



## Cultural characteristics of *Rhizopogon roseolus* (Corda) Th. Fr

Perihan GÜLER \*<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Kırıkkale Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 71451 Yahşihan-Kırıkkale, Turkey

### Abstract

In this study, the morphological and anatomical features of *Rhizopogon roseolus* (Corda) Th. Fr. spores and mycelium were examined. The mushroom samples were collected from Kırıkkale-Turkey and brought to the laboratory. Taken tissue fragments were grown on potato dextrose agar (PDA) medium by tissue culture method. They were incubated in 25°C. After 2 days from inoculation mycelium showed mixed growth on the agar medium. Particularly, in the outermost regions of the colony, density increased and pigmentation was observed. It was first observed to develop a slightly yellowish color and then pinkish pigmentation developed at the outermost part of the colony. Colonization occurred in 20 days. The spores and mycelium of *R.roseolus* were examined by both light microscopy and scanning electron microscopy (SEM). The spores of *R. roseolus* are smooth and have dimensions of .5-4x6.5-7 µm. usually oval shape.

**Key words:** *Rhizopogon roseolus*, Turkey mycobiota, Kırıkkale macrofungus, mycelium development

----- \* -----

### *Rhizopogon roseolus* (Corda) Th. Fr.' un kültürel özellikleri

#### Özet

Bu çalışmada *Rhizopogon roseolus* (Corda) Th. Fr.'un spor ve miselyumlarının anatomik ve morfolojik özellikleri çalışıldı. Mantar örnekleri Kırıkkale-Türkiye'den toplandı ve laboratuvara getirildi. Alınan doku örnekleri patates dekstroz agar (PDA) besiyerinde doku kültürü yöntemi ile gelişti. 25°C'de inkübe edildi. Miseller inokulasyondan 2 gün sonra besiyeri üzerinde karışık olarak gelişim gösterdi. Özellikle koloninin en dış bölgesindeki misellerde yoğunluğun arttığı ve pigmentasyon oluşumu gözlemlendi. Misellerde önce hafif sarımsı renkte gelişme olduğu daha sonra koloninin en dışında pembemsi pigmentasyon geliştiği görüldü. Kolonizasyon oluşumu 20 günde tamamlandı *R.roseolus*'un spor ve miselleri hem ışık hem de scanning elektron mikroskop (SEM) ile incelendi. *R.roseolus*'un sporları düz ve boyutları 3.5-4x6.5-7 µm. olup genellikle oval şekillidir.

**Anahtar kelimeler:** *Rhizopogon roseolus*, Türkiye mikobiyotası, Kırıkkale makromantarları, miselyum gelişimi

#### 1. Giriş

*Rhizopogon* cinsi Boletales takımı Rhizopogonaceae familyasına dahildir (Anonim, 2017). *Rhizopogon* türleri Pinaceae familyası ağaçları ile ektomikorhizal birliktelik yapar ve bu şekilde iğne yapraklı ormanların ekolojisinde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (Binder ve Hibbett, 2006). *Rhizopogon* türleri birçok küçük memelilerin (Maser ve Maser, 1988; Izzo ve ark., 2005) ve geyiklerin (Ashkannehhad ve Horton, 2005) diyetinde yaygın olarak yer almaktadır. *Rhizopogon* sporlarının canlılığını sürdürdüğü (Kotter ve Farentinos 1984; Colgan ve Claridge, 2002) ve hatta memeli bağırsağından geçtikten sonra da arttırılabildiği (Colgan ve Claridge, 2002) ve bu nedenle memelilerin *Rhizopogon* için önemli bir dağılım vektörü olduğu bilinmektedir. *Rhizopogon* türleri fide oluşumu sırasında ağaçların kökleri ile koloni oluşturan mantar topluluklarının yaygın üyeleridir (Molina ve ark., 1999; Twieg ve ark., 2007).

*Rhizopogon* cinsinin birçok türü yenilebilir olsa da, çoğu mutfakta yüksek itibara sahip değildir (Trappe ve ark., 2007). Ancak doğu Asya ve özellikle Japonya'da Shoro olarak bilinen *Rhizopogon roseolus* bir istisnadır. Japonya

\* Corresponding author / Haberleşmeden sorumlu yazar: Tel.: +903183574242; Fax.: +903183272461; E-mail: perihanguler71@gmail.com

kültüründe, *Rhizopogon roseolus* lezzeti, farklı tadı, olağanüstü ticari ve kültürel değeri için uzun zamandır aranan yenebilir mantardır (Yun ve ark., 1997; Islam ve Ohga, 2012). *Rhizopogon roseolus* tarım ve bahçecilik alanında zeminin aşılama maddesi olarak kullanılan ektomikorhizal mantardır.

Çam tarlalarında bu mantarın ticari yetiştirme teknikleri geliştirilmiş, Japonya ve Yeni Zelanda'da başarılı sonuçlar uygulanmıştır (Yun ve Hall, 2004). Doğal olarak, *Rhizopogon roseolus* sporlarının çamlardaki diğer ektomikorhizal mantarların sporları ile rekabet edebildiği gösterilmiştir (Karkouri ve ark., 2002).

Ülkemizde birçok yörede doğal olarak yetişmektedir. Örneğin; Karaman (Kaşık ve ark., 2000), Alanya (Öztürk ve ark., 2003), Konya (Kaşık ve Öztürk, 2000; Aktaş ve ark., 2002), Eskişehir (Köstekçi ve ark., 2005), Karabük (Yağız ve ark., 2005), Mersin (Doğan ve ark., 2010), Denizli (Gezer ve ark., 2011; Kaşık ve ark., 2013), Çorum (Alkan ve ark., 2016). Bu çalışmada, morfolojik ve anatomik özellikleri incelenen *Rhizopogon roseolus*'un spor özellikleri, misel yapıları ışık mikroskobu ve scanning elektron mikroskop ile incelenmiştir

## 2. Materyal ve yöntem

### 2.1. Çalışma alanı

Çalışma alanı, Kırıkkale doğuda Çorum, Yozgat; güneyde Kırşehir; batıda Ankara; kuzeyde Çankırı illeri ile komşudur ve Sulakyurt, Bahşılı, Yahşıyan, Kırıkkale-Merkez, Keskin, Balıseyh, Delice, Karakeçili, Çelebi ilçelerini kapsamaktadır (Şekil 1).



Şekil 1. Çalışma alanı

### 2.2. Materyal

Araştırmada kullanılan *Rhizopogon roseolus* örnekleri 17.06.2012 tarihinde Kırıkkale-Balıseyh- Kösedurak Köyü ve 26.04.2012 tarihinde Kırıkkale Karacalı'dan toplandı. Toplanan örnekler PG325 ve PG 555 numaraları ile Kırıkkale Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Koruma Biyolojisi, Mikoloji, Moleküler Genetik Laboratuvarında saklanmaktadır.

### 2.3. Morfolojik Çalışmalar

*Rhizopogon roseolus*'un fruktifikasyonlarından alınan doku parçaları patates dekstroz agar (PDA) besiyerine inoküle edilerek 25°C'de inkübe edildi (Islam ve Ohga, 2013).

### 2.4. Anatomik Çalışmalar

*Rhizopogon roseolus* basidiosporları ve katı besiyerinde geliştirilen miseller ışık mikroskobu ve Scanning elektron mikroskobu ile incelendi.

#### 2.4.1. Işık mikroskop incelemeleri

Işık mikroskop çalışmaları Kırıkkale Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesinde bulunan Nico Imager A (100x) ile sürdürüldü. Sporlar incelenirken makrofungusların himenyum tabakasından ince kesitler alınıp, lam üzerine

potasyum hidroksit (%2, %3, %5), % 10 luk amonyum hidroksit ve %5'lik melzer ayırıcı veya Kongo kırmızısı çözeltilerinden oluşan preparatlar hazırlandı.

#### 2.4.2.Scanning elektron mikroskop incelemeleri

Mantar örneklerinin elektron mikroskoptaki incelemeleri Kırıkkale Üniversitesi Elektron Mikroskop laboratuvarında bulunan Scanning Elektron Mikroskop (SEM) (JEOL marka) ile sürdürüldü. SEM çalışmalarına hem spor hem de misel incelemeleri olarak devam edildi.

Araziden toplanan mantar örneklerinden alınan sporlar karbon ile kaplandı ve Polaron Sc 500 marka cihaz ile 10 dakika süre de altın ile kaplandı (Hayat, 1972). Misellerin SEM ile incelemelerinde ise; öncelikle sporlar patates dekstroz agar (PDA) besiyerine inoküle edildi ve primer miseller elde edildi. Elde edilen miseller 26°C'de etüvde kurumaya bırakıldı. Kuruyan miseller karbon ile kaplandı ve Polaron Sc 500 marka cihaz ile 10 dakika süre de altın ile kaplandı (Hayat, 1972).

### 3. Bulgular

#### 3.1.Morfolojik İncelemeler

##### 3.1.1.Karpofor Yapısı

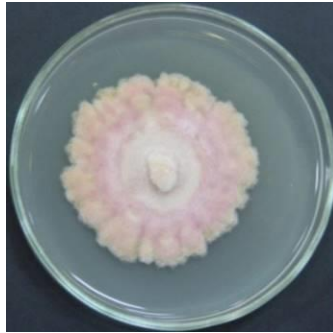
*Rhizopogon roseolus* fruktifikasyonları 3-7 cm genişliğinde, patates görünümlü, sarımsı-yeşil renklidir. Sap yoktur (Şekil 2). Arora (1986) *Rhizopogon roseolus* fruktifikasyonlarının 1-6 cm genişliğinde, oval veya düzensiz, patates benzeri olduğunu, gençken beyaz olgunlaştığında sarımsı-yeşil olduğunu, ve sap bulundurmadığını belirtmiştir.



Şekil 2. *Rhizopogon roseolus* fruktifikasyonu

##### 3.1.2.Petride misel yapısı

*Rhizopogon roseolus*'un fruktifikasyonlarından alınan doku parçaları patates dekstroz agar (PDA) besiyerine inoküle edilerek 25°C'de inkübe edildi. Primer miseller gelişti Primer misellerden alınan 8mm çapındaki miselyal agar diskleri PDA besiyeri merkezine inoküle edildi. Miseller 90mm çapındaki petride; inokulasyondan 2 gün sonra gelişmeye başladı. Oldukça yavaş gelişen miseller karışık şekilde gelişti. Özellikle koloninin en dış bölgesindeki misellerde yoğunluğun arttığı gözlemlendi. Pigmentasyon oluşumu çok belirgin olan misellerde önce hafif sarımsı renkte gelişme gözlemlendi. Daha sonra koloninin en dış pembemsi pigmentasyon gelişti. Kolonizasyon oluşumu 20 günde tamamlandı. Hava hifi oluşturmadı (Şekil 3).



Şekil 3. *Rhizopogon roseolus* misellerinin PDA besiyerindeki gelişimi

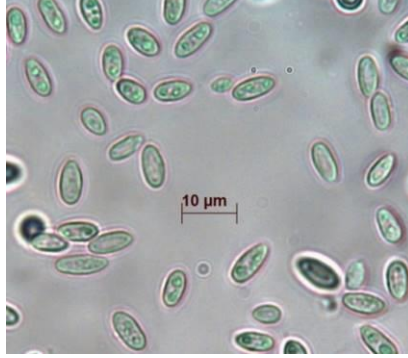
Mleczko (2004) misellerin kalabalık şekilde olduğunu, pigment noktacıklarının olduğunu, nadiren düz olduğunu belirtmiştir.

Islam ve Ohga, (2013). *Rhizopogon roseolus*'un potato dextrose agar (PDA) besiyerinde misel gelişimini incelemişlerdir. Misellerin Petriye inokule edildikten 1 hafta sonra gelişme başladığını ve oldukça yavaş geliştiğini yünüksü şekilde karışık geliştiğini ve hava hifi oluşturmadığını bildirmişlerdir.

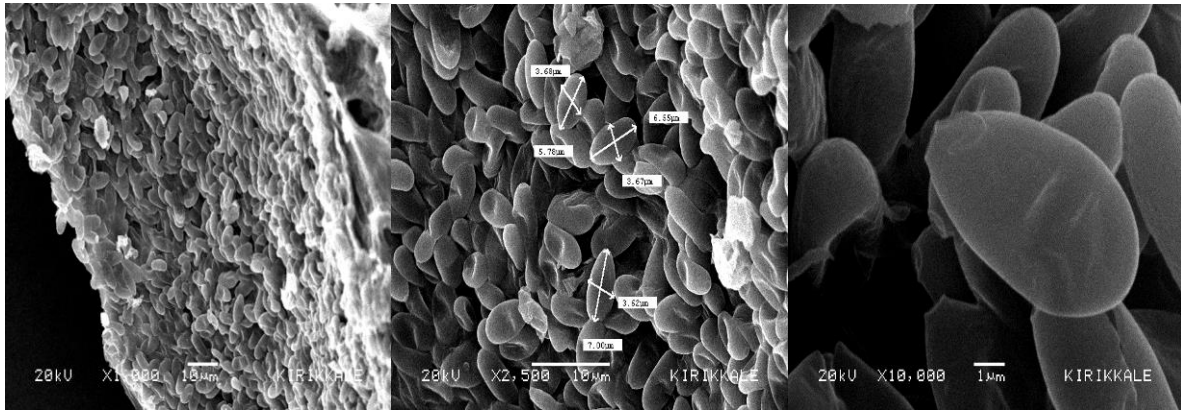
### 3.2. Anatomik Çalışmalar

#### 3.2.1. Spor Yapısı

*Rhizopogon roseolus* sporları ışık mikroskobu (Şekil 4) ve scanning elektron mikroskobunda (Şekil 5) incelenmiştir. Sporlar oval, düz ve 3.5-4x6.5-7 µm boyutlarındadır. Smith ve Zeller (1966) *Rhizopogon roseolus* spor genişliğini 3.5-5 µm olarak bildirmiştir.



Şekil 4. *Rhizopogon roseolus* sporları (100x)



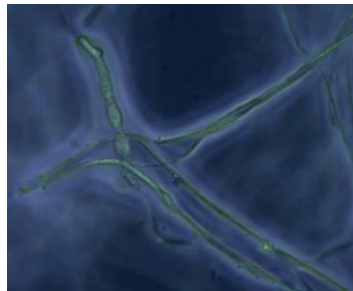
Şekil 5. *Rhizopogon roseolus* sporlarının SEM görüntüleri

Shimomura ve ark., (2008), *Rhizopogon roseolus* sporlarını geçirmeli elektron mikroskobu (TEM) ile incelemişler ve dar-elipsoid şekilli ve düz çeperli, olgun sporların 4 tabakalı olduğunu belirtmişlerdir.

Nakano ve ark., (2016), çam ormanından topladıkları *Rhizopogon roseolus* fruktifikasyonlarını gleba gelişim evrelerine göre üç evreye ayırarak sporlarını geçirmeli elektron mikroskobu (TEM) ile incelemişlerdir. Her aşamada çimlenmenin çok iyi olduğunu ancak bej glebal aşamada maksimuma ulaştığını bildirmişlerdir.

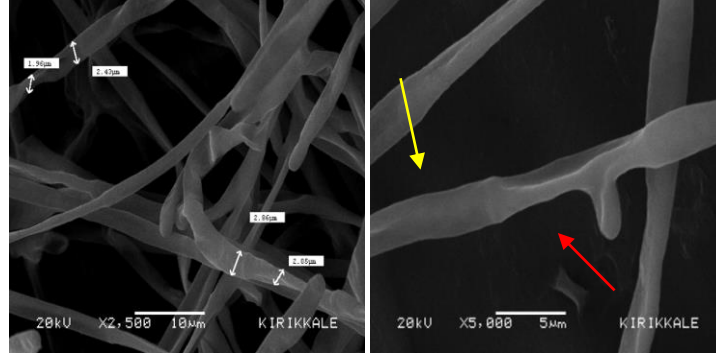
#### 3.2.2. Misel Yapısı

Misel yapısı ışık mikroskobu (Şekil 6) ve scanning elektron mikroskobunda (Şekil 7) incelenmiştir.



Şekil 6. *Rhizopogon roseolus* misellerinin genel görünüşleri (40x)

Misel genişlikleri (2500x) 1.96µm, 2.05 µm, 2.43 µm, 2.86 µm olarak ölçülmüştür. Misellerde septa ve büyüme noktası tespit edilmiştir.



Şekil 7. *Rhizopogon roseolus* misellerinin SEM incelemeleri (Sarı ok= septa, kırmızı ok= büyüme noktası)

Mleczko (2004), *Rhizopogon roseolus* misellerinin rizomorfik, ilk evrelerde beyaz, olgunlaşmaya başladığında pembemsi, kırmızımsı ve en yaşlı halinde kahverengimsi olduğunu belirtmiştir. Çalışmasında, misellerin septalı ve hiflerin küçük yapıları, misel genişliğinin 2-5 µm olduğunu açıklamıştır.

### Teşekkür

Bu çalışma Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından TÜBİTAK 210T083 no'lu proje kapsamında desteklenmiştir.

### Kaynaklar

- Aktaş, S., Öztürk, C., Kaşık, G., Sabahlar, Ş., Doğan, H.H., (2003). Macrofungi Flora of Bozkır District (Konya) Turk J Bot 27, 37-43
- Alkan, S., Kaşık, G., Öztürk, C., Aktaş, S., (2016). Edible Macrofungi of Çorum Province. Turkish Journal of Agriculture. Vol 4, No 3, 131-136
- Anonim, (2017). Index fungorum, <http://www.indexfungorum.org/names/names.asp> (Erişim tarihi, 06.04.2017)
- Arora, D., 1986. Mushroom Demystified. Berkeley, California. ISBN 0-89815-567-8.
- Ashkannehad, S., Horton, T.R.,(2006). Ectomycorrhizal ecology under primary succession on coastal sand dunes: interactions involving *Pinus contorta*, suilloid fungi and deer. New Phytologist. 169 (2): 345–354.
- Binder, M., Hibbett, D.S., (2006). Molecular systematics and biological diversification of Boletales. Mycologia. 98 (6): 971–981.
- Colgan III, W., Claridge, A.W., (2002). Mycorrhizal effectiveness of *Rhizopogon* spores recovered from faecal pellets of small forest-dwelling mammals. Mycological Research. 106 (3): 314–320.
- Doğan, H.H., Küçük, M.A., Akata, I., (2010). A Study on Macrofungal diversity of Bozyazı Province (Mersin), Turkey. GU J Sci 23(4):393-400.
- Gezer, K., Kaygusuz, O., Soylu, U., Ermiş, A., (2011). Macrofungi of Pamukkale University Kınıklı Campus (Denizli/Turkey). Biological Diversity and Conservation, 4/3, 36-43.
- Hayat, M.A., (1972). Basic Electron Microscopy Techniques. Van Nostrand Reinhold Company. Canada.
- Islam, F., Ohga, S., (2012). The response of fruit body formation on in situ condition *Tricholoma matsutake* by applying electric pulse stimulator. ISRN Agronomy, vol. 2012, Article ID 462724, 6 pages, 2012.
- Islam, F., Ohga, S., (2013). Effects of Media Formulation on the Growth and Morphology of Ectomycorrhizae and Their Association with Host Plant. SRN Agronomy, Volume 2013 (2013), Article ID 317903, 12pages.
- Izzo, A.D., Meyer, M., Trappe, J.M., North, M., Bruns, T.D.,(2005). Hypogeous ectomycorrhizal fungal species on roots and in small mammal diet in a mixed conifer forest. Forest Science. 51 (3): 243–254.
- Karkouri, K.E., Martin, F., Mousain, D., (2002). Dominance of the mycorrhizal fungus *Rhizopogon rubescens* in a plantation of *Pinus pinea* seedlings inoculated with *Suillus collinitus*. Annals of Forest Science. 59 (2): 197–204.
- Kaşık, G., Öztürk, C., Doğan, H.H., (2000). Ermenek (Karaman) Yöresinin Makrofungusları. S.Ü.Fen-Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi Araştırma Makalesi Cilt 1, 61-65, Konya.
- Kaşık, G., Öztürk, C., (2000). Hadim ve Taşkent (Konya) Yöresinin Makrofungusları. S.Ü.Fen-Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi Sayı 17, 1-6, Konya.
- Kaşık, G., Öztürk, C., Aktaş, S., Alkan, S., Eroğlu, G., (2013). Kefe Yaylası Yenlen Mantarları. Mantar Dergisi, 4 (2) 19-27.

- Kotter, M., Farentinos, R.C., (1984). Formations of *Ponderosa* pine ectomycorrhizae after inoculation with feces of tassel-eared squirrels. *Mycologia*. 76 (2): 758–760.
- Köstekçi, H., Yamaç, M., Solak, M.H., (2005). Macrofungi of Türkmenbaba Mountain (Eskişehir). *Turk J Bot* 29, 409-416.
- Maser, C., Maser, Z., (1988). Interactions among squirrels, mycorrhizal fungi, and coniferous forests in Oregon. *Western North American Naturalist*. 48 (3): 358–369.
- Mleczko, P., (2004). Mycorrhizal and saprobic macrofungi of two zinc wastes in Southern Poland. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 46: 25–38.
- Molina, R; Trappe, J.M.; Grubisha, L.C.; Spatafora, J.W.,(1999). *Rhizopogon*. In Cairney, JWG; Chambers, SM. *Ectomycorrhizal Fungi Key Genera in Profile*. Heidelberg: Springer Berlin. pp. 12161. doi:10.1007/978-3-662-06827-4-5. ISBN 978-3-642-08490-4.
- Nakano, S., Gao,Q., Aimi,T., Shimomura, N., (2016). *Rhizopogon roseolus* basidiospore germination decreases as the fruiting bodies mature and the spore wall becomes more complex. *Botany*, 2016, 94(4): 311-320, 10.1139/cjb-2015-0198
- Öztürk, C., Kaşık, G., Doğan, H.H., Aktaş, S., (2003). Macrofungi of Alanya District. *Turk J Bot* 27,303-312
- Shimomura, N., Aimi, T., Matsumoto, T., Maekawa, N., Otani, H., (2008). Ultrastructure of developing basidiospores in *Rhizopogon roseolus* (= *R. rubescens*). *Mycoscience*, 49: 35. doi: 10. 1007 / s10267-007-0388-y.
- Smith, A.H., Zeller, S.M., (1966). A preliminary account of the North American species of *Rhizopogon*. *Mem New York Bot Gard* 14:1–178.
- Trappe, M., Evans, I., Trappe, J., (2007). *Field guide to North American Truffles*. Berkeley, CA: Ten Speed Press. pp. 136 p. ISBN 1580088627.
- Twieg, B.D., Durall, D.M., Simard, S.W.,(2007). Ectomycorrhizal fungal succession in mixed temperate forests. *New Phytologist*. 176 (2): 437–447.
- Yağız, D., Afyon, A., Konuk, M., (2005). The Macrofungi of Karabük Province. *Turk J Bot* 29, 345-353.
- Yun, W., Hall, I.R., (2004). Edible ectomycorrhizal mushrooms: challenges and achievements. *Canadian Journal of Botany*. 82 (8): 1063–1073.
- Yun, W., Hall, I.R., Evans, L.A., (1997). Ectomycorrhizal fungi with edible fruiting bodies 1. *Tricholoma matsutake* and related fungi. *Economic Botany*, vol. 51, no. 3, pp. 311–327, 1997.

(Received for publication 08 April 2017; The date of publication 15 August 2017)