

MANTARDA ŞİŞE KÜLTÜRÜ TEKNOLOJİSİ VE TÜRKİYE'DE YAPILAN ÇALIŞMALAR

Mustafa Kemal SOYLU^{1*}, Min-Gu KANG², Yong Seub SHIN³

¹Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Yalova; ORCID: 0000-0003-3492-0043

²Gyeongsangbuk-Do Agricultural Research & Extension Services, Daegu, Korea; ORCID: 0000-0002-7821-0660

³Gyeongsangbuk-Do Agricultural Research & Extension Services, Daegu, Korea; ORCID: 0000-0001-7270-0637

Geliş Tarihi / Received: 22.06.2022

Kabul Tarihi / Accepted: 14.11.2022

ÖZ

Türkiye’de mantar yetiştiriciliğinin önemli bir kısmını *Agaricus bisporus* kültür mantarı oluşturmaktadır. Son zamanlarda kayın mantarı (*Pleurotus* spp.), Shiitake mantarı (*Lentinula edodes*) ve Reishi mantarı (*Ganoderma lucidum*) gibi egzotik ve tıbbi mantarların yetiştiriciliğine olan ilgi artmaktadır. Türkiye’de egzotik ve tıbbi mantarların yetiştiriciliğinde yaygın olarak plastik torba sistemi kullanılmaktadır. Şişe kültürü, otoklav ısısına dayanıklı, polipropilen benzeri materyallerden yapılmış şişelerde yapılan bir yetiştirme tekniğidir. Mantar yetiştiriciliğinde kullanılan substrat bu şişelere doldurulmakta ve sterilize edilmektedir. Tohumluk misel ekimi yapıldıktan sonra mantar oluşumu bu şişelerde sağlanmaktadır. Türkiye’de şişe kültüründe yetiştiricilik özel sektör bazında henüz yapılmamaktadır. Çin, Japonya ve Güney Kore gibi Uzakdoğu ülkelerinde ise şişe kültüründe yetiştiricilik yaygın olarak yapılmaktadır. Son zamanlarda, Bazı Avrupa Birliği ülkelerinde ve ABD’de de şişe kültüründe yetiştiricilik yapılmaya başlanmıştır. Bu sistemle *Pleurotus* mantarı türleri (*Pleurotus eryngii*, *Pleurotus ostreatus* vb.) *Hypsizygus tessulatus*, Reishi (*Ganoderma lucidum*), Maitake mantarı (*Grifolia frondosa*), Enoki mantarı (*Flammulina velutipes*) ve Aslan yelesi (*Hericium erinaceus*) gibi birçok mantar yetiştiriciliği yapılabilmektedir. Şişe kültürü mekanize sistem olup, daha az işçilik gerektirir. Sıvı misel kullanımına olanak verdiğinden, daha hızlı bir misel sarımı gerçekleşir. Şişelerin boşaltılması ve temizlenmesinde de mekanize sistemler kullanılmaktadır. Güney Kore’de bulunan Gyeongsangbuk-Do Tarımsal Araştırma ve Yayın Hizmetleri ile yapılan işbirliği anlaşması çerçevesinde, şişe kültüründe mantar yetiştiriciliği Güney Kore’de incelenmiş ve şişe kültürü teknolojisi ülkemize transfer edilmiştir. Şişe kültürünün kullanımının yaygınlaşmasıyla Türkiye’de egzotik ve tıbbi mantarların endüstriyel üretiminin çok hızlı bir şekilde gelişeceğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Mantar, yetiştiricilik, şişe kültürü, otomasyon, sıvı misel

ABSTRACT

BOTTLE CULTURE TECHNOLOGY IN MUSHROOM CULTIVATION AND STUDIES IN TÜRKİYE

Agaricus bisporus (bottom mushroom) constitutes an important part of mushroom cultivation in Türkiye. Recently, there has been increasing interest in the cultivation of exotic and medicinal mushrooms such as oyster mushroom (*Pleurotus* spp.), Shiitake (*Lentinula edodes*) and Reishi (*Ganoderma lucidum*). Plastic bag system is widely used in the cultivation of exotic and medicinal mushrooms in Türkiye. Bottle culture is a cultivation technique in bottles made of autoclave heat resistant, polypropylene-like materials. The substrate used in mushroom cultivation is filled into these bottles and sterilized. The formation of the fruit body is provided in these bottles after the inoculating of spawn. Bottle culture cultivation in Türkiye is not carried out by the private sector. However, in Far East Countries such as China, Japan and South Korea, bottle cultivation is widely practiced. Recently, bottle cultivation has started in some European Union countries and the USA too. Many mushroom species such as *Pleurotus* species (*Pleurotus eryngii*, *Pleurotus ostreatus*), *Hypsizygus tessulatus*, Reishi (*Ganoderma lucidum*), Maitake (*Grifolia frondosa*), Enoki (*Flammulina velutipes*) and Lion’s mane (*Hericium erinaceus*) can be cultivated in this system. Bottle culture is mechanized system and requires less labor. A faster mycelia development may be obtained in the substrate since it allows the use of liquid mycelium. Mechanized systems are also used for cleaning and washing bottles. Bottle culture technology was transferred to Türkiye via the cooperation agreement with Gyeongsangbuk-Do Agricultural Research and Extension services in South Korea. We think that with the common use of bottle culture, the industrial production of exotic and medicinal mushrooms will develop very quickly in Türkiye.

Keywords: Mushroom, cultivation, bottle culture, automation, liquid mycelium

*Sorumlu yazar / Corresponding author: mustafakemal.soylu@tarimorman.gov.tr

GİRİŞ

Mantarlar; içerdikleri protein, mineral madde, vitaminler ve bioaktif maddeler nedeniyle son derece besleyici ve bağışıklık sistemini geliştiren sağlıklı bir gıdadır. Fakat mantar tüketimi ülkemizde henüz istenen seviyeye ulaşmamıştır. Yaklaşık olarak kişi başı yıllık mantar tüketimi 0.5 kilogramdır. Mantarların çok fazla tüketildiği Güney Kore’de kişi başına mantar tüketimi ise 4.2 kilogramdır [20]. Ülkemizde üretimi yapılan mantar tür çeşitliliği de yeterli sayıda değildir. Ülkemizde üretilen mantar miktarı 55.455 tondur [5]. Üretilen mantarların büyük bir çoğunluğu beyaz şapkalı kültür mantarı (*Agaricus bisporus*)’dır. Bunun yanında son yıllarda istiridyeye veya kayın mantarı (*Pleurotus ostreatus*) üretimi de yaygınlaşmaktadır [4]. Birkaç işletme de Shiitake (*Lentinula edodes*), Aslan yelesi, Kulacık veya Kral istiridyeye mantarı (*Pleurotus eryngii*) üretimi yapmaktadır. Bu mantarların üretimi istatistiklere girecek kadar önemli bir miktarda değildir. Oysaki İstiridyeye, Kulacık, Çadır, Aslan yelesi, Enoki gibi egzotik mantar türleri hem iç pazarda değerlendirilebilir hem de dış pazara ihraç edilebilir türlerdir. AB ülkeleri Kral istiridyeye, Enoki gibi egzotik mantar türleri ihtiyacının bir kısmını Uzakdoğu ülkelerinden ithal ederek karşılamaktadır. AB ülkelerine Uzakdoğu ülkelerine göre daha yakın olmamız bu mantar türlerini ihraç etme şansımızı artırmaktadır.

Mantar yetiştiricileri gelecek dönemlerde ayakta kalabilmek için yeni teknik ve teknolojileri yakından takip etmeleri gerektiği bildirilmiştir [17]. Artık günümüzde mantarhanelerden çok daha büyük kapasitede ve modern mantar fabrikaları kurulmaya başlanmıştır. Bu mantar fabrikalarında akıllı iklimlendirme sistemleri ve şişe kültürü teknolojisi gibi yüksek otomasyonlu sistemler kullanılmaktadır. 150 kg/m² verim ile mantar birim alandan diğer bitkiler içerisinde en fazla ürün alınabilen bir gıdadır. Çin’de mantar fabrikaları giderek yaygınlaşmaktadır. Toplam mantar üretiminin %8.6’sı mantar fabrikalarınca üretilmekte ve 2030 yılında bu oranın %20-30’a yükselmesi tahmin edilmektedir. Mantar fabrikalarının 2018’deki mantar üretimi 3.28 milyon tondur [1, 13]. Çin, Güney Kore ve Japonya gibi Uzakdoğu ülkeleri şişe kültürü teknolojisini kullandıktan sonra üretimlerini ve ihracatlarını katlayarak artırmışlardır. Güney Kore’de 2005 yılında üretimden elde edilen gelir 314 milyon dolar iken, 2010 yılında 598.6 milyon dolara çıkmıştır [20].

AB ülkeleri belirli bir kalitede, tekdüze ve standart ürünleri talep etmektedir. Şişe kültürü teknolojisi kullanılarak standart ve kaliteli ürün elde etmek

mümkün olmaktadır. Türkiye AB pazarına yakınlığı nedeniyle önemli bir avantaja sahiptir.

Bu çalışmada şişe kültürü teknolojisi tanımlanmış, şişe kültürü üretim tekniği ve şişe kültürü teknolojisinin avantaj ve dezavantajları tartışılmıştır. Ayrıca şişe kültürü teknolojisi ile ilgili olarak Türkiye’de yapılan çalışmalar hakkında bilgiler verilmiştir.

ŞİŞE KÜLTÜRÜ TEKNOLOJİSİ TANIMI VE TARİHİ GELİŞİMİ

Şişe kültürü teknolojisini kısaca tanımlamak gerekirse; otoklav buhar sıcaklığına dayanıklı polipropan şişelerde, şişelerin doldurulmasından, ekimine ve hasat sonrasında şişelerin boşaltılması aşamasına kadar, makinelerle otomasyon sistemi kullanılarak yapılan üretim sistemidir.

Şişe kültürü, yenilebilir ve tıbbi mantarların sterilize edilmiş ortamlarda yetiştirilmesiyle yapılmaktadır. San Antonio [18], *Agaricus brunnescens* türünde şişelerde sterilize edilmiş tahılların üzerine örtü toprağı koyarak şişe kültürü ile ilk çalışmayı yapmıştır. Bu çalışma diğer mantar türlerinde de şişe kültüründe yetiştiricilikle ilgili çalışmalara ilham kaynağı olmuştur. Oss ve Oeric [16], şişe kültürünü küçük çaplı mantar yetiştiriciliği için bir konsept olarak ön plana getirmiştir. Daha sonra Asyalı üreticiler ilk olarak Enoki mantarında kolay ürün almak için şişe kültürünü geliştirmişler, sonrasında da birçok tıbbi ve yenilebilir mantarda şişe kültürü teknolojisini yaygın olarak kullanmaya başlamışlardır. Bu türlerden bazıları şunlardır: İstiridyeye mantarı (*Pleurotus ostreatus*), Kulacık veya Kral istiridyeye mantarı (*Pleurotus eryngii*), Mantıka mantarı (*Pleurotus ferula*), Çadır mantarı veya Beyaz ferula mantarı (*Pleurotus tuoliensis*), Aslan yelesi (*Hericium erinaceus*), Shimeji mantarı (*Hypsizygos tessulatus*), Reishi (*Ganoderma lucidum*), Kulak mantarı (*Auricularia polytricha*) [23].

ŞİŞE KÜLTÜRÜNDE MANTAR YETİŞTİRİCİLİĞİ VE BU KONUDA YAPILAN ÇALIŞMALAR

Şişe kültürü sistemi farklı aşamalardan oluşmaktadır. Bu aşamalar;

1. Ham materyalin hazırlanması,
2. Şişelerin substrat materyali ile doldurulması,
3. Sterilizasyon,
4. Soğutma,
5. Misel ekimi,
6. Misel gelişimi,

7. Üst yaşlı misel dokusunun sıyırılması,
8. Primordiyum oluşumu,
9. Hasat,
10. Atık materyalin Şişelerden boşaltılmasıdır (Şekil 1).

Ham Materyalin Hazırlanması

Substratta kullanılacak materyallerin seçiminde materyalin maliyeti, bölgede bulunabilirliği ve mantar yetiştiriciliğindeki uygunluğu öz önünde bulundurulmaktadır [17]. Şişe kültürü sisteminde ağırlıklı olarak talaş ham materyali kullanılmaktadır. Kavak, meşe, kayın talaşı gibi sert ve yumuşak dokulu ağaçların talaşları tercih edilmektedir. Çam talaşlı kullanılması durumunda, mutlaka fermente edilerek kullanılmalıdır. Çamda bulunan reçine, misel gelişimini yavaşlatmaktadır. Sadece ince talaş kullanılması durumunda, çok sıkı bir yapı oluşturduğundan, şişelerde misel gelişimi yavaşlamaktadır. Bu nedenle ince talaş ve kaba talaşın 3:1 veya 4:1 oranında kullanılması daha iyi ve

sağlıklı bir misel gelişimi sağlamaktadır. Kaba talaş yerine kaba öğütülmüş mısır koçanı da kullanılabilir. Talaş ham materyaline çeşitli azot ve karbon kaynaklı materyaller kullanılarak daha yüksek verim elde edilebilecek formülasyonlar oluşturulabilmektedir. Buğday kepeği, pirinç kepeği, öğütülmüş mısır koçanı, mısır glütenu, soya fasulyesi küspesi, pamuk çiğidi küspesi, öğütülmüş yer fıstığı kabukları, öğütülmüş ayçiçeği kabuk atıkları, pirinç kavuzu, pancar küspesi, kolza tohumu küspesi, hindistan cevizi küspesi, kapok (*Ceiba pentandra*) tohumu küspesi, kırmızı ginseng malçı gibi tarımsal atıklar talaşa katkı olarak, şişe kültürü teknolojisinde substrat karışımında kullanılmaktadır [11, 12, 15, 23, 25]. Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü'nde geliştirdiğimiz substrat formülasyonu kullanılabilirdiği gibi, Çizelgede 1'de verilmiş farklı formülasyonlar da kullanılabilir (Çizelge 1). Formülasyonlar şişelerde yetiştirilecek türlere göre de farklılık göstermektedir.



Şekil 1. Mantarda şişe kültürü teknolojisinin aşamaları [3, 9, 22, 28]

Budama atığı, odunlar, mısır koçanları gibi büyük parçalardan oluşan materyaller kullanılması durumunda öğütülerek istenilen boyutlara getirilmelidir (Şekil 2). Her ne kadar bazı araştırmacılar buğday sapı ve samanı ile yapılan

kombinasyonların da şişe kültüründe kullanılabileceği üzerine çalışmalar yapmışlarsa da [19] şişe kültürü otomasyon makinelerinin kullanıldığı büyük çaplı işletmelerde saman kullanılması uygun değildir. Çünkü saman şişe dolm

makinesindeki boşluklara girmekte ve makinelerin verimli bir şekilde kullanılmasına engel olmaktadır. Saman kullanımı, daha çok küçük işletmelerde uygulanabilir.



Şekil 2. Odun ve mısır koçanı öğütücü

Çizelge 1. Farklı mantar türlerinin üretiminde kullanılan substrat formülasyonları

Oei [15]	Talaş	% 78
	Pirinç kepeği	% 20
	Şeker	% 1
	Alçı	% 1
Kong ve ark. [9]	Kayın talaşı	% 80
	Kepek	% 20
	Kireç	% 1
	Pamuk çiğidi kabuğu	% 40
	Pancar küspesi	% 10
	Pamuk çiğidi küspesi	% 10
Li ve ark. [14]	Pamuk çiğidi kabuk atığı	% 52.5
	İnce talaş	% 15
	Buğday kepeği	% 25
	Mısır unu	% 5
	Alçı	% 2
	Kireç	% 0.5
Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü'nde geliştirilen formülasyon	Mısır koçanı	% 40
	Talaş	% 39.5
	Pamuk çiğidi küspesi	% 10
	Kepek	% 10
	Kireç	% 0.5
Kim ve ark. [8]	Talaş	% 50
	Pancar posası	% 30
	Pamuk çiğidi küspesi	% 20

Substrat formülasyonuna göre hazırlanan materyaller tartılarak mikserde konmaktadır (Şekil 3). Mikserde materyaller homojen bir şekilde karıştırıldığı gibi aynı zamanda nemlendirilmektedir. Substrat nemi %60-65 civarına ayarlanmaktadır. Substrat pH'ı ise yetiştirilecek türe uygun bir pH aralığında olmalıdır [3, 8].

Şişelerin Substrat Materyali ile Doldurulması

Şişe kültürü teknolojisinde kullanılan şişeler, otoklav ısıya dayanıklı malzemeden imal edilmelidir. Polipropan plastik malzemeler en

uygundur. Plastik şişe hacimleri 850, 900, 1100, 1200 ve 1400 ml gibi değişik ebatlarda olmakta ve kullanılan şişe hacimleri mantar türlerine göre değişmektedir. En yaygın kullanılan şişe hacmi 1100 ml'dir. *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus ostreatus*, *Flammulina velutipes* gibi mantar türlerinde 1100 ml'lik şişeler, *Hypsizygus marmoreus* gibi küçük boyutlu mantarlarda 850-900 ml'lik şişeler yaygın olarak kullanılmaktadır [10, 15, 23, 28]. Şişeler çoğunlukla, 42×42 cm ebatlarındaki polipropilen sepetlere 16'şar adet olarak yerleştirilmektedir. Şişe ve sepetlerin ebatlarına göre, şişe makineleri seçilmektedir. Şişe hacminin belirlenmesinde bir diğer etken de kullanılan makinelerdir. Şişe hacmine karar verirken, tüketicilerin talepleri de göz önünde bulundurulmalıdır. Örneğin Uzakdoğu ülkelerinde küçük hacimli mantarlar tercih edilirken, ülkemizde daha büyük hacimde mantarlar tercih edilmektedir. Bu yüzden ülkemiz tüketici talepleri de düşünüldüğünde, 1100 ml'lik şişeler daha uygundur. Araştırma Enstitümüzde yürüttüğümüz bir proje kapsamında plastik şişe ve kapakları ile sepetlerinin kalıpları yaptırılmış ve bu şişe ve sepetlerin yerli üretimi yapılabilmektedir (Şekil 3). Şişelerde kullanılan kapaklar da farklılık göstermektedir. Filtreli kapaklar olduğu gibi filtresiz kapaklar da mevcuttur. Kapakların şişe ile uyumu önemlidir. Kapakların şişeleri sıkı bir şekilde kapatması gerekir. Aksi takdirde şişe ile kapak arasından hava girişi ile birlikte kontaminasyon riski artmaktadır. Çok sıkı olması durumunda da şişelerin ekimi sırasında kapakların makine ile açılması sırasında sorunlar yaşanmaktadır. Mikserde hazırlanan substrat, konteynır aracılığıyla şişe doldurma makinesine aktarılmakta, buradan da şişelere doldurulmaktadır (Şekil 4).



Şekil 3. Polipropilen şişeler ve sepetleri

Şişe doldurma makinesinin kapasitesi, işletme büyüklüğüne göre değişmektedir. Orta büyüklükte bir makine, saatte 1500 şişe doldurabilmektedir. Bu doldurma sırasında aynı zamanda şişelerde bulunan substratların orta kısmına makine yardımıyla delikler açılmaktadır ki bu deliklere daha sonraki aşamalarda

misel ekimi yapılacaktır. Yarı otomatik şişe doldurma makinelerinde, şişelerin ağzı elle kapatılmaktadır. Fakat tam otomatik planlanan büyük işletmelerin çoğunda şişelerin ağzı makine ile kapatılmakta ve şişeler sepetleri ile birlikte yükleme ekipmanları ile taşıma aletlerine yüklenmektedir.



Şekil 4. Şişe doldurma makinesi

Sterilizasyon

Şişelere doldurulan substratlar, otoklavda sterilize edilmektedir. Şişe kültürü teknolojisinde çoğunlukla dikdörtgen şeklindeki dik otoklavlar kullanılmaktadır. Çünkü bu otoklavlara şişelerin treylerle (taşıma araçları) yerleştirilmesi daha kolay olmaktadır. Otoklav taşıma araçları, genellikle 3 sepeti yan yana taşıyacak şekilde tasarlanmaktadır. Otoklav taşıma araçları paslanmaz malzemeden yapılmalı ve otoklav ısısına dayanıklı tekerlekleri olmalıdır. Dolayısıyla taşıma aracının eni sepet eniyle aynı olmalı boyu ise 3 sepet boyunda olmalıdır. Bir taşıma aracına 6 kat üst üste sepet konabilmektedir. Otoklavın eni tasarlanırken ise taşıma sepetlerinin 3 tanesi yan yana olacak şekilde olmalı ve otoklav iç duvarına olan boşluklar göz önünde tutularak tasarlanmalıdır. Otoklavın eni yaklaşık 203 cm, yüksekliği 221 cm boyu ise işletme büyüklüğüne göre değişmekle birlikte yaygın olarak 10 m'dir. Bu hacimlerde bir dik otoklav, yaklaşık 4500 şişe almaktadır (Şekil 5). Sterilizasyon buharla yapıldığından, işletmede buhar jeneratörü de bulunmalıdır.

Sterilizasyon süresi ve sıcaklığı işletmelere göre ve üretilen mantar türlerine göre değişmektedir. Çoğunlukla 121°C'de 1-2 saat süreyle yapılan sterilizasyon yeterli olmaktadır. Fakat bazı işletmeler 100°C'de 5-6 saat süre ile sterilize etmektedir. 96-98°C'de 4 saat, ek besleme çok fazla miktarda yapıyorsa 10 saate kadar çıkmaktadır. Bazı işletmeler ise önce 121°C'de 2 saat sterilize etmekte, sonra tekrar 121°C'de 2 saat daha sterilizasyona tabi tutmaktadır [9, 15].



Şekil 5. Dik otoklav

Soğutma

Otoklavda sterilize edilen şişelerdeki substrat sıcaklığının 20-25°C'ye düşmesi için klima veya soğutucularla soğutulmaya bırakılmaktadır. Soğutmanın hızlı bir sürede gerçekleşmesi gerekmektedir. Çünkü soğutma esnasında, kontaminasyon riski olabilmektedir. Bu yüzden otoklav çıkış alanının ve soğutma odasının HEPA filtreli bir havalandırma sistemine sahip olması gerekir. Enfeksiyonun en yaygın olduğu dönem ise sterilizasyon sonrasında soğutma sırasında [28].

Misel Ekimi

Şişe kültürü teknolojisinde misel ekimi iki farklı misel ile yapılmaktadır. Katı materyale sardırılmış miseller (çoğunlukla talaşa sardırılmış misel) kullanılabilir gibi sıvı misel (Şekil 6) ile de ekim yapılabilir. Misel ekim makinesinin bulunduğu alan ve misel ekim makinesinin üst kısmı HEPA filtreli bir havalandırma sistemi ile havalandırılmalıdır (Şekil 7). Katı miselle ekim yapılırken, 4 adet önceden hazırlanmış talaşa sarılı misel, ekim makinesinin gözlerine yerleştirilmektedir. Makine dönen bıçakları vasıtasıyla tohumluk miselleri çıkartmakta ve tohum ekim kanallarına göndermektedir. Bu kanallardan da sepette bulunan şişelere ekim yapılmaktadır. Sepetteki şişeler raylı bir sistem ile yürütülmekte ve ilk 4 sıradaki şişelerin kapakları makine tarafından açılmakta ve aynı zamanda tohum ekim kanalları ileriye hareket ederek katı tohumları şişeler üzerine serpmektedir. Daha sonrasında ise makine tekrar kapakları kapatmaktadır ve bu şekilde diğer şişeler de 4'erli halde ekilmektedir. Yaklaşık 10'ar gram şişe başına misel ekimi yeterli olmaktadır. Orta boyuttaki bir şişe ekim makinesi yaklaşık saatte 1500 adet şişeye ekim yapabilmektedir. Şişe ekim makinesine sıvı misel tankı entegre ederek sıvı misel ekimi de yapılabilir. Sıvı misel ekimi yapıldığında

şişelerin kapakları açıldığında başlıklar yardımıyla sıvı miseller şişelere sıvı halde püskürtülmektedir. Sıvı misel kullanılması hem tohumluk misel maliyetlerini düşürmekte, hem de daha hızlı bir misel gelişimi sağladığından elektrik tasarrufu sağlamaktadır. Ayrıca sıvı misel ile ekim daha seri bir şekilde yapılabilmektedir. Ülkemizde kullanılan tohumluk miselin %90'ı ithal edilmektedir. Bu teknolojinin ülkemizde geliştirilmesiyle döviz kaybımız da düşecektir.



Şekil 6. Sıvı misel teknolojisi



a



b

Şekil 7. Şişe ekim makinesi (a) ve misel ekimi (b)

Misel Gelişimi

Mantar türlerine göre değişmekle birlikte misel gelişimleri (Şekil 8) 20-25°C arasında yaklaşık 15-30 gün arası sürmektedir [3, 11, 25]. Şekil 9'da Güney Kore'de bir işletmede bulunan kuluçka odasından görünüm de incelendiğinde, kuluçka odasına üretim odasından en az 3-4 kat daha fazla materyal konulduğu tahmin edilebilir. *P.nebrodensis* türünde ise daha uzun bir kuluçka dönemi olmaktadır. Jeoung ve ark. [7]'a göre 80 gündür. Bazı mantar türlerinin kuluçka dönemindeki iklim değeri Çizelge 2'de verilmiştir.



Şekil 8. Şişelerde misel gelişimi

Çizelge 2. Bazı egzotik mantar türlerinin kuluçka dönemindeki iklim değerleri [23]

Tür	Sıcaklık (°C)	Nem	CO ₂	Hava Değişimi
<i>Pleurotus ostreatus</i>	24	%65-75	5000-20000 ppm	Saatte 1 kez
<i>Pleurotus eryngii</i>	24	%65-75	5000-20000 ppm	Saatte 1 kez
<i>Flammulina velutipes</i>	21-24	%70-75	>5000 ppm	Saatte 0-1 kez
<i>Hericium erinaceus</i>	21-24	%70-75	5000-40000 ppm	Saatte 0-1 kez
<i>Ganoderma lucidum</i>	21-27	%70-75	<50000 ppm	Saatte 0-1 kez
<i>Hypsizygus tessulatus</i>	21-24	%90-95	>5000 ppm	Saatte 0-1 kez

Kuluçka süresi sıcaklıkla birlikte değişmektedir. *P.ostreatus* türünde 16°C'de 31 günde, 20°C'de 25 günde, 24°C'de 20 günde, 28°C'de ise 18 günde misel gelişimi tamamlanmaktadır. 28°C'de daha hızlı misel gelişimi olmasına rağmen, verim 20°C ve 24°C'de inkübe edilen şişelerde daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca, inkübasyon odasının içerisindeki hava düzenli olarak sirküle edilmelidir. Böylece ortam sıcaklığının 25°C'nin üzerine çıkması engellenir ve ayrıca kuluçka odasına çok sık şişe konulmasından sakınılmalıdır [3]. Kuluçka odasında şişeler duvara

çok yakına konulmamalı, tavadan 1-2 metre alçakta olmalı ve şişe kasaları arasında havanın sirküle olacağı şekilde boşluklar bırakılarak dizilmelidir.



Şekil 9. Güney Kore'de şişe kültüründe yetiştiricilikte inkübasyon odası

Üst Yaşlı Misel Dokusunun Sıyırılması

Misel gelişimi tamamlayan şişelerin üst kısımdaki miseller daha yaşlı olduğundan, pin ve mantar oluşumunu engellemektedir. Bu nedenle bu üst yaşlı doku, sıyırma makinesiyle (Şekil 10) alınmaktadır [15, 19]. Bazı işletmeler şişeleri sıyırma aşamasında şişelere bir miktar su da vermekte ve böylece şişelerin üst kısmındaki substratın kurummasını önlemektedirler. Sıyırma işleminden sonra şişeler ters çevrilerek sepete yerleştirilmekte ve üretim odasına alınmaktadır. Yarı otomatik sistemlerde şişeleri işçiler ters çevirmekte, tam otomatik sistemlerde ise şişelerin sıyırılması ve ters çevrilmesi (Şekil 11) ve taşıma araçlarına yüklemesi makinelerle yapılmaktadır.



Şekil 10. Üst yaşlı misel dokusu sıyırma makinesi



Şekil 11. Şişelerin primordiyum aşaması öncesi ters çevrilmesi

Primordiyum Oluşumu

Şişelerin sıyırılmasından sonra pin aşamasında mantar türlerine göre iklim değerleri ayarlanmaktadır (Çizelge 3). Mantar tür ve çeşitlerine göre pin oluşum (Şekil 12) süresi değişmektedir. *P.ostreatus* türünde 5-7 günde pin oluşumu sağlanmaktadır [10, 25]. *P.eryngii*'de 10-12 gün sürmektedir. *P.nebrodensis* türünde ise 10 gündür [7]. Bazı türlerde şişelerde oluşan fazla pin taslakları seyreltilmektedir. *P.eryngii* türlerinde her şişede 2 tane en iyi gelişmiş pin taslağı bırakılmakta iken, *P.nebrodensis*'de bir tane pin taslağı bırakılır. Seyreltme işlemi, mantar taslakları yaklaşık 2-3 cm boya eriştiği zaman yapılmaktadır. Bu türlerde pin seyreltmesi yapılmazsa, mantarlar küçük çapta ve boyda gelişmektedir. Bu da mantarın pazar değerini düşürmektedir. *P.ostreatus*, *P.ferula*, *Hericium* sp., *Ganoderma* sp., *Hypsizgus* sp. cins ve türlerinde ise seyreltme işlemi yapılmaktadır.



Şekil 12. *Pleurotus eryngii* türünde primordiyum oluşum safhası

Hasat

Hasat aşamasında mantar türlerine göre, iklim değerleri ayarlanmaktadır (Çizelge 4). İklim

değerleri, mantar kalite ve verimini etkilemektedir. *P.ferulae* mantar türünde şişe kültüründe 1000 ppm CO₂'de 102 g/şişede en yüksek verim elde edilmektedir. CO₂ konsantrasyonu 2000 ppm'e çıktığında verim düşmektedir. Ayrıca yüksek CO₂ pin oluşum süresini 6 günden 9 güne, mantar oluşum süresini ise 11 günden 14 güne çıkarmaktadır. Düşük CO₂'de mantar çapı daha geniş fakat sap uzunluğu kısa, yüksek CO₂'de ise mantar çapı daha dar fakat sap uzunluğu daha uzun olmaktadır [25]. Enoki mantarında hasat aşamasına gelmeden önce yaklaşık olarak mantarlar 2-3 cm boyuna ulaştığında, şişelerin etrafı plastik veya karton mukavva ile çevrilmektedir. Ayrıca, Enoki mantarında yüksek CO₂ ve düşük ışık ile mantarların boyuna uzaması ve şapkalarının küçük olması teşvik edilmektedir [24].

Çizelge 3. Bazı egzotik mantar türlerinin pin aşaması dönemindeki iklim değerleri [23]

Tür	Sıcaklık (°C)	Nem	CO ₂	Hava Değişimi	Işık
<i>Pleurotus ostreatus</i>	10-15	%90-95	<1000 ppm	Saatte 4-8 kez	1000-1500 lux
<i>Pleurotus eryngii</i>	10-15	%90-95	500-1000 ppm	Saatte 4-8 kez	500-1000 lux
<i>Flammulina velutipes</i>	4-10	%90-95	2000-4000 ppm	Saatte 2-4 kez	20-50 lux
<i>Hericium erinaceus</i>	10-15	%90-95	500-700 ppm	Saatte 5-8 kez	500-1000 lux
<i>Ganoderma lucidum</i>	20-25	%90-95	20000-40000 ppm	Saatte 0-1 kez	200-500 lux
<i>Hypsizygus tessulatus</i>	10-15	%90-95	500-1000 ppm	Saatte 4-8 kez	400-600 lux

Çizelge 4. Bazı egzotik mantar türlerinin hasat dönemindeki iklim değerleri [23]

Tür	Sıcaklık (°C)	Nem	CO ₂	Hava Değişimi	Işık
<i>Pleurotus ostreatus</i>	10-21	%85-90	<1000 ppm	Saatte 4-8 kez	1000-1500 lux
<i>Pleurotus eryngii</i>	15-21	%85-90	<2000 ppm	Saatte 4-8 kez	500-1000 lux
<i>Flammulina velutipes</i>	10-16	%90-95	2000-4000 ppm	Saatte 2-4 kez	20-50 lux
<i>Hericium erinaceus</i>	18-24	%90-95	500-1000 ppm	Saatte 5-8 kez	500-1000 lux
<i>Ganoderma lucidum</i>	21-27	%75-85	<2000 ppm	Saatte 1 kez	750-1500 lux
<i>Hypsizygus tessulatus</i>	13-18	%90-95	2000-4000 ppm	Saatte 2-4 kez	400-600 lux

Mantarların hasat süresi, mantar tür ve çeşidine ve iklim değerlerine göre değişmektedir. Choi ve ark. [2], *P.ostreatus* türünde geliştirdikleri Heuktari çeşidinde, 18-19°C sıcaklıklarda pin oluşumunun 4 günde, mantar oluşumunun ise 5 günde oluştuğunu; Suhan-1 ho çeşidinde ise pin ve mantar oluşumunun 4'er günde olduğunu bildirmektedir. 13-16°C

sıcaklıkta ise, Heuktari toplam 14 günde, Suhan-1 ho ise 10 günde hasada gelmektedir.

Hasat; üretim odalarında yapılabildiği gibi, sepetleri konveyör ile paketleme odasına taşınmasıyla da yapılabilir. Paketleme odasına taşıma işlemi hem işçilikten tasarruf sağlanmasına, hem de odaların daha temiz ve hijyenik olmasına imkan sağlamaktadır. Hasat aşaması mantar türlerine göre değişmektedir. Şekil 13'de hasat aşamasına gelmiş *P.eryngii* ve Enoki mantarı görülmektedir.

Verim, mantar tür ve çeşitlerine göre değişmektedir. *P.ostreatus* 'Haeuktari' çeşidinde 900 ml'lik şişelerde ortalama 180 gram verim alınmaktadır [2]. *P.ostreatus*'un Miso çeşidinde ise 850 ml şişelerde 110 g/şişe verim alınmaktadır [10]. Şişe kültürünün en büyük avantajlarının birisi de tek bir hasat yapılmasıdır. Böylece odada mantarlar daha uzun süre kalmadığı için mantar hijyeni daha kolay sağlanmaktadır. Diğer sistemlerde 2. ve 3. flaş aşamasına kadar geçen süre zarfında üretim odalarında mantar hastalık ve zararlı etmenler çoğalmaktadır.



a



b

Şekil 13. Hasat aşamasına gelmiş Güney Kore'de *P.eryngii* (a) ve Çin'de Enoki mantarı (b)

Ayrıca, aynı üretim odasında tek hasat ile yıl boyunca daha fazla ürün döngüsü sağlanabilmektedir. Örneğin *P.ostreatus* türünde kuluçka odası ayrı tutulduğunda, sıyırma işleminden sonra 10-12 günde mantar hasadı yapılabilmektedir. 2-3 günde oda temizliği ve hijyen şartlarını oluşturulması hesaplandığında, bir odadan 15 günde bir hasat yapılabilir. Bu da yılda 24 kez döngü sağlanabilmesi demektir. Diğer konvansiyonel üretimlerdeki döngü sayısının 4-6 kez olduğu düşünüldüğünde, şişe kültüründe elde edilen toplam mantar türünün ne kadar fazla avantajlı olduğu hesaplanabilir.

Verim ve biyolojik etkinlik şişe kültüründe de diğer konvansiyonel yetiştiricilikte olduğu gibi, kullanılan substrata göre de değişmektedir. Won ve ark. [25], *P.ostreatus* türünde kolza tohumu küspesi, soya fasulyesi küspesi, hindistan cevizi küspesi ve kapok küspesi ile yaptıkları çalışmada, en yüksek verimi şişe (850 ml) başına 144.6 gram ve %75.4 biyolojik etkinlik ile kapok tohumu küspesi ile yapılan karışımdan elde etmişlerdir. Bu çalışmada %50 çam talaşı, %30 şeker pancarı küspesi, %20 ise kapok tohumu küspesi kullanılmıştır. Jang ve Lee [6], *P.ostreatus* türünde şişe kültüründe yaptığı çalışmada, distile mısır atığının pamuk çiğidi küspesinin yerine kullanılabileceğini bildirmektedir. %50 talaş, %30 pancar küspesi ve %20 distle mısır atığıyla 900 ml'lik şişelerde şişe başına 171 g verim ve %89.2'lik biyolojik etkinlik sağlamışlardır. Jeoung ve ark. [7], *P.nebrodensis* türünde yaptıkları çalışmada ise %40 kavak talaşı, %20 pamuk çiğidi posası, %20 pamuk çiğidi kabuğu, %15 kepek, %3 mısır unu, %2 kalsiyum karbonat kullandıkları substrat ortamıyla, 1100 ml'lik şişelerde 135 g/şişe ile en yüksek verimi almışlardır. Lee ve ark. [10], *P.ostreatus*'un Miso çeşidinde 850 ml'lik şişelerde yapılan çalışmada; farklı kompost formülasyonlarını denemişlerdir. Bu çalışmada, en yüksek verimi kavak talaşı, pancar küspesi ve kepek (7:1:2)'den oluşan formülasyondan elde etmişlerdir. Bu formülasyonun pH'sı 5.1, C/N oranı ise 28.3'dür.

Verime şişe hacimleri ve kapakların filtreli ve delikli olmaları da etki etmektedir. 850 ml şişede yapılan *P.ostreatus* yetiştiriciliğinde, şişelerdeki CO₂ hacmi misel ekiminden 8-9 gün sonra en yüksek seviyeye çıkmaktadır. CO₂ konsantrasyonu, 29-41 mm çapındaki alt ve üst delikli kapaklarda %6.5-4 iken, alttan delikli kaplarda %9-6.5 arasındadır. Alttan ve üstten 23-33 mm delikli kapaklar ile alttan 29 mm delikli kapaklar mantar verimliliğini sırasıyla %15.8-21.2 ve %20 artırarak en iyi koşullarını sağlamaktadırlar [29]. 1100 ml'lik şişelerde ise; kapak hacmi ve tipi ne olursa olsun, substrat ortamındaki CO₂ konsantrasyonu, misel ekiminden 6-11 gün sonra, en yüksek seviyeye ulaşmaktadır. Üst

ve alttan 19-38 mm çaplı ve alttan 26-47 mm çaplı kapak deliği 1100 ml şişeler için en iyi sonucu vermektedir. Sırasıyla mantar verimini %11.4-23.8 ve %6.5-17.9 artırmaktadır. Alt ve üstten 33 mm çaplı delik, verimi %23.8 düşürmektedir. Ortamın üst kısmı kurduğundan dolayı, biyolojik verimlik de düşmekte ve canlılık zayıf olmaktadır [30].

Şişe kültüründe mantar yetiştiriciliğinde kullanılmış atık substratlar da kullanılabilir. Woo-Sik ve ark. [27] tarafından yapılan çalışmada, atık substratı 5 kez karıştırarak denemiştir. Şişe başına mantar verimi 1, 2, 3, 4 ve 5. kez karıştırılan substratlarda sırasıyla 115 g, 120 g, 117 g, 118 g ve 114 g olarak bulunmuştur. İlk kez karıştırılan substrat ile geri dönüşümlü olarak kullanılan substrat arasında verim bakımından herhangi bir fark bulunmamıştır. %80 kabak talaşı ve %20 ek besleme (%5 şeker pancarı küspesi, %5 pamuk çiğidi kabuğu, %4 pirinç kepeği %5 pirinç küspesi, %1 kireç) 850 ml'lik şişelerde yapılmıştır.

Atık Materyalin Şişelerden Boşaltılması

Hasattan sonraki aşama ise şişelerin boşaltılmasıdır. Şişeler, boşaltma makinesiyle boşaltılmaktadır (Şekil 14). Boşaltılan şişeler, tekrar üretimde kullanılabilir. Şişelerin yaklaşık raf ömrü, 20 yıldır. Bazı işletmeler şişeleri tekrar kullanmadan önce, şişe yıkama makinesiyle yıkamaktadırlar. Ancak, çoğu işletme zaten otoklavda sterilize edildiği için şişe yıkaması yapılmamaktadır. Çok yoğun küf oluşumu ve diğer hastalıklar görüldüğünde ise şişelerin mutlaka yıkanması gerekmektedir.



Şekil 14. Şişe boşaltma makinesi

HASTALIK VE ZARARLARI

Genel olarak şişe kültürü sisteminde tek hasat yapılması, makineli ekim yapılması, hepa filtreli sistemlerin kullanılması hastalık ve zararlı oluşumunu minimize etmektedir. Süstratlardaki bakteriyel ve fungal kontaminasyonlar; kontamine olmuş tohumluk miselden, havadaki sporelerden, kontamine olmuş çevredeki tozlardan, akarlardan,

kontamine olmuş işçilerden kaynaklanmaktadır. Özellikle şişelerin soğutma aşaması sırasında bakteriyel ve fungal hastalık etmenleri şişe kültürü sisteminde de düşük de olsa görülmektedir. Şişe kültüründe en yaygın görülen zararlılar akarlardır. Özellikle *H.marmoreus* türünde, *Tyrophagus putrescentiae*, *Pygmephorus mesembrinae* ve *Tarsonemus* sp. şişe kültüründe en yaygın olan akarlardır [28]. Yine konvansiyonel üretimlerde görülen mantar sineklerini, bu sistemde de gerekli hijyenik önlemler alınmadığında görmek mümkündür.

TÜRKİYE'DE ŞİŞE KÜLTÜRÜ TEKNOLOJİSİ İLE YAPILAN ÇALIŞMALAR

Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü'nde 2016-2018 yılları arasında "Egzotik Mantarlarda Şişe Kültürünün Transferi ve Mantar Mükemmeliyet Merkezi" isimli MARKA Projesi kapsamında şişe kültürü teknolojisinde kullanılan makine ve ekipmanlar Türkiye'ye ilk defa transfer edilmiştir. Bu proje kapsamında İstiridye mantarı, Kulacık veya Kral istiridye, Çaşır mantarı, Aslan yelesi, Reishi, Enoki gibi egzotik mantar türleri yetiştirilmiştir. Şişe kültürü teknolojisi ve şişe kültüründe üretimi yapılan mantar türlerinin yetiştiriciliği eğitimlerle üreticilere, girişimcilere ve gençlere aktarılmıştır [22]. Ayrıca, sıvı misel biyoreaktörleri de bu proje kapsamında yurt dışından getirilmiş ve sıvı misel üretim çalışmalarına başlanmıştır. Bunun yanında fuarlar, eğitimler ve basın yayın yoluyla şişe kültürü teknolojisinin tanıtımları yapılmıştır. Ayrıca, şişe kültürü teknolojisine uygun farklı mantar türlerinde, çeşitli islah çalışmalarına başlanmıştır [21].

TARTIŞMA VE SONUÇ

Şişe kültürü teknolojisi, Japonlar tarafından Uzakdoğu'da geliştirilmiştir. Çin, Japonya ve Güney Kore gibi birçok Uzakdoğu ülkesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu ülkelerde mantar üretimi, şişe kültürü teknolojisi kullanımından sonra katlanarak artmıştır. Son zamanlarda ABD ve bazı AB ülkelerinde şişe kültüründe mantar üretimi yapılmaya başlanmıştır. Türkiye'nin AB ülkelerine coğrafik yakınlığı nedeniyle şişe kültürü sistemi kullanımıyla Kral İstiridye, Çaşır ve Enoki mantarı üretmesi durumunda, AB ülkelerine ihracat yapma şansı Uzakdoğu ülkelerine göre daha yüksek olacaktır.

Şişe kültürü sisteminde verimlilik yüksektir. Kuluçka odası ayrı, üretim odası ayrı dizayn

edildiğinde; şişe kültüründe *P.ostreatus* yetiştiriciliğinde, yaklaşık 15 günde bir hasat döngüsü sağlanabilmektedir. Bu döngü Enoki, *P.eryngii*, Aslan yelesi gibi mantarlarda 20-25 günde birdir. Şişe kültürü teknolojisi ile yılda 15-25 kez üretim döngüsü sağlanabilirken, konvansiyonel sistemlerde 4-5 üretim döngüsü ancak sağlanabilmektedir.

Şişe kültürü teknolojisi diğer endüstrilerdeki kullanılan üretim sistemlerine kolayca adapte olabilmektedir. Şişe kültürünün bir diğer avantajı da sıvı misel kullanımına olanak sağlamasıdır. Böylece bu üretim sisteminde hem tohumluk misel maliyeti düşürülmekte, hem de sıvı misel daha hızlı geliştiği için enerjiden tasarruf edilmektedir. Şişe kültürünün diğer avantajı ise substratda kullanılan ham materyallerin ekonomikliğidir. Şişe kültüründe ağırlıklı olarak talaş kullanılmaktadır. Talaş, diğer hammaddelere göre (pamuk buğday samanı) daha ekonomiktir. Şişe kültürü teknolojisiyle standart ve üniform mantar elde edilebilir [9]. Bu da üretilen mantarların ihracat değerlerini yükseltmektedir. Şişelerin kenar ve dip kısımlarında, torba sistemindeki gibi mantar oluşumu gözlenmemektedir. Şişe kültürü sisteminde, hastalık ve zararlı oluşum riski daha düşüktür.

Şişe kültürü teknolojisiyle birçok mantar türü yetiştirilmesine rağmen, *Agaricus bisporus* [23] ve Shiitake gibi mantar türleri yetiştirilememektedir. Şişe kültürünün dezavantajı ise kurulum maliyetinin yüksek olmasıdır. Ülkemizde yaygın bir üretim sistemi olmadığı için kullanılan makine ve ekipmanların bakım ve onarımında servis imkânı bulunmakta güçlükler çekilebilmektedir. Şişe kültüründe tahıla sarılı tohumluk misel talaş içeren şişelere tamamen karıştırılamamaktadır. Bu yüzden şişelerde bulunan substratın üst kısmına misel ekimi yapılmaktadır. Bu nedenle de misel gelişimini tamamlama süresi daha yavaş olmaktadır. Fakat bu dezavantaj, basınçlı sıvı misel kullanılarak giderilebilmektedir. Üstten misel ekimi hava soğutmanın ekonomik olmadığı tropikal bölgelerde veya yaz aylarında hızlı misel gelişiminden kaynaklanan iç sıcaklık artışına sebep olmamaktadır.

Şişe kültürü teknolojisinin Kırsal kalkınma, IPARD ve Kalkınma Ajansları gibi kurumlar tarafından desteklendiği taktirde ülkemizde gelişecek ve ülkemizin mantar dış pazarında yer alması olasılığı yükselecektir.

KAYNAKLAR

1. Chen, L., Qian, L., Zhang, X., Li, J.Z., Zhang, Z.J., Chen, X.M., 2022. Research progress on indoor

- environment of mushroom factory. *Int. J. Agric. & Biol. Eng.* 15(1):25-32.
2. Choi, J.I., Lee, Y.H., Ha, T.M., Jeon, D.H., Chi, J.H., Shin, P.G., 2015. Characteristics of new mid-high temperature adaptable oyster mushroom variety "Heuktari" for bottle culture. *Journal of Mushrooms ISSN:1738-0294*, 13(1):74-78.
 3. Choi, J.I., Kim, J.H., Lee, Y.H., Gwon, H.M., Shin, B.E.G.O., Ha, T.M., Jung, G.H., 2020. Cause of undeveloped primordium formation according to incubation temperature of new oyster mushroom cultivar "Heuktari", for bottle cultivation. *Journal of Mushrooms (1842.317.322) ISSN:1738-0294*.
 4. Eren, E., Pekşen, A., 2016. Türkiye’de kültür mantarı sektörünün durumu ve geleceğine bakış. *Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknolojisi Dergisi*, 4(3):189-196.
 5. FAOSTAT, 2020. Food and Agriculture Organization of the United Nations of Statically Data, (<http://www.fao.org/faostat/en/#data/qc>).
 6. Jang, M.J., Lee, Y.H., 2014. Effect of nutrient substrates on *Pleurotus ostreatus* in bottle culture, *Journal of Mushroom*. (doi:10.14480/JM.2014.12.4.367) 12(4):367-370.
 7. Jeoung, Y.K., Kim, J.H., Baek, I.S., Lee, Y.S., Kang, Y.J., Chi, J.H., 2018. Effects of substrate composition on the primordia and growth of fruiting body in *Pleurotus nebrodensis* during bottle cultivation. (<https://doi.org/10.14480/JM.2018.16.1.1>) *Journal of Mushroom* 16(1):1-8.
 8. Kim, J.H., Ha, T.M., Ju, Y.C.I., 2005. Selection of substitute medium of cotton seed pomace on the oyster mushroom for bottle cultivation. *Korea Journal of Mushrooms* 3:105-108.
 9. Kong, W.S., Cho, Y.H., Jhune, C.S., Yoo, Y.B., Kim, K.H., 2004. Breeding of *Flammulina velutipes* strains adaptable to elevated-temperature. *Mycobiology* 32(1):11-16.
 10. Lee, B.J., Kim, Y.G., Kim, H.K., Yang, E.S., Lim, Y.P., 2010. Studies on the development of mushroom media for bottle culture in new *Pleurotus ostreatus* 'Miso'. *Journal of Mushroom* 8(1):37-40.
 11. Lee, C.J., H.S. Han, C.S. Jhune, J.C. Cheong, J.A. Oh, W.S. Kong, G.C. Park, C.G. Park, Y.S. Shin, 2011. Development of new substrate using red ginseng marc for bottle culture of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*). (doi:10.14480/JM.2011.9.4.139) *Journal of Mushroom* 9(4):139-144.
 12. Lee, C.J., Lee, E.J., Park, H.S., Kong, W.S., 2019. Growth characteristics of oyster mushroom in bottle cultivation with addition of cottonseed meal. (<https://doi.org/10.14480/JM.2019.17.3.162>) *Journal of Mushroom* 17(3):162-166.
 13. Li, C.T., Tan, Q., Bian, Y.B., Xie, B.G., Liu, Z.Q., Li, Y., 2019. The status and prospection of edible mushroom industry in China. *Journal Fungal Research*, 17(1):1-10. (in Chinese).
 14. Li, H., Shi, L., Tang, W., Xia, W., Zhong, Y., Xu, X., Xie, B., Tao, Y., 2022. Comprehensive genetic analysis of monokaryon and dikaryon populations provides insight into cross-breeding of *Flammulina filiformis*. (2022 Jul 5) *Front Microbiol.* 13:887259. (doi:10.3389/fmicb.2022.887259. PMID:35865932; PMCID:PMC9294462
 15. Oei, 2016. Mushroom cultivation IV, appropriate technology for mushroom growers. *ECO Consult Foundation, Netherlands. ISBN:978-90825129-0-8*.
 16. Oss, O., Oeric, E., 1976. Psilocybin magic mushrooms grower's guide. *Pres, Berkeley, California*.
 17. Rodriguez Estrada, A.E., Pecchia, J., 2017. Cultivation of *Pleurotus ostreatus*. *Edible and Medicinal Mushrooms: Technology and Applications*, pp:339-360.
 18. San Antonio, J.P., 1971. A laboratory method to obtain fruit from cased grain spawns of cultivated mushroom *Agaricus bisporus*. *Mycologia* 63:16-21.
 19. Singh, C.S., Singh, R., Kanujia, R.S., 2006. Bottle culture: a suitable method for oyster mushroom cultivation. (ISSN:0971-782X) *Environmental Biology and Conservation*, 11:25-26.
 20. Soyly, M.K., Kang, M., 2016. Mushroom cultivation in South Korea. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 4(3):225-229.
 21. Soyly, M.K., Baybaş, B., 2019. Yerli ve yabancı bazı *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P.Kumm. izolatlarının şişe kültürü teknolojisinde verim ve kalite performansları. *11. Yemeklik Mantar Kongresi, 9-11 Ekim 2019, Samsun*.
 22. Soyly, M.K., Öztürk, M., Yalçın, M., 2019. Şişe kültüründe egzotik mantar yetiştiriciliğinde şişe kültürü teknolojisinin transferi ve mantar üretimi mükemmeliyet merkezi. *Doğu Marmara Kalkınma Ajansı (MARKA Proje Sonuç Raporu)*.
 23. Stamets, P., 2000. Growing gourmet and medicinal mushrooms third edition. (ISBN:978-1-58008-175-7) *Berkeley: Ten Speed Press, 574p*.
 24. Stamets, P., 2005. Mycelium running: how mushrooms can help save the world. (ISBN:978-1-58-008579-3) *Berkeley: Ten Speed Press, 343p*.
 25. Won, S.Y., Jang, M.J., Ju, Y.C., Lee, Y.B., 2010. Optimum CO₂ concentration for fruit-body formation and yield of *Pleurotus ferulae*

- mushroom in the growing facility for bottle cultivation. (in Korean) *Journal of Bio-Environment Control*, 19(2):77-81.
26. Won, S.Y., Lee, Y.H., Jeon, D.H., Joo, Y.C., Lee, Y.B., 2010. Development of new mushroom substrate using kapok seedcake for bottle culture of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*). (<https://doi.org/10.4489/KJM.2010.38.2.130>) *The Korean Journal of Mycology* 38(2):130-135.
27. Woo-Sik, Jo, J.S. Kim, D.H. Cho, S.D. Park, H.Y. Jung, 2008. Fruit body development of *Pleurotus ostreatus* via bottle cultivation using recycled substrate. ([doi:10.4489/myco.2008.36.3.157](https://doi.org/10.4489/myco.2008.36.3.157)) *Mycobiology* 36(3):157-160.
28. Yamanaka, K., 2017. Cultivation of mushrooms in plastic bottles and small bags. In: *Zied DC, Pardo-Gimenez A (eds) Edible and Medicinal Mushrooms Technology and Applications*.
29. Yoo, Y.J., Shim, K.K., Koo, C.D., Kim, M.K., 2012-a. Studies on the aeration improvement of inner bottle (850 ml) culture system during the mycelial culture of *Pleurotus ostreatus*. (<https://doi.org/10.14480/JM.2012.10.2.057>) *Journal of Mushroom* 10(2):57-62.
30. Yoo, Y.J., Shim, K.K., Koo, C.D., Kim, M.K., 2012-b. Studies on the aeration improvement of inner bottle (1100 ml) culture system during the mycelial culture of *Pleurotus ostreatus*. (<https://doi.org/10.14480/JM.2012.10.2.068>) *Journal of Mushroom* 10(2):68-73.