ^c
<i>A. tabescens2</i>	83.85±1.14 ^b	0.4138±0.01 ^b	21.51±2.55 ^b
<i>F. fomentarius1</i>	7.32±0.13 ^e	0.0011±0.00 ^c	47.79±3.35 ^a
<i>F. fomentarius2</i>	53.62±4.42 ^c	0.0023±0.00 ^c	45.40±2.46 ^a
<i>P. ostreatus</i>	20.77±0.19 ^d	0.0470±0.00 ^c	0.00±0.00 ^d

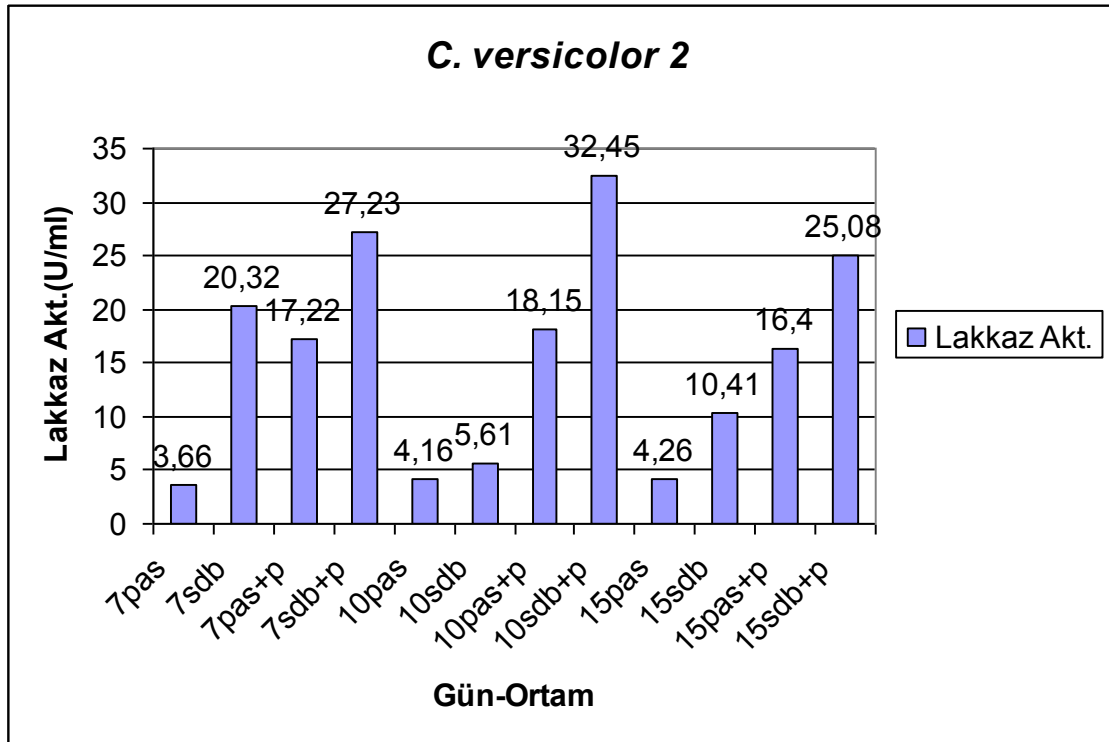
Ortamlar arasındaki fark, $P < 0,05$ olan bir sütünde farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden farklıdır.

SDB +P* : Sabouraud dextrose broth + pamuk sapı

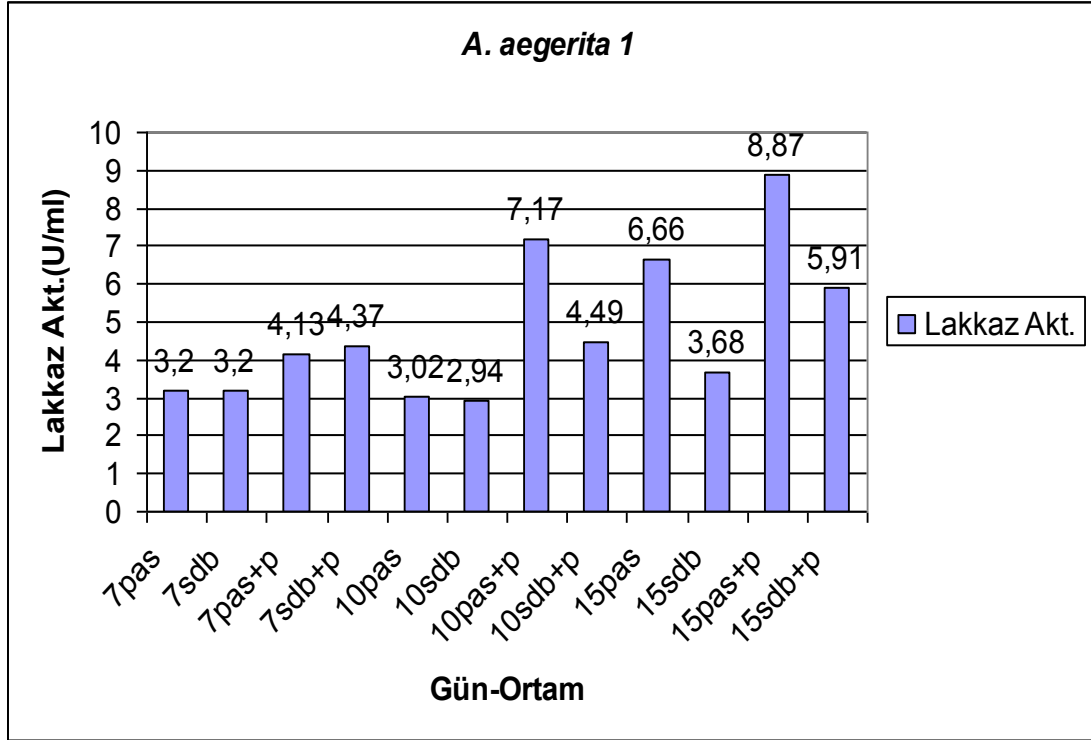
Grafik 4.1: *C. versicolor* 1'in Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki Lakkaz Aktiviteleri (pas: Peynir altı suyu, sdb: Sabouraud dextrose broth, pas+p: Peynir altı suyu+pamuk sapı, sdb+p: Sabouraud dextrose broth+ pamuk sapı)



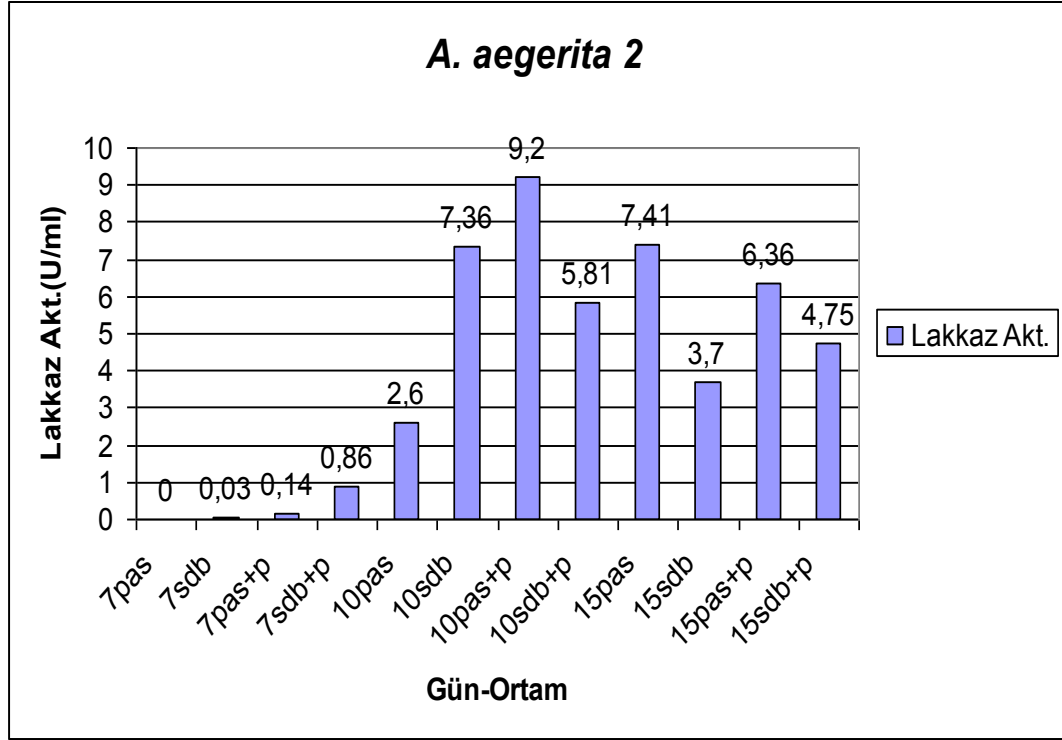
Grafik 4.2: *C. versicolor* 2'nin Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki Lakkaz Aktiviteleri (pas: Peynir altı suyu, sdb: Sabouraud dextrose broth, pas+p: Peynir altı suyu+pamuk sapı, sdb+p: Sabouraud dextrose broth+pamuk sapı)



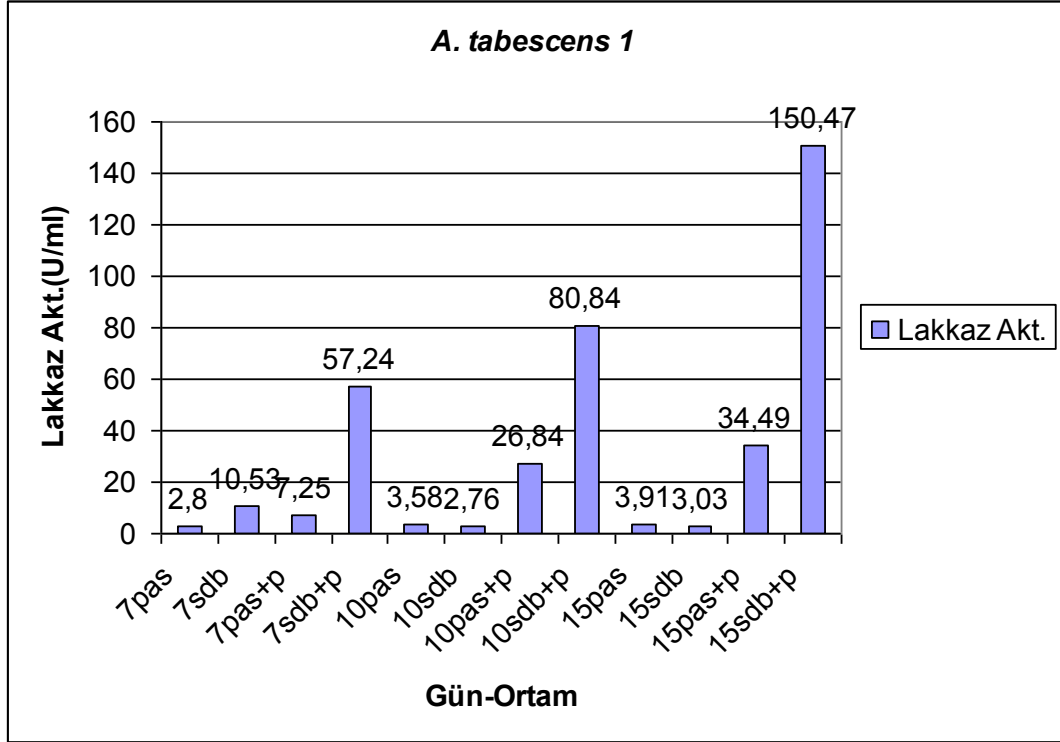
Grafik 4.3: *A. aegerita* 1'in Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki Lakkaz Aktiviteleri (pas: Peynir altı suyu, sdb: Sabouraud dextrose broth , pas+p: Peynir altı suyu+pamuk sapı, sdb+p: Sabouraud dextrose broth+ pamuk sapı)



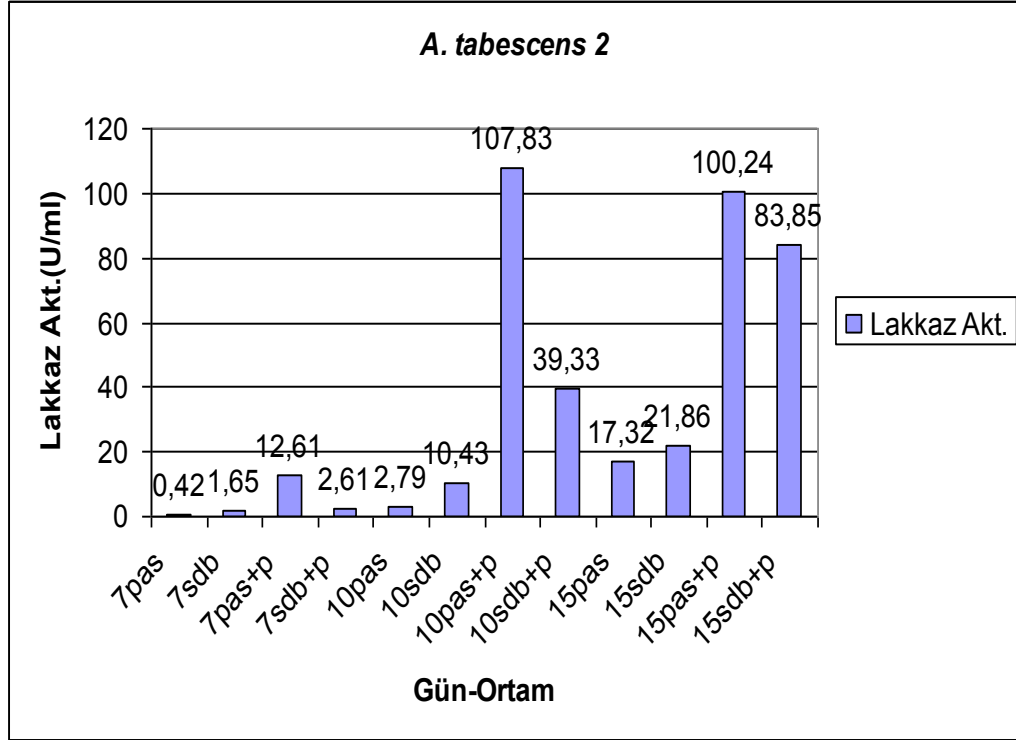
Grafik 4.4: *A. aegerita* 2'nin Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki Lakkaz Aktiviteleri (pas: Peynir altı suyu, sdb: Sabouraud dextrose broth , pas+p: Peynir altı suyu+pamuk sapı, sdb+p: Sabouraud dextrose broth+ pamuk sapı)



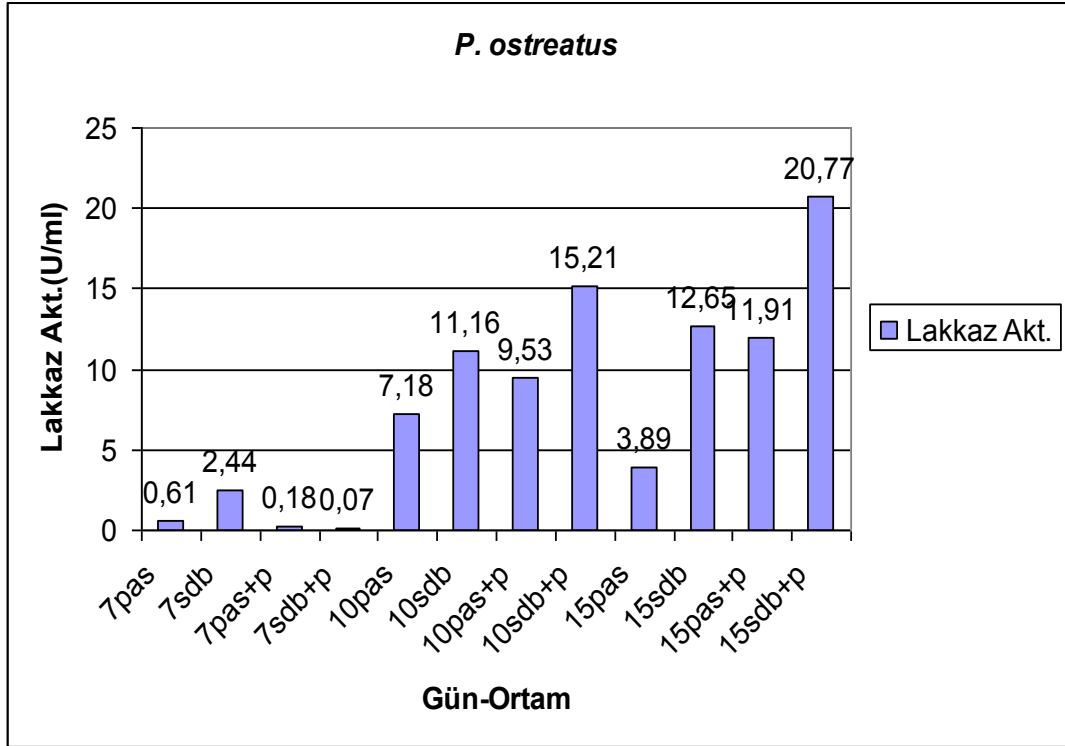
Grafik 4.5: *A. tabescens* 1'in Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki Lakkaz Aktiviteleri (pas: Peynir altı suyu, sdb: Sabouraud dextrose broth, pas+p: Peynir altı suyu+pamuk sapı, sdb+p: Sabouraud dextrose broth+ pamuk sapı)



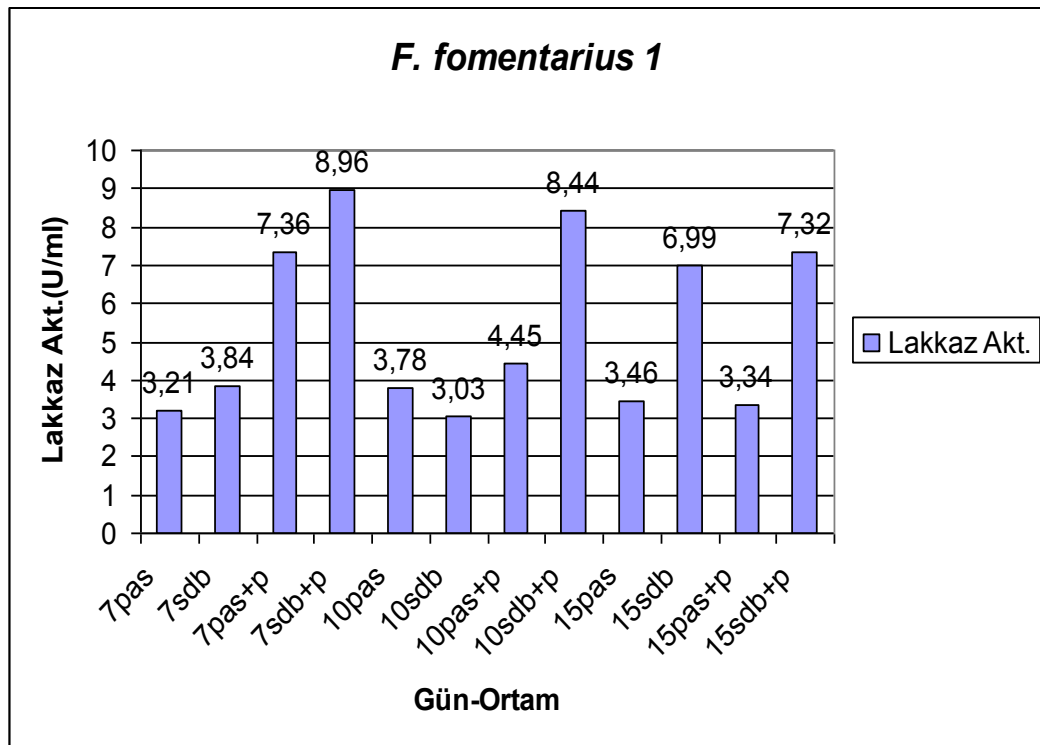
Grafik 4.6: *A. tabescens* 2'nin Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki Lakkaz Aktiviteleri (pas: Peynir altı suyu, sdb: Sabouraud dextrose broth, pas+p: Peynir altı suyu+pamuk sapı, sdb+p: Sabouraud dextrose broth+ pamuk sapı)



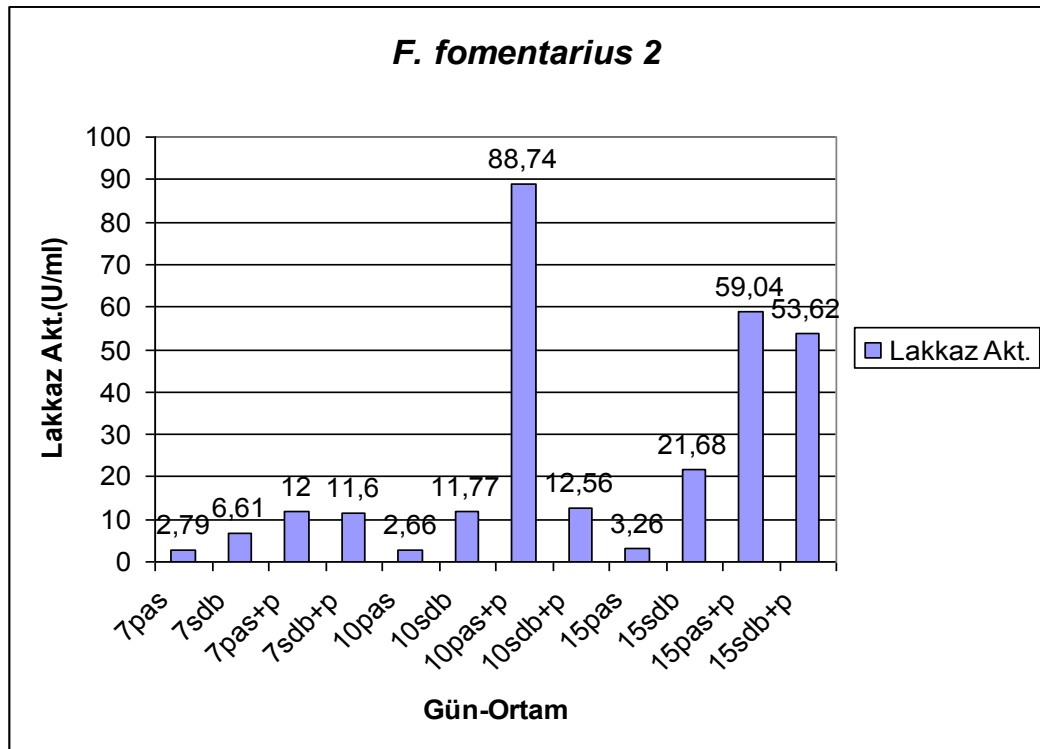
Grafik 4.7: *P. ostreatus*'un Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki Lakkaz Aktiviteleri (pas: Peynir altı suyu, sdb: Sabouraud dextrose broth, pas+p: Peynir altı suyu+pamuk sapı, sdb+p: Sabouraud dextrose broth+ pamuk sapı)



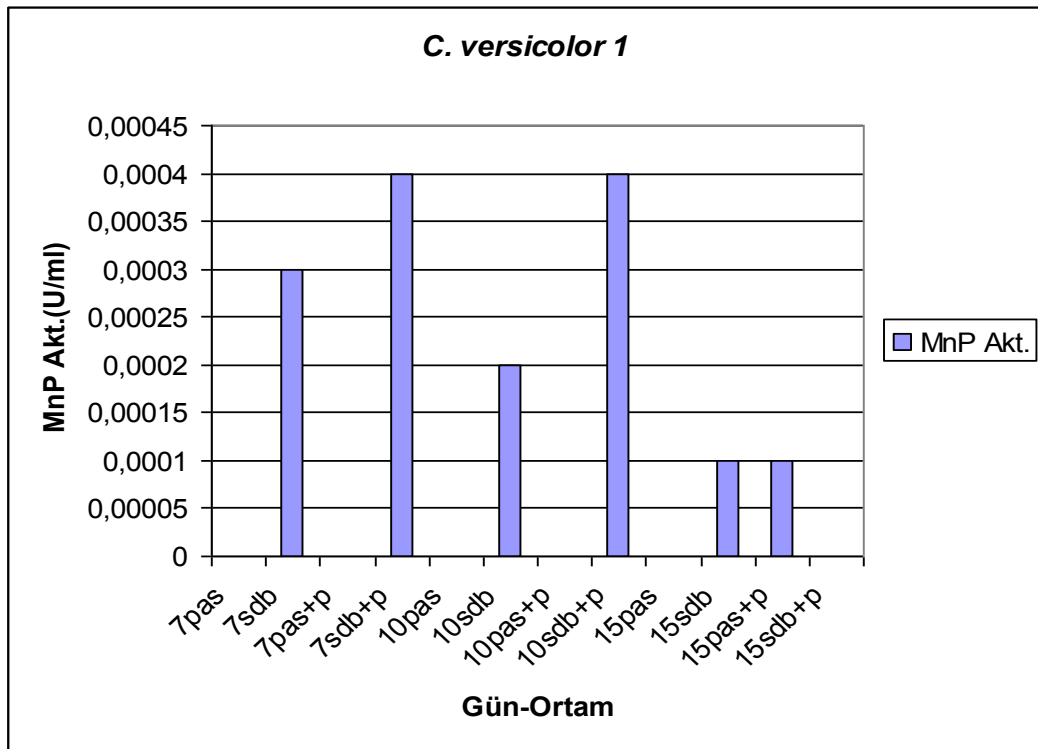
Grafik 4.8: *F. fomentarius* 1'in Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki Lakkaz Aktiviteleri (pas: Peynir altı suyu, sdb: Sabouraud dextrose broth, pas+p: Peynir altı suyu+pamuk sapı, sdb+p: Sabouraud dextrose broth+pamuk sapı)



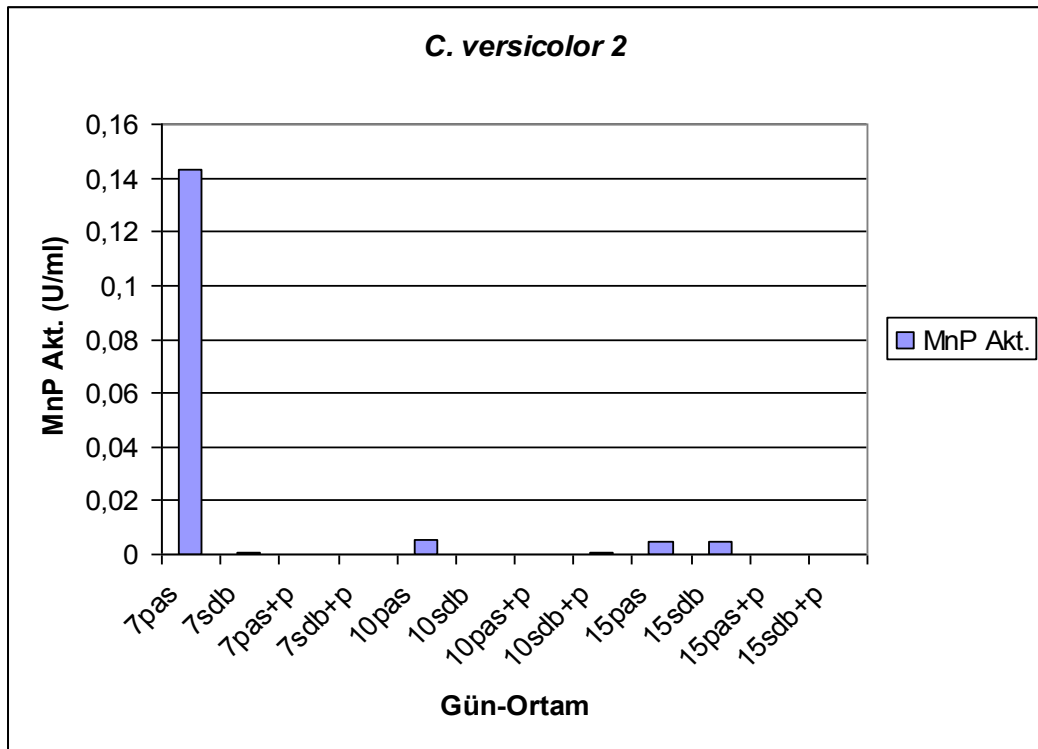
Grafik 4.9: *F. fomentarius* 2'nin Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki Lakkaz Aktiviteleri (pas: Peynir altı suyu, sdb: Sabouraud dextrose broth, pas+p: Peynir altı suyu+pamuk sapı, sdb+p: Sabouraud dextrose broth+pamuk sapı).



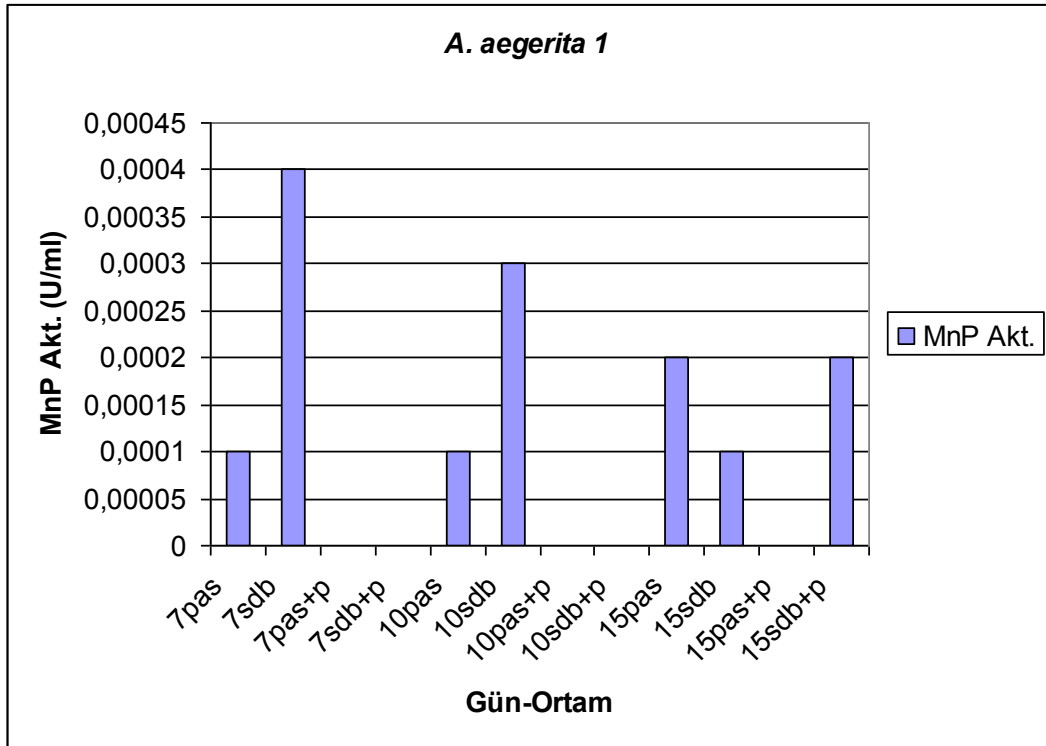
Grafik 4.10: *C. versicolor* 1'in Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki MnP Aktiviteleri (pas: Peynir altı suyu, sdb: Sabouraud dextrose broth, pas+p: Peynir altı suyu+pamuk sapı, sdb+p: Sabouraud dextrose broth+pamuk sapı).



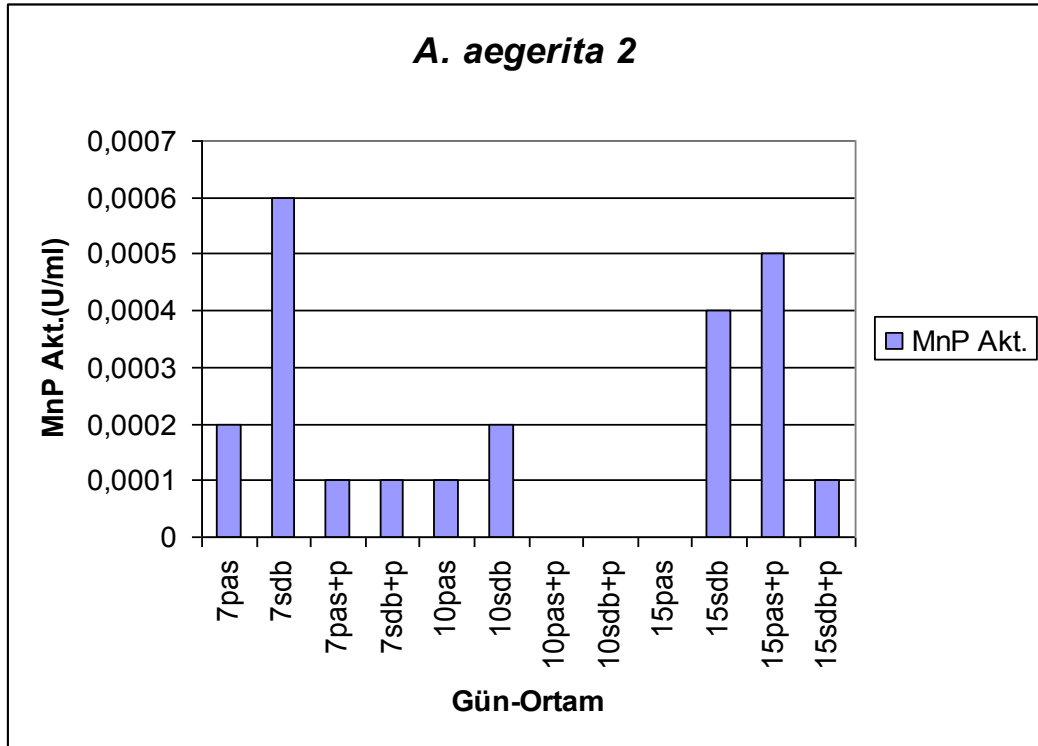
Grafik 4.11: *C. versicolor* 2'nin Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki MnP Aktiviteleri (pas: Peynir altı suyu, sdb: Sabouraud dextrose broth, pas+p: Peynir altı suyu+pamuk sapı, sdb+p: Sabouraud dextrose broth+pamuk sapı)



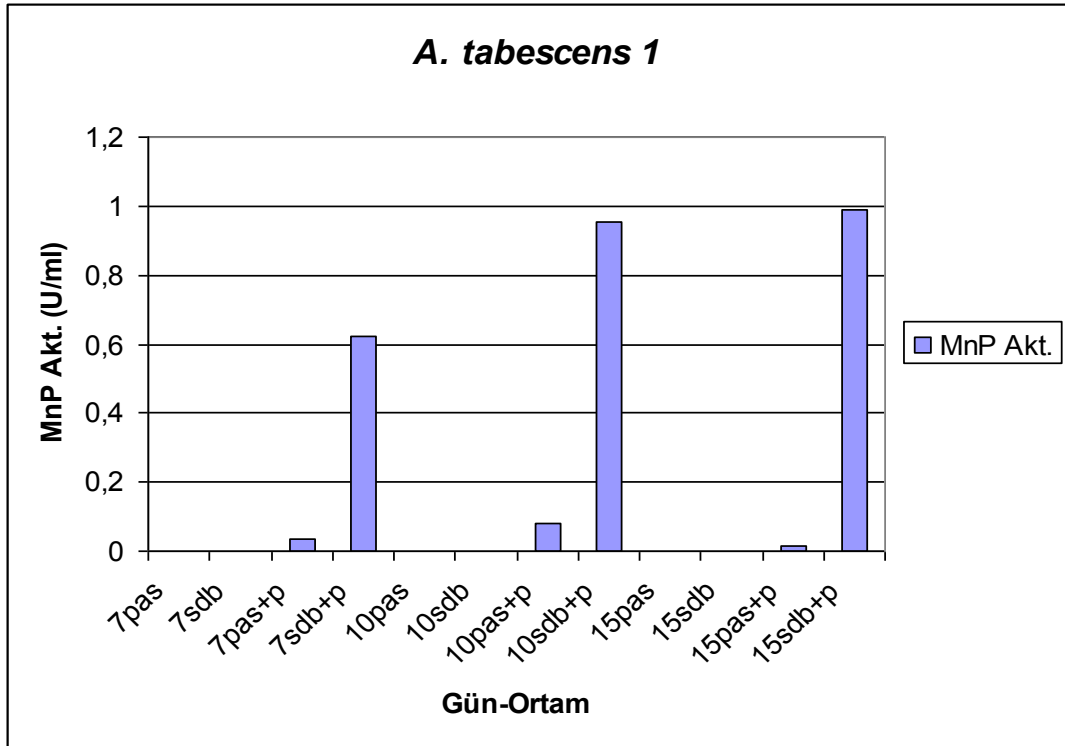
Grafik 4.12: *A. aegerita* 1'in Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki MnP Aktiviteleri (pas: Peynir altı suyu, sdb: Sabouraud dextrose broth, pas+p: Peynir altı suyu+pamuk sapı, sdb+p: Sabouraud dextrose broth+ pamuk sapı)



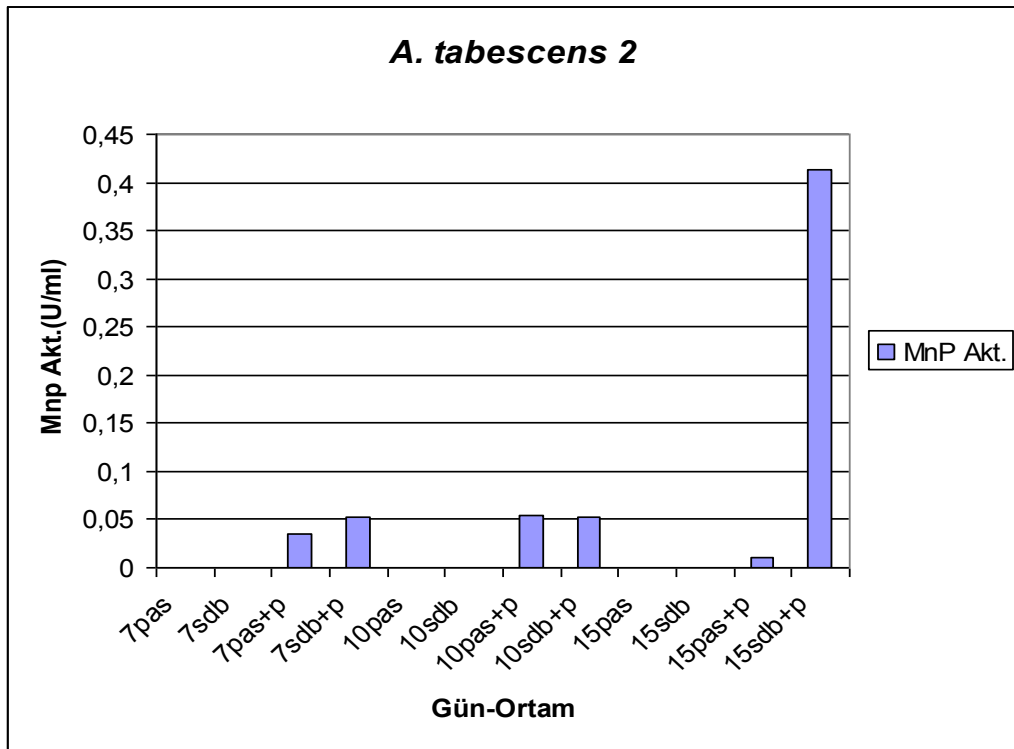
Grafik 4.13: *A. aegerita* 2'nin Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki MnP Aktiviteleri (pas: Peynir altı suyu, sdb: Sabouraud dextrose broth, pas+p: Peynir altı suyu+pamuk sapı, sdb+p: Sabouraud dextrose broth+ pamuk sapı)



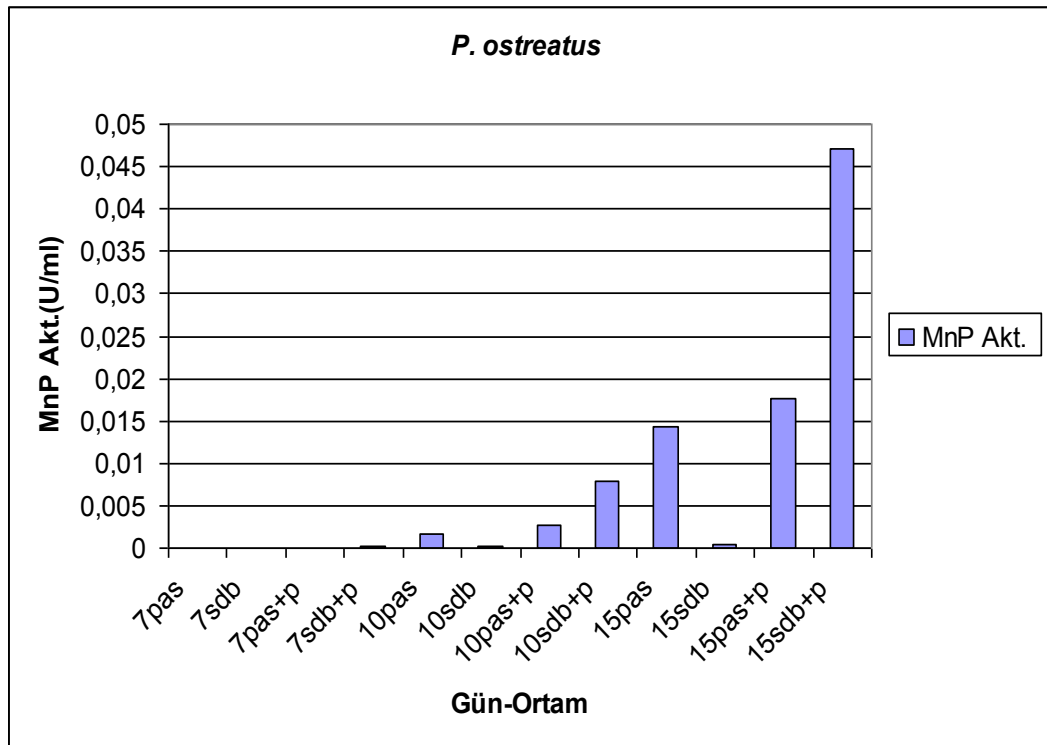
Grafik 4.14: *A. tabescens* 1'in Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki MnP Aktiviteleri (pas: Peynir altı suyu, sdb: Sabouraud dextrose broth, pas+p: Peynir altı suyu+pamuk sapı, sdb+p: Sabouraud dextrose broth+ pamuk sapı)



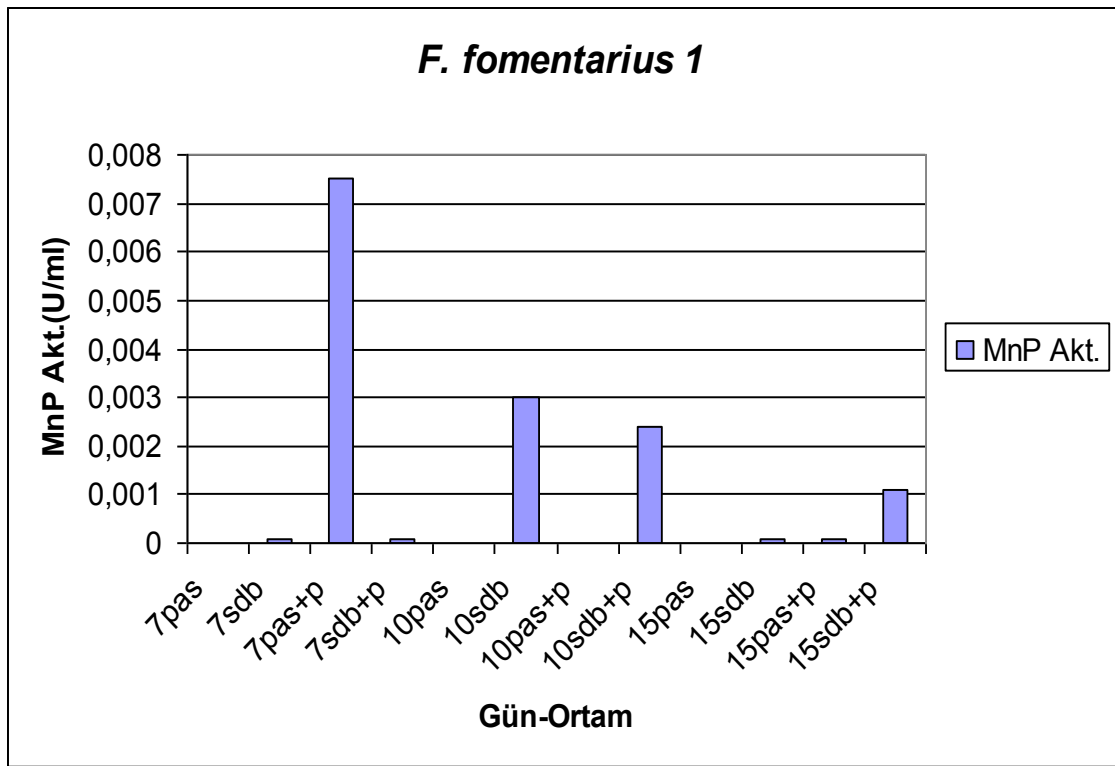
Grafik 4.15: *A. tabescens* 2'nin Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki MnP Aktiviteleri (pas: Peynir altı suyu, sdb: Sabouraud dextrose broth, pas+p: Peynir altı suyu+pamuk sapı, sdb+p: Sabouraud dextrose broth+pamuk sapı)



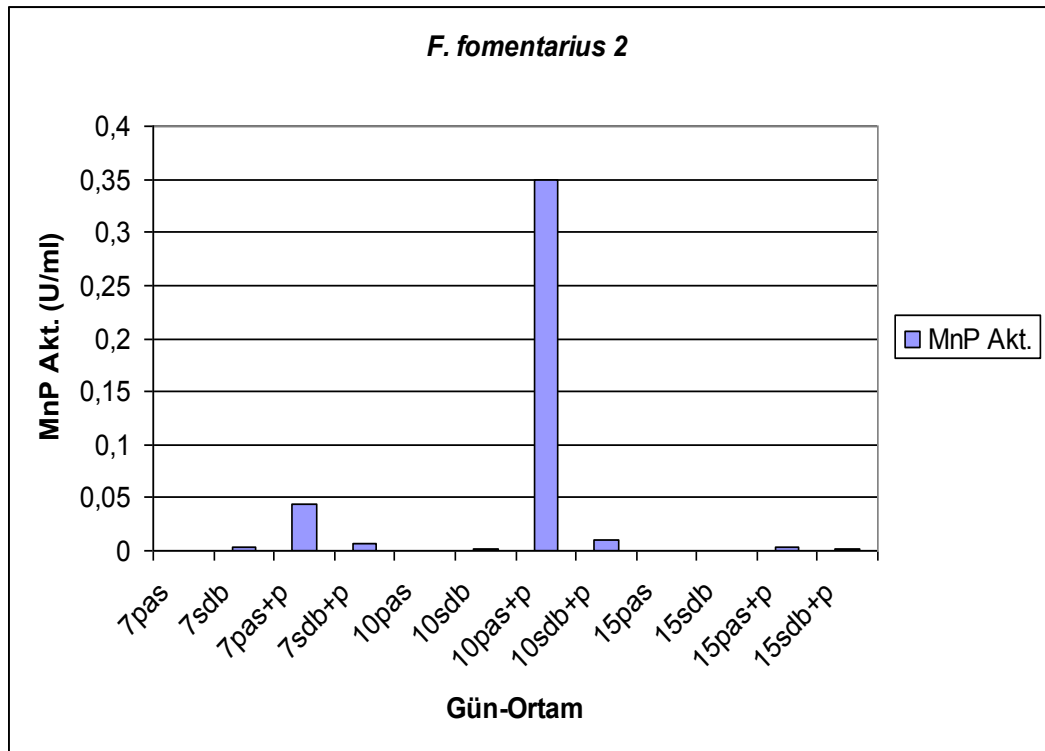
Grafik 4.16: *P. ostreatus*'un Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki MnP Aktiviteleri (pas: Peynir altı suyu, sdb: Sabouraud dextrose broth, pas+p: Peynir altı suyu+pamuk sapı, sdb+p: Sabouraud dextrose broth+ pamuk sapı)



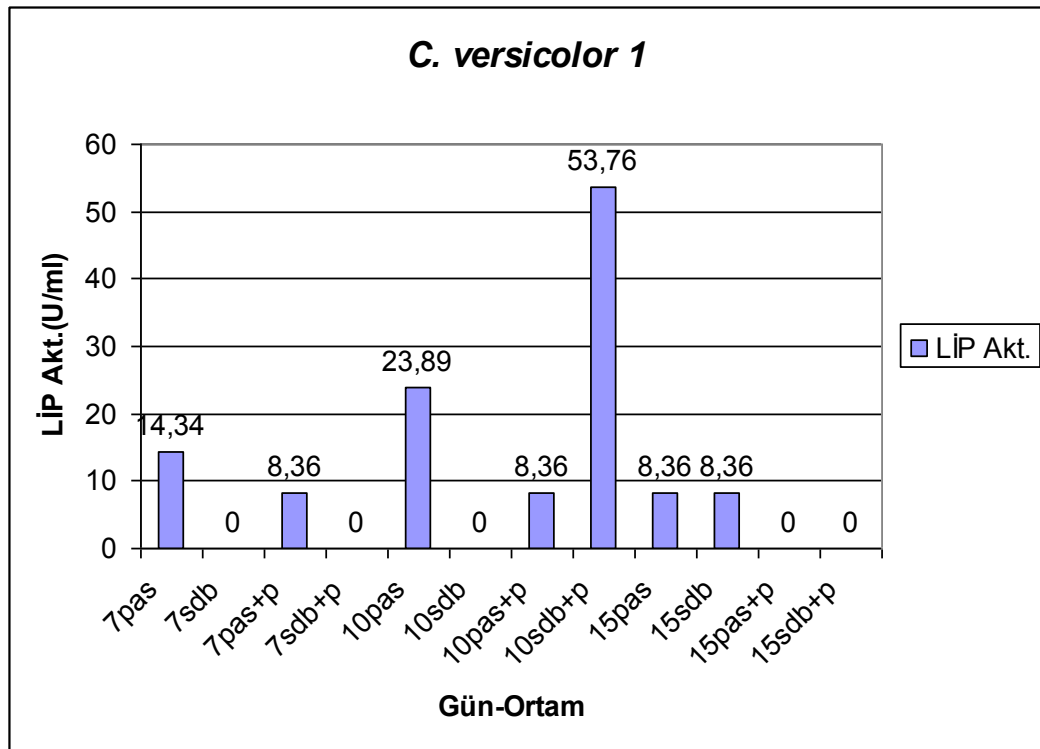
Grafik 4.17: *F. fomentarius* 1'in Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki MnP Aktiviteleri (pas: Peynir altı suyu, sdb: Sabouraud dextrose broth, pas+p: Peynir altı suyu+pamuk sapı, sdb+p: Sabouraud dextrose broth+pamuk sapı)



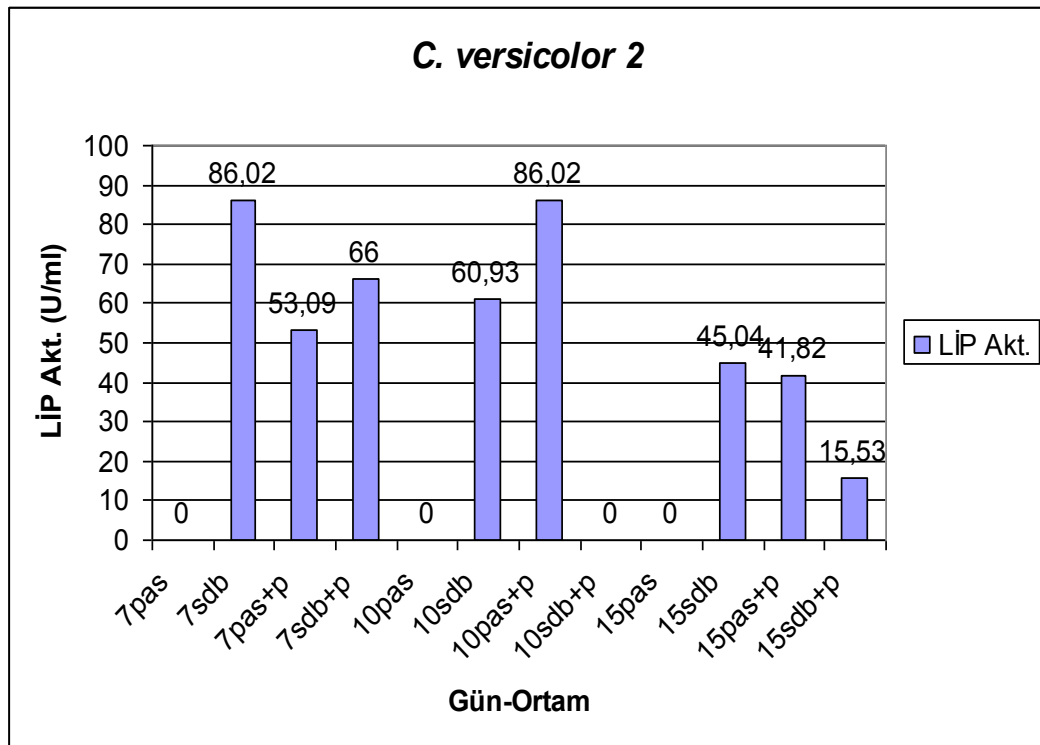
Grafik 4.18: *F. fomentarius* 2'in Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki MnP Aktiviteleri (pas: Peynir altı suyu, sdb: Sabouraud dextrose broth, pas+p: Peynir altı suyu+pamuk sapı, sdb+p: Sabouraud dextrose broth+pamuk sapı)



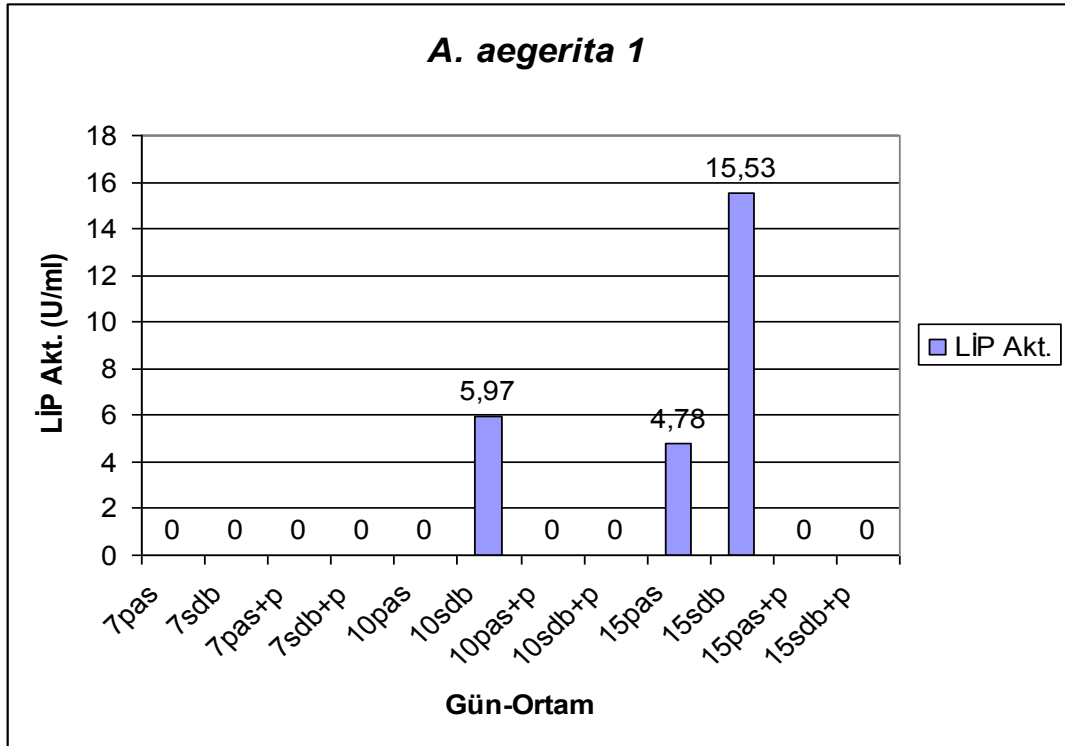
Grafik 4.19: *C. versicolor* 1'in Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki LiP Aktiviteleri (pas: Peynir altı suyu, sdb: Sabouraud dextrose broth, pas+p: Peynir altı suyu+pamuk sapı, sdb+p: Sabouraud dextrose broth+pamuk sapı)



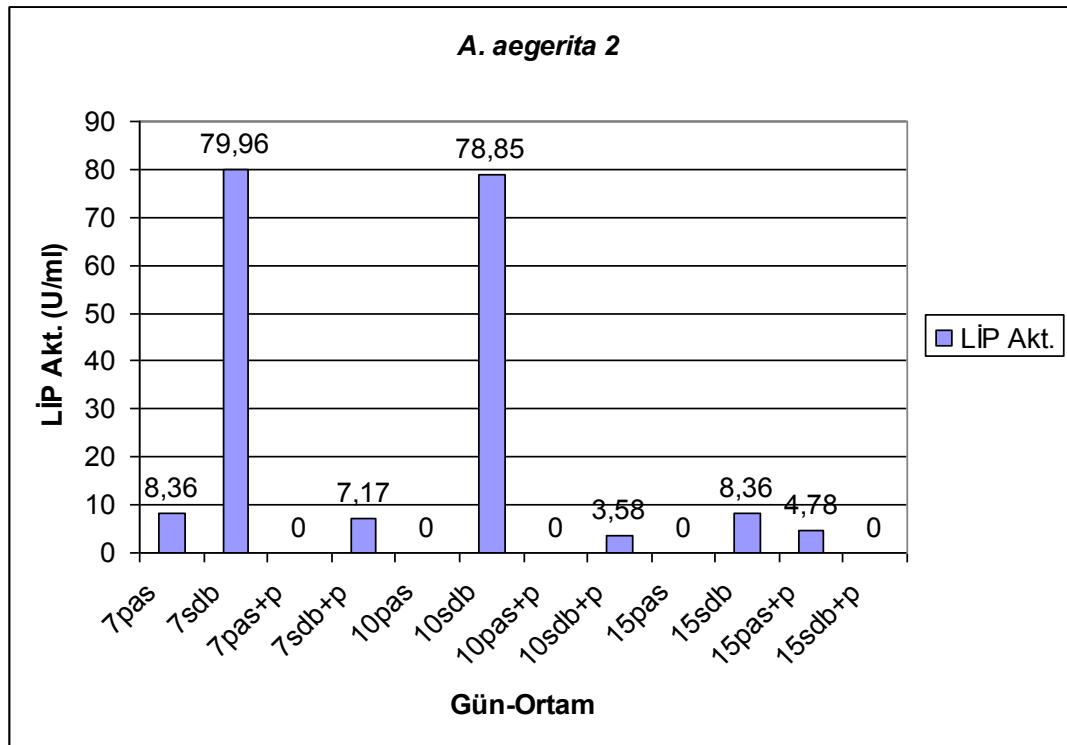
Grafik 4.20: *C. versicolor* 2'nin Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki LiP Aktiviteleri (pas: Peynir altı suyu, sdb: Sabouraud dextrose broth, pas+p: Peynir altı suyu+pamuk sapı, sdb+p: Sabouraud dextrose broth+pamuk sapı)



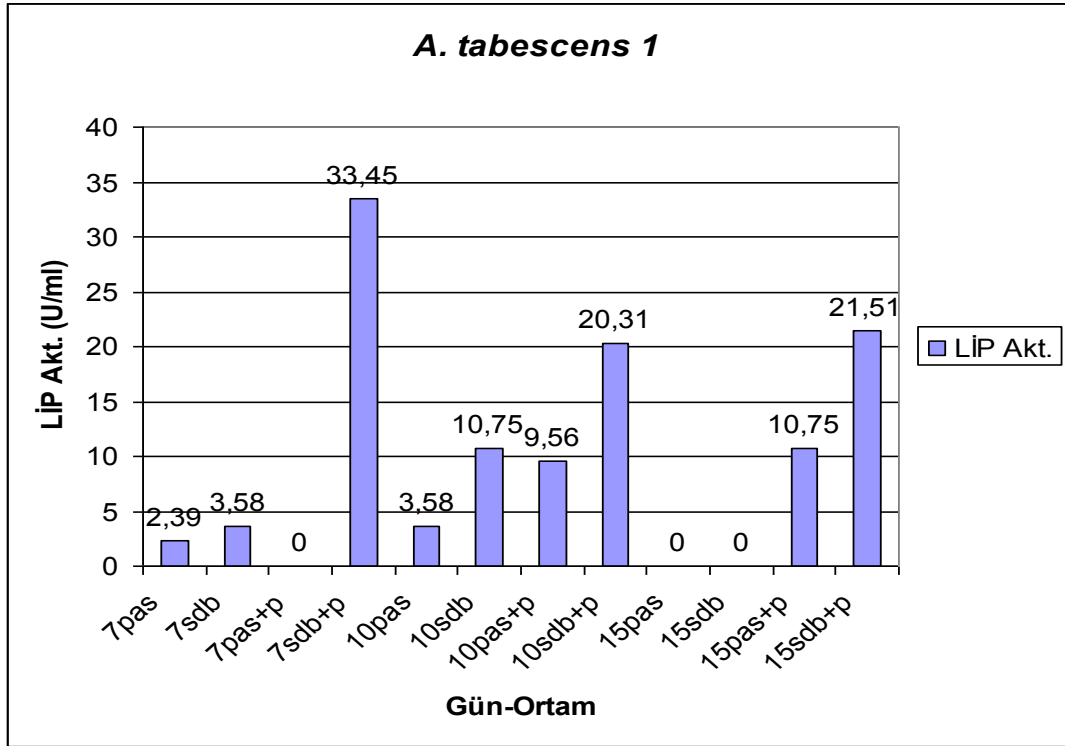
Grafik 4.21: *A. aegerita* 1'in Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki LiP Aktiviteleri (pas: Peynir altı suyu, sdb: Sabouraud dextrose broth, pas+p: Peynir altı suyu+pamuk sapı, sdb+p: Sabouraud dextrose broth+ pamuk sapı)



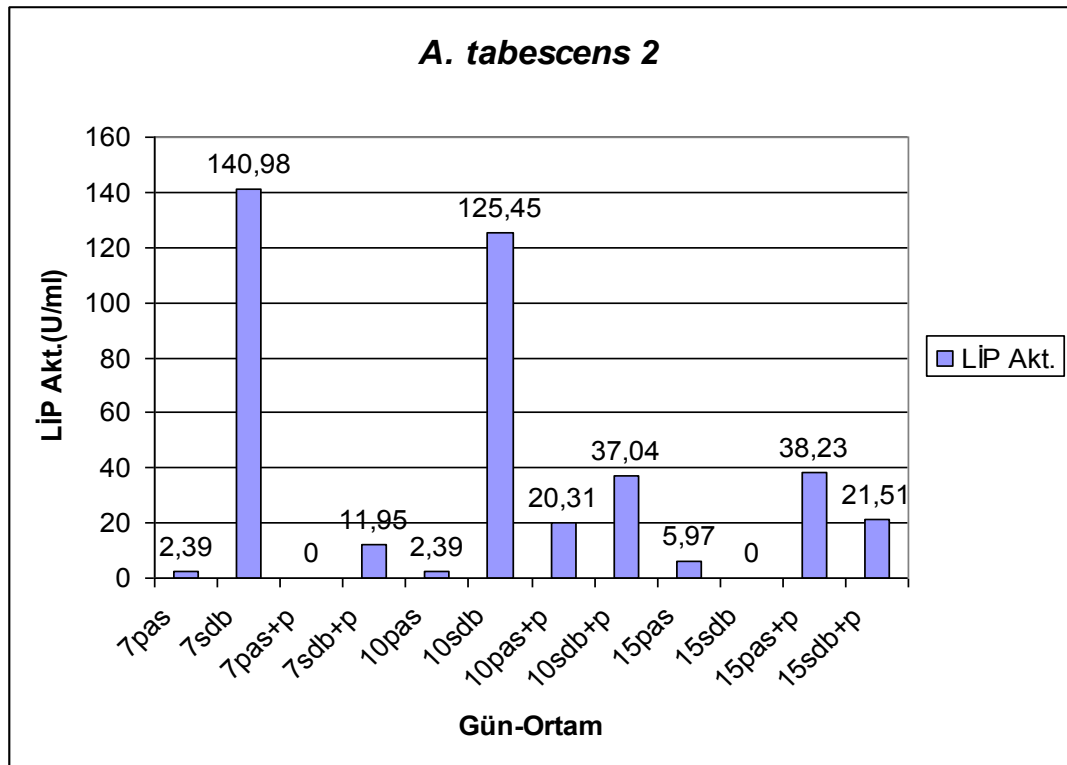
Grafik 4.22: *A. aegerita* 2'nin Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki LiP Aktiviteleri (pas: Peynir altı suyu, sdb: Sabouraud dextrose broth, pas+p: Peynir altı suyu+pamuk sapı, sdb+p: Sabouraud dextrose broth+ pamuk sapı)



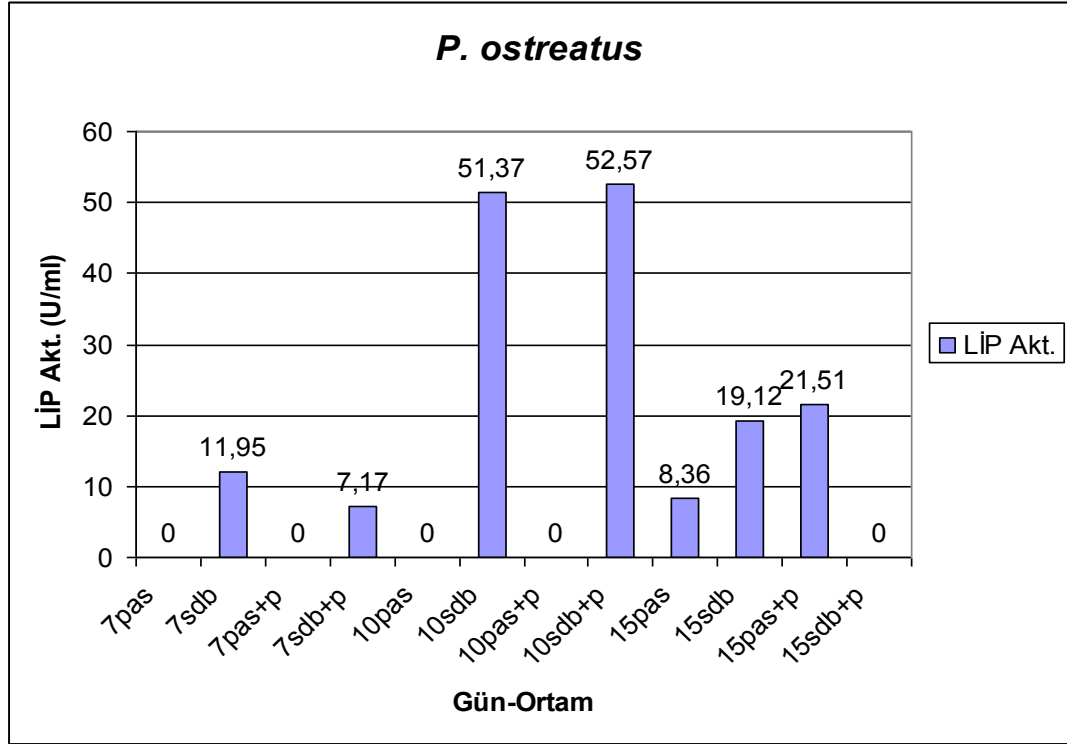
Grafik 4.23: *A. tabescens* 1'in Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki LiP Aktiviteleri (pas: Peynir altı suyu, sdb: Sabouraud dextrose broth, pas+p: Peynir altı suyu+pamuk sapı, sdb+p: Sabouraud dextrose broth+ pamuk sapı)



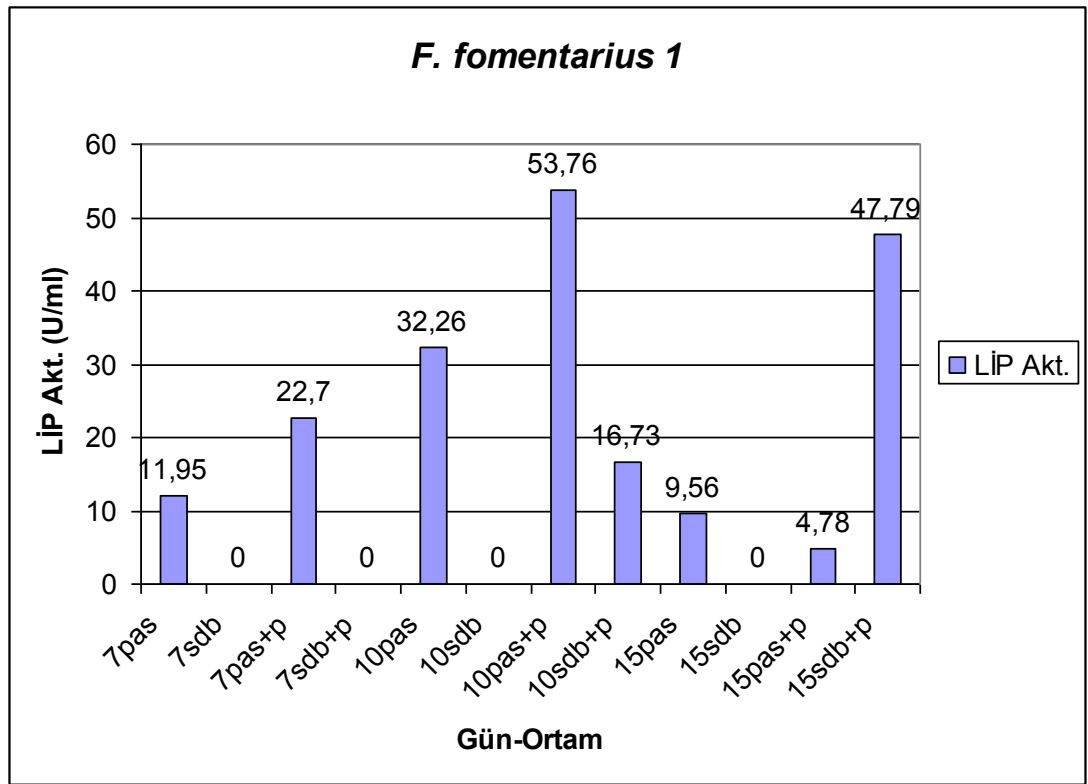
Grafik 4.24: *A. tabescens* 2'in Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki LiP Aktiviteleri (pas: Peynir altı suyu, sdb: Sabouraud dextrose broth, pas+p: Peynir altı suyu+pamuk sapı, sdb+p: Sabouraud dextrose broth+ pamuk sapı)



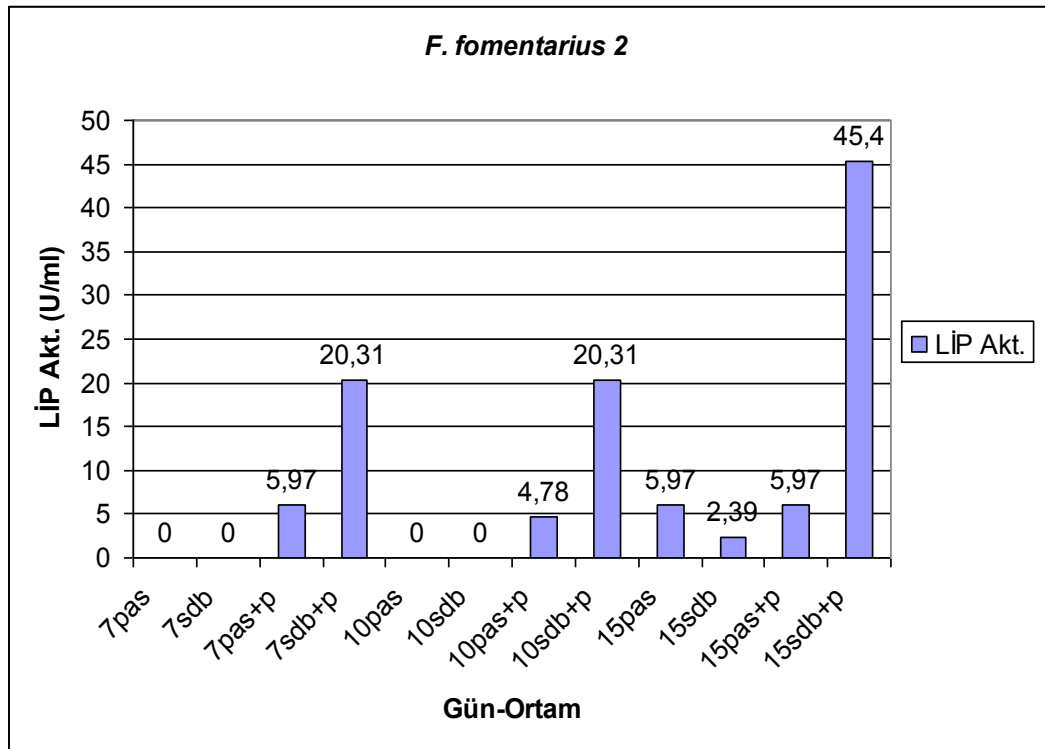
Grafik 4.25: *P. ostreatus*'un Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki LiP Aktiviteleri (pas: Peynir altı suyu, sdb: Sabouraud dextrose broth, pas+p: Peynir altı suyu+pamuk sapı, sdb+p: Sabouraud dextrose broth+ pamuk sapı)



Grafik 4.26: *F. fomentarius* 1'in Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki LiP Aktiviteleri (pas: Peynir altı suyu, sdb: Sabouraud dextrose broth, pas+p: Peynir altı suyu+pamuk sapı, sdb+p: Sabouraud dextrose broth+pamuk sapı)



Grafik 4.27: *F. fomentarius* 2' nin Farklı Ortamlarda 15 Günlük Femantasyondaki LiP Aktiviteleri (pas: Peynir altı suyu, sdb: Sabouraud dextrose broth, pas+p: Peynir altı suyu+pamuk sapı, sdb+p: Sabouraud dextrose broth+pamuk sapı)



4. 3. KAYNAKLAR

1. Gücin, F., *Elazığ İli Sınırları İçinde Yetişen Bazı Makrofunguslar Üzeinde Taksonomik Bir Araştırma*, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Bornova, İzmir, **1983**.
2. Dermek, A., *Mushrooms and Other Fungi*, Dorset Press, New York, **1984**.
3. Heim R., *Champignons D'europa*, EditionsN. Boubée & Cie, Paris, **1969**.
4. Kapich, A. N.; Prior, B. A.; Botha, A.; Galkin, S.; Lundell, T.; Hatakka, A., *Effect of Lignocellulose-Containing Substrates on Production of Ligninolytic Peroxidases in Submerged Cultures of Phanerochaete chrysosporium ME-446*, *Enzyme and Microbial Technology*, **2004**, 34, 187-195.
5. Sık, S.; Ünyayar, A., *Pamuk Sapı ile Phanerochaete chrysosporium ve Funalia trogii'nin Yarı-Katı Fermentasyonu Sonucu Olusan Lakkaz, Peroksidaz, Ligninaz ve Selülaz Aktiviteleri*, *Tr. J. of Biology*, **1998**, 22, 287-298.
6. Kahraman, S. S.; Gurdal, İ. H., *Effect of Synthetic and natural Culture Media on Laccase Production by White rot Fungi*, *Bioresource Technology*, **2002**, 82, 215-217.
7. Mikiashvili, N., Wasser, S.; Nevo, E.; Chichua, D.; Elisashvili, V., *Lignocellulolytic Enzyme Activities of Medicinally Important Basidiomycetes from Different Ecological Niches*, *Int. J. Med. Mushr.* **2004**, 6, 63-71.
8. Ardon, O.; Kerem, Z.; Hadar, Y., *Enhancement of Laccase Activity in Liquid Cultures of The Ligninolytic Fungus Pleurotus ostreatus by Cotton Stalk Extract*, *J. Biotechnol.* **1996**, 51, 201-207.
9. Reddy, G. V.; Babu, P. R. ; Komaraiah, P.; Roy, K. R. R. M. ; Kothari, I. L. *Utilization of Banana Waste for The Production of Lignolytic and Cellulolytic*

Enzymes by Solid Substrate Fermentation Using Two Pleuratus Species (P. ostreatus and P. sajor-caju), *Process Biochem*, **2003**, 38, 1457–1462 .

10. Papinutti, V. L.; Forchiassin, F., *Optimization of Manganese Peroxidase and Laccase Production in The South American Fungus Fomes sclerodermeus (Le' v.) Cke*, *J. Ind. Microbiol. Biotechnol*, **2003**, 30, 536–541.

11. Chawachart, N.; Khanongnuch, C.; Watanabe, T.; Lumyong, S., *Rice Bran as an Efficient Substrate for Laccase Production from Thermotolerant Basidiomycete Coriolus versicolor Strain RC3*, *Fungal Diversity*, **2004**, 15, 23-32.

12. Shah, M. P.; Reddy, G. V.; Banerjee, R.; Babu, P. R.; Kothari, I. L., *Microbial Degradation of Banana Waste Under Solid State Bioprocessing Using Two Lignocellulolytic Fungi (Phylosticta spp. MPS-001 and Aspergillus spp. MPS-002)*, *Process Biochemistry*, **2005**, 40, 445-451.

13. Birhanli, E.; Yesilada, Ö., *Increased Production of Laccase by Pellets of Funalia trogii ATCC 200800 and Trametes versicolor ATCC 20080 in Repeated-Batch Mode*, *Enzyme and Microbial Technology*, **2006**, 39 (6), 1286-1293.

14. Stajic, M.; Persky, L.; Friesem, D.; Hadar, Y; Wasser, S. P.; Nevo, E.; Vukojevic, J., *Effect of Different Carbon and Nitrogen Sources on Laccase and Peroxidases Production by Selected Pleurotus Species*, *Enzyme and Microbial Technology*, **2006**, 38, 65–73.

15. Xavier, A. M. R. B.; Tavares, A. P. M.; Ferreira, R.; Amado, F., *Trametes versicolor Growth and Laccase Induction with by-Products of Pulp and Paper Industry*, *Electronic Journal of Biotechnology*, ISSN: 0717-3458, **2007**, 10 (3), 444-451.

16. Elisashvili, V.; Penninckx, M.; Kachlishvili, E.; Tsiklauri, N.; Metreveli, E.; Kharziani, T.; Kvesitadze, G., *Lentinus edodes and Pleurotus Species Lignocellulolytic Enzymes Activity in Submerged and Solid-State Fermentation of Lignocellulosic Wastes of Different Composition*, *Bioresource Technology*, **2007**, 99 (3), 457-462.
17. Valaskova, V.; Snajdr, J.; Bittnerb, B.; Cajthaml, T.; Merhautova, V.; Hofrichter, M.; Baldrian, P., *Production of Lignocellulose-Degrading Enzymes and Degradation of Leaf Litter by Saprotrophic Basidiomycetes Isolated from a Quercus petraea forest*, *Soil Biology & Biochemistry*, **2007**, 39, 2651–2660.
18. Jaszek, M.; Grzywnowicz, K.; Malarczyk, E.; Leonowicz, A., *Enhanced Extracellular Laccase Activity as a Part of The Response System Of White Rot Fungi: Trametes versicolor and Abortiporus biennis to Paraquat-Caused Oxidative Stress Conditions*, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, **2006**, 85(3), 147-15.
19. Jaszek, M.; Zuchowski, J.; Dajczak, E.; Cimek, K.; Graz, M.; Grzywnowicz, K., *Ligninolytic Enzymes Can Participate in A Multiple Response System to Oxidative Stress in White-Rot Basidiomycetes: Fomes fomentarius and Tyromyces pubescens*, *International Biodeterioration & Biodegradation*, **2006**, 58, 168–175.
20. Hofrichter, M., *Review: Lignin Conversion by Manganese Peroxidase (MnP)*, *Enzyme and Microbial Technology*, **2002**, 30, 454–466.
21. Hammel, K. E.; Cullen, D., *Role of Fungal Peroxidases in Biological Ligninolysis*, *Current Opinion On Biotechnology*, **2008**, 19, 166–172.
22. Camarero, S.; Böckle, B.; Matinez, M. J.; Martinez, A. T., *Manganese-Mediated Lignin Degradation by Pleurotus pulmonarius*, *Applied Environmental Microbiology*, **1996**, 62, 1070-1072.

23. Elisashvili, V.; Penninckx, M.; Kachlishvili, E.; Asatiani, M.; Kvesitadze, G., *Use of Pleurotus dryinus for Lignocellulolytic Enzymes Production in Submerged Fermentation of Mandarin Peels and Tree Leave.*, *Enzyme Microb Technol*, **2006**, 38, 998–1004.
24. Urek, R. O.; Pazarlioglu, N. K., *Enhanced Production of Manganese Peroxidase by Phanerochaete chrysosporium*, *Agriculture, Agribusiness and Biotechnology*, **2007**, 1-12.
25. Papinutti, V. L.; Forchiassin, F., *Lignocellulolytic Enzymes from Fomes sclerodermeus Growing in Solid-State Fermentation*, *Journal of Food Engineering*, **2007**, 81, 54–59.
26. Levin, L.; Herrmann, C.; Papinutti, V. L., *Optimization of Lignocellulolytic Enzyme Production by the White-rot Fungus Trametes trogii in Solid-State Fermentation Using Response Surface Methodology*, *Biochemical Engineering Journal*, **2008**, 39, 207-214.
27. Kalmış, E.; Yaşa, İ.; Kalyoncu, F.; Pazarbaşı, B.; Koçyiğit, A., *Ligninolytic Enzyme Activities in Mycelium of Some Wild and Commercial Mushrooms*, *African Journal of Biotechnology*, **2008**, Vol. 7 (23), pp. 4314-4320.
28. Fenice, M.; Sermanni, G. G.; Federici, F.; D'Annibale, A., *Submerged and Solid-State Production of Laccase and Mn-peroxidase by Panus tigrinus On Olive Mill Waste Water-Based Media*, *Journal of Biotechnology*, **2003**, 100, 77- 85.
29. Lechner, B.E., Papinutti, V.L., *Production of Lignocellulosic Enzymes During Growth and Fruiting of the Edible Fungus Lentinus tigrinus on Wheat Straw*, *Process Biochemistry*, **2005**, 41, 594-598.

30. Erden, E.; Ucar, M. Ç.; Kaymaz, Y.; Pazarlioglu, N. K., *New and different lignocellulosic materials from Turkey for laccase and manganese peroxidase production by Trametes versicolor*, *Eng. Life Sci.* **2009**, 9,(1), 60–65.
31. Fujian, X.; Hongzhang, C.; Zuohu., *Solid-State Production of Lignin Peroxidase (LIP) and Manganese Peroxidase (MnP) by Phanerochaete chrysosporium Using Steam-Exploded Straw as Substrate*, *Bioresource Technology*, 2001, 80, 149-151.
32. Arora, D. S.; Chander, M.; Gill, P. K.; *Involvement of Lignin Peroxidase, Manganese Peroxidase and Laccase in Degradation and Selective Ligninolysis of Wheat Straw*, *Int. Biodeter. Biodegradation*, **2002**, 50, 115-120.
33. Songulashvili, G.; Elisashvili, V.; Wasser, S. P.; Nevo, E.; Hadar, Y., *Laccase and Manganese Peroxidase Activities of Phellinus robustus and Ganoderma adspersum Grown on Food Industry Wastes in Submerged Fermentation*, *Biotechnol Lett*, **2006**, 28, 1425-1429.
34. Songulashvili, G.; Elisashvili, V.; Wasser, S. P.; Nevo, E.; Hadar, Y., *Basidiomycetes Laccase and Manganese Peroxidase Activity in Submerged Fermentation of Food Industry Wastes*, *Enzyme and Microbial Technology*, **2007**, 41(1-2), 57-61.
35. Yu, G.; Wen, X.; Qian, Y., *Production of the Ligninolytic Enzymes by Immobilized Phanerochaete chrysosporium in an Air Atmosphere*, *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, **2005**, 21, 323–327.
36. Membrillo, I.; Sánchez, C.; Meneses, M.; Favela, E.; Loera, O., *Effect of Substrate Particle Size and Additional Nitrogen Source on Production of Lignocellulolytic Enzymes by Pleurotus ostreatus Strains*, *Bioresource Technology*, **2008**, 99, (16), 7842-7847.

37. Janusz, G.; Rogalski, J.; Szczodrak, J., *Increased Production of Laccase by *Cerrena unicolor* in Submerged Liquid Cultures*, *World J. Microbiol. Biotechnol.*, **2007** 23, 1459–1464.
38. Papinutti, V. L.; Diorio, L. A.; Forchiassin, F., *Production of Laccase and Manganese Peroxidase by *Fomes sclerodermeus* Grown on Wheat Bran*, *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, **2003** 30, 157–160.
39. Hammel, K. E., *Fungal Degradation of Lignin, Plant Litter Quality and Decomposition*, **1997**, 33-45.
40. Lankinen. P., *Lignolytic Enzymes of The Basidiomycetous Fungi *Agaricus bisporus* and *Phlebia radiata* on Lignocellulose-Containing Media*, *Academic Dissertation in Microbiology*, Helsinki, **2004** .
41. Podgornik, H.; Podgornik, A.; Milavec, P.; Perdih, A., *The Effect of Agitation and Nitrogen Concentration on Lignin Peroxidase (LiP) Isoform Composition During Fermentation of *Phanerochaete chrysosporium**, *Journal of Biotechnology*, **2001**, 88, 173-176 .
42. Chi, Y.; Hatakka, A.; Maijala, P., *Can Co-Culturing of Two White-Rot Fungi Increase Lignin Degradation and Production of Lignin-Degrading Enzymes?* *International Biodeterioration & Biodegradation*, **2007**, 32-39.
43. Kalmış, E.; Yaşa, İ.; Kalyoncu, F.; Pazarbaşı, B.; Koçyiğit, A., *Ligninolytic Enzyme Activities in Mycelium of Some Wild and Commercial Mushrooms*, *African Journal of Biotechnology*, **2008**, 7 (23), 4314-4320.
44. Neifar, M. ; Jaouani, A.; Ellouze-Ghorbel, R.; Ellouze-Chaabouni, S.; Penninckx, M. J., *Effect of Culturing Processes and Copper Addition on Laccase*

Production by The White-Rot Fungus Fomes fomentarius MUCL 35117, Letters in Applied Microbiology, ISSN 0266-8254, 2009, 1-6.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Mikrobiyal enzimlerin günümüzde tıp, gıda, tekstil ve deri gibi daha birçok endüstriyel maddelerin üretilmesinde ve işlenmesinde kullanıldığı bilinmektedir. Özellikle fungal kaynaklı enzimler, endüstriyel atıkların, aromatik ve ksenobiyotik maddelerin arıtımında ve yıkımında yoğun olarak kullanım alanı bulabilmektedir. Bu durum, fungal enzimlerin biyoteknolojideki öneminin ilerleyen süreçte daha da artacağını göstermektedir.

Yüksek oranda enzim üretme potansiyeline sahip olan beyaz çürükçül funguslar, günümüzde biyoteknolojide geniş kullanım alanı bulmuştur.

Ancak, lignolitik enzim üretim oranı, ortam kompozisyonu, C/N oranı, pH, sıcaklık, havalandırma gibi birçok faktörden etkilendiği bilinmektedir. Bu da farklı habitatlarda yetişen türlerin farklı miktarlarda enzim üretebileceği veya bunlardan farklı izoformların tespit edilebileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte, yapılan çalışmalarda daha çok *C. versicolor*, *F. trogii*, *P. chrysosporium*, *P. ostreatus*, *P. sajor-caju* *P. eryngii* gibi beyaz çürükçüllerin kullanıldığı görülmektedir. Biyoteknolojide kullanılacak yeni türlerin veya suşların saptanmasının ve enzim üretim potansiyellerinin belirlenmesinin önem taşıdığı ortadadır.

Bu amaçla, bölgemizde doğal olarak yetişen beyaz çürükçül fungus türlerinin saptanmasına ve bunların lignolitik enzimlerinin karakterizasyonuna çalışılmıştır.

Sonuç olarak,

1. Mardin’de yapılan arazi çalışması ile Mardin’e ait ilk makrofungus örnekleri tespit edilmiş ve literatüre kazandırılmıştır.
2. Doğal ortamlarından elde edilmiş bazı *Basidiomycetes* türlerinin lignolitik enzim aktiviteleri incelenmiş ve çalışılan bütün türlerde Lakkaz, MnP ve

LiP aktivitesi gözlenmiştir. Ayrıca LiP aktivitesinin birçok *Basidiomycetes*'te gözlenmeyişi göz önüne alındığında, çalışılan suşların hepsinde gözlenen LiP aktivitesiyle yapılan çalışma önemli bulunmuştur.

3. Farklı ekolojik alanlardan elde edilen aynı türün aynı kültür koşullarında farklı lignolitik aktivite gösterdiğini ve bunun nedeninin tür içi varyasyonlardan kaynaklanabileceği düşünülmüştür.
4. Farklı kültür koşullarının örneklerin enzim aktivitesini etkilediği ve türlerin kültür koşullarına cevap olarak sekonder metabolizma sonucu enzim ürettiklerini düşünmekteyiz.
5. Bazı örneklerde ortama indükleyici eklenmesinin enzim aktivitesini tetiklediği gözlenirken, bazılarında ise etkilemediği belirlenmiştir. Özellikle *A. tabescens* 2'nin SDB ortamında gözlenen LiP aktivitesi, bu türün ucuz maliyetle elde edilebilir koşullarda enzim üretimi için potansiyel oluşturduğunu göstermektedir.
6. Çalışmada kullanılan *A. tabescens* 1, *A. tabescens* 2, *C. versicolor* 2'de gözlenen yüksek Lakkaz, MnP ve LiP aktivitesi, bu enzimlerin üretiminde gelecek vaad eden örnekler olarak değerlendirilebilir.
7. Çalışmada kullanılan *F. fomentarius* 1 ve *F. fomentarius* 2 örnekleri MnP ve LiP aktivitesi göz önüne alındığında bu konudaki çalışmalarda kullanılabileceğini önerebiliriz.
8. *A. aegerita* 2'nin SDB ortamından elde edilen LiP aktivitesi, bu örneğin daha ucuz ortam koşullarında LiP üretimi için büyük bir potansiyele sahip olduğunu göstermektedir.

9. Lignolitik enzimlerin pamuk sapı kullanılan ortamlardaki aktivitelerinde elde edilen yüksek artışlar, pamuk sapının biyoteknolojik uygulamalarda indükleyici olarak kullanılabilceğini göstermektedir.
10. Pamuk sapı ve peynir altı suyunun enzim üretiminde kullanılabilceği ve Biyoteknolojik uygulamalar için ucuz ve kolay elde edilebilir olduğunu düşünmekteyiz.

2007 sonbahar ve 2008 ilkbahar aylarında yeterli yağışın olmaması ile mantarın doğal olarak yetişmesi için istenilen nemin oluşmaması ve hava sıcaklığındaki ani artış, hem mantar türlerinin doğadaki yetişmesini ve hem de makrofungus florasındaki tür çeşitliliğini etkilediği gözlenmiştir. Bunun sonucunda tür sayısının az olması yeterli sayıda türün değerlendirilememesine neden olmuştur. Mardin'deki tür potansiyeli bilinmediğinden dolayı yeni arazi çalışmalarının yapılması ve türlerin değerlendirilmesi gerektiği düşünülmektedir.

Lignolitik enzim üretiminin pek çok faktörden etkilendiği göz önüne alınırsa, çalışılan türlerin gerçek enzim üretme potansiyelinin belirlenmesi için farklı atıkların ve kültür koşullarının değerlendirilmesi gerekmektedir. Ayrıca çalışılan örneklerin enzim üretiminin ve kültür koşullarının optimizasyonu biyoteknolojik uygulamalar için önem taşımaktadır.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : HİLAL ACAY

Doğum Yeri: MARDİN

Doğum Tarihi: 30/01/1980

Medeni Hali: EVLİ

Yabancı Dili: İNGİLİZCE

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : MARDİN LİSESİ (SÜPER LİSE) 1994-1998

Lisans : Dicle Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü
1999-2003

Yüksek Lisans: Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji ABD. 2003-
2005

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl:

Dicle Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü 2005-2006

Yayınları (SCI ve diğler):

1. DÜNDAR, A., ACAY, H., YILDIZ., Yield performances and nutritional contents of three oyster mushroom species cultivated on wheat stalk, African Journal of Biotechnology Vol. 7 (19), pp. 3497-3501, (2008)
2. DÜNDAR, A., ACAY, H., YILDIZ, A., 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 Vol. 8 (4), pp. 662-666, (2009)

Yurtiçi, Yurtdışı bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında basılan ve basılmıyan bildiriler

1. Acay, H., Yıldız, A., DüNDAR, A., Bazı Bitkisel Atıkların *Pleurotus sajor-caju* (Fr) Singer'in Çeşitli Evrelerdeki Gelişimi ve Verimi Üzerine Etkileri XVII. Ulusal Biyoloji Kongresi, 18-22 Haziran 2006 Kuşadası
2. DüNDAR, A., Acay, H., Yıldız, A., Lokal Tarımsal Artık Materyaller Kullanılarak *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) Kumm. (Kültür Mantarı)'un Üretilmesi Konusunda Bir Araştırma. VI. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi, 18-21 Eylül, Diyarbakır.
3. Yıldırım, N., Acay, H., DüNDAR, A., Yıldız, A., Değişik Konsantrasyonlardaki Ham Petrolün Bazı Beyaz Çürükçül Fungusların Vejateatif Gelişimi Üzerine Etkisi VII. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi, Eylül, Malatya.

Projeler

1. DÜAPK-04-FF-31 nolu ve Bölgemizin Tarımsal Üretiminde Atık Olarak Elde Edilen Sap, Saman Gibi Materyallerin *Pleurotus eryngii* ve *Pleurotus sajor-caju*'nun Üretiminde Kullanılması konulu Proje

Proje Yürütücüsü: Prof.Dr.Dr. Abdunнасır YILDIZ

Araştırmacılar: Yüksek Lisans Öğrencileri; Hilal ACAY ve Mehmet AKYÜZ

Projeyi Destekleyen Kuruluş: Dicle Üniversitesi Araştırma Projesi Koordinatörlüğü

(DÜAPK).Bitiş Tarihi: 1Ocak 2006

2. DÜAPK-04-FF-30 nolu ve Diyarbakır'da Üretilen Bazı Gıdaların Mikrobiyolojik Yönden Araştırılması konulu Proje

Proje Yürütücüsü: Prof.Dr.Dr. Abdunнасır YILDIZ

Araştırmacılar: Yüksek Lisans Öğrencileri; Hilal ACAY ve Mehmet AKYÜZ ve Dr Recep KARAKAŞ, Uzman Ömer Faruk YEŞİL

Projeyi Destekleyen Kuruluş : Dicle Üniversitesi Araştırma Projesi

Koordinatörlüğü

(DÜAPK). Bitiş Tarihi:31.12.2006

3. TÜBİTAK, *Pleurotus eryngii* ve *Terfezia boudieri*'nin Besinsel İçeriklerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma” başlıklı ve TOVAG-104O108 numaralı proje

Projeyi Destekleyen Kuruluş: TÜBİTAK

Bitiş Tarihi 01.11.2006

4. DÜBAP.07 02 15 nolu proje Diyarbakır-Mardin Yöresinde Yetişen Bazı Beyaz Çürükçül Fungusların Çeşitli Ekstraselüler Enzimlerinin Karakterizasyonu Üzerine Çalışmalar. (Devam ediyor)