
SERİ		CİLT		SAYI		
SERIES		VOLUME		NUMBER		
SÉRIE	A	BAND	52	HEFT	1	2002
SÉRIE		TOME		FASCICULE		

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ

ORMAN FAKÜLTESİ

DERGİSİ

REVIEW OF THE FACULTY OF FORESTRY,
UNIVERSITY OF ISTANBUL

ZEITSCHRIFT DER FORSTLICHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT ISTANBUL

REVUE DE LA FACULTÉ FORESTIÈRE
DE L'UNIVERSITÉ D'ISTANBUL



BELGRAD ORMANINDA KARAÇAM (*Pinus nigra* Arnold.) MEŞCERELERİNİN TOPRAKLARINDAKİ MİKROFUNGUS FLORASI ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR

Doç. Dr. Günay ÇOLAKOĞLU¹⁾

Kısa Özet

Bu çalışmada Belgrad Ormanı'ndaki karaçam (*Pinus nigra* Arnold.) meşceresine ait iki ayrı yerdeki toprak mikrofunguslarının teşhisleri yapılmış, kalitatif olarak değerlendirilmiştir. Toprak örnekleri 1999-2000 yılları arasında ilkbahar, yaz, sonbahar, kış mevsimlerinde alınmıştır.

Araştırma süresince 32 toprak örneğinin "Toprağı Seyreltme Metodu" ile incelenmesi sonucunda 310 izolat elde edilmiştir. Bu izolatların teşhislerinin yapılması sonucunda 9 cins, 4'ü *Zygomycetes* sınıfına (*Mucorales*), 9'u *Deuteromycetes* (*Fungi Imperfecti*) sınıfına (*Moniliales*) ait tür, 1 varyete ve ayrıca 5 ayrı steril mikrofungus teşhis edilmiştir. Steril izolatlar yaygın değildir.

1. GİRİŞ

Toprak mikrofunguslarının bazıları saprofit, bazıları ise diğer bir fungus üzerinde parazit olarak büyümektedirler (fungicolous). Bu mikrofungusların bazıları ise insanlarda allerji ve aspergillosis hastalığına neden olmaktadır. Tıbbi mikrobiyolojide allerjen mikrofungusların ekstraksiyonları, toksisite ve deri testi uygulamaları yapılmaktadır. Bazı toprak mikrofungusları ise endüstriyel mikrobiyolojide enzim ve antibiyotik üretiminde önemli kaynaklardır. Bu çalışmadaki amaç Belgrad Ormanı karaçam meşcerelerindeki toprak mikrofunguslarını teşhis etmek, kalitatif olarak ayrıntılı bir şekilde tanıtmaktır.

¹⁾ Marmara Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi

²⁾ Çalışmam sırasında ilgi ve yardımlarını gördüğüm İ.Ü. Orman Fakültesi Toprak İlimi ve Ekoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. M. Doğan KANTARCI'ya saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

2. MATERYAL VE METOD

Toprak örneklerinin toplandıkları yerler ve bu yerlerdeki hakim ağaç türleri Tablo 1'de görülmektedir. Bu yerler karaçam (*Pinus nigra* Arnold.) ile kaplıdır.

32 toprak örneği Belgrad Ormanı karaçam meşcerelerinden 1999-2000 yıllarının ilkbahar, yaz, sonbahar, kış mevsimlerinde alınmış ekimleri yapılmış ve mikroskopik metotlarla çalışılmıştır. Örnekler Belgrad Ormanı'nın farklı iki yerinden her bir yerden 16'şar adet olmak üzere alınmıştır. Araştırma periyodu içinde bir toprak profili açılmış, yüzey düşey olarak temizlendikten sonra örnek yüzeye paralel olarak 10 cm derinlikten aseptik şartlarda alınmıştır. Getirilen toprak örneği oda sıcaklığında karıştırılarak kurutulmuştur. Toraktan mikrofungus izolasyonunda "Toprağı Seyreltme Metodu" kullanılmıştır (WAKSMAN 1922). Kurutulan toprak örneğinin steril damıtık su ile 1/10'luk süspansiyonu hazırlanmış mekanik çalkalama makinasında 30 dakika çalkalanmıştır (ÖNER 1973). Elde edilen süspansiyonun steril damıtık su ile 1/100, 1/1000, 1/10000'lik süspansiyonları hazırlanmıştır. Süspansiyon serilerinden kullanmaya en uygun olanı 1/1000 ve 1/10000 olup (WARCUP 1960), çalışmamızda 1/10000'lik süspansiyon tercih edilmiştir. Süspansiyon örneğinden organik madde ve toprak zerreleri dibe çökmeden (PHARA/KOMMEDAHL 1954) hazırlanmış Pepton Dekstroz Agar (MARTIN 1950) besiyeri üzerine steril bir pipetle 1 ml ekim yapılmıştır (BURGES 1967). Besiyerine bakteri ve Actinomycetes'lerin üremelerini önlemek amacı ile 30 mg/l streptomycin ve koloni büyüklüklerini sınırlandırmak için 30 mg/l rose bengal ilave edilmiştir (MARTIN 1950). Yedi gün inkübasyon periyodu sonucunda oluşan mikrofungus kolonileri izole edilerek Malt Ekstrakt Agar ve Czapek Dox Agar (SMITH 1971) besiyerlerine ekilmişlerdir. 25°C'de 7-10 gün inkübasyon periyodu sonucunda, preparat ortamı pikrik asitle boyanmış laktofenol çözeltisi (SMITH 1971) kullanılarak mikrofungusların identifikasyonları yapılmıştır. Preparatlar hazırlanırken extraminces lameller kullanılmış ve teşhisler literatürlere uygun olarak yapılmıştır (THOM/RAPER 1945, RAPER ve ark. 1949, GILMAN 1957, RAPER/FENNEL 1965, RIFAI 1969, ZYCHA/SIEPMANN 1969, BOOTH 1971, ELLIS 1971).

Tablo 1: Toprak Örneklerinin Toplandıkları Yerler ve Hakim Ağaç Türleri
Table 1: Sampling Locations of Soils and Dominant Tree Species

Örneklerin Toplandığı Yerler Sampling Locations	Bakı Exposure	Hakim Ağaçlar Dominant Trees
Karaçam Meşceresi (Bentler) <i>Pinus nigra</i> Arnold. Stand (Barrages)	Doğu East	<i>Pinus nigra</i> Arnold.
Karaçam Meşceresi (Atatürk Arboretumu'nun yanı) <i>Pinus nigra</i> Arnold. Stand (Near Atatürk Arboretum)	Kuzey North	<i>Pinus nigra</i> Arnold.

3. BULGULAR

Bu çalışmada Belgrad Ormanı karaçam meşceresi topraklarının mikrofungus florası tespit edilmiş, kalitatif olarak değerlendirilmiştir. 1999-2000 yılları ilkbahar, yaz, sonbahar, kış mevsimlerinde alınan 32 toprak örneğinin "Toprağı Seyreltme Metodu" ile incelenmesi sonucunda 310 izolat elde edilmiştir. Bu izolatların teşhislerinin yapılması sonucu 9 cinse ait (Tablo

2), 13 tür, 1 varyete ve ayrıca 5 ayrı steril mikrofungus elde edilmiştir. Bunlardan 4 tanesi *Zygomycetes* sınıfına (*Mucorales*), 10 tanesi *Deuteromycetes* (*Fungi Imperfecti*) sınıfına (*Moniliales*) aittir (Tablo 3). İzole edilen mikrofungusların mevsimlere göre dağılışı Tablo 3'de görülmektedir. Steril izolatlar yaygın değildir.

Araştırma alanı topraklarında tür sayısı bakımından en zengin cins *Penicillium* (2 tür, 1 varyete)'dur. En yaygın türler ise *Mucor jansseni*, *Rhizopus nigricans*, *Penicillium chrysogenum* ve *Trichoderma viride*'dir (Tablo 3).

4. SONUÇ

Belgrad Ormanı topraklarından izole edilen fungusların bazıları Çolakoğlu (1990)'na göre ağaç kabukları üzerinde (*Mucor hiemalis*, *Absidia spinosa* ve *Penicillium verrucosum* Dierckx var. *verrucosum*) bulunmuştur.

İzole edilen türler (*Mucor jansseni*, *Mucor hiemalis*, *Absidia spinosa*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus candidus*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium expansum* ve *Trichoderma viride*) literatürle uyum sağlamaktadırlar (HASENEKOĞLU 1980).

Teşhis edilen mikrofungusların bazıları saprofit bazıları ise diğer bir fungus üzerinde parazit olarak büyümektedirler (fungicolous) (*Trichoderma viride*). Topraktaki bu mikrofungusların bazıları ise insanlarda allerji (*Penicillium chrysogenum* ve *Penicillium expansum*) (INSTITUTE PASTEUR 1976) ve aspergillosis hastalığına neden olmaktadır (*Aspergillus fumigatus*) (UNAT 1997). Tıbbi mikrobiyolojide allerjen mikrofungusların ekstraksiyonları yapılmaktadır.

Endüstriyel mikrobiyolojide Pekin'e göre (ÇETİN 1983) glikoz oksidaz enzimi elde etmek için *Penicillium chrysogenum*, selülaz enzimi elde etmek için *Trichoderma viride* önemli kaynaklardır. *Penicillium chrysogenum*'dan penisilin antibiyotiği de elde edilmektedir (ÖNER 1996).

Sonuç olarak, Belgrad Ormanı'nda dikimle geliştirilmiş karaçam meşceresi altındaki mikrofungus türlerinin teşhisleri yapılmış, kalitatif olarak değerlendirilmiştir.

Table 2: Karaçam Meşçeresinin Topraklarından İzole Edilen Cinsler ve Bunların Toplandığı Yerler

Table 2: Isolated Genera from Soils of *Pinus nigra* Arnold. Stand and Sampling Locations

Mikrofunguslar Microfungi	Örneklerin Toplandığı Yerler Sampling Locations	
ZYGOMYTECES SINIFI CLASS: ZYGOMYCETES MUCORALES TAKIMI ORDER: MUCORALES	1	2
<i>Mucor</i> Mich. ex Fr.	+	+
<i>Rhizopus</i> Ehrenberg	+	+
<i>Absidia</i> van Tieghem	+	-
DEUTEROMYCETES SINIFI FORM CLASS: DEUTEROMYCETES MONILIALES TAKIMI FORM ORDER: MONILIALES		
<i>Aspergillus</i> Link	+	+
<i>Penicillium</i> Link	+	+
<i>Trichoderma</i> Pers. ex Fr.	+	+
<i>Stemphylium</i> Wallr.	+	+
<i>Stachybotrys</i> Corda	+	-
<i>Fusarium</i> Link ex Fr.	+	+
Örneklerin sayısı: 32 No. of samples : 32	16	16
Cinslerin sayısı : 9 No. of genera : 9	9	7

Örneklerin Toplandığı Yerler: 1. Karaçam meşçeresi (Bentler)

Notes for Locations : 1. *Pinus nigra* Arnold. Stand (Barrages)

2. Karaçam meşçeresi (Atatürk Arboretumu'nun yanı)

2. *Pinus nigra* Arnold. Stand (Near Atatürk Arboretum)

Tablo 3 : Karaçam Meşçeresinin Topraklarından İzole Edilen Türler ve Mevsimlere Göre Dağılışı
Table 3 : Isolated Species from Soils of *Pinus nigra* Arnold. Stand and Their Distribution According to Seasons

Mikrofunguslar Microfungi	Yıl 1999 Year 1999				Yıl 2000 Year 2000			
	İlkbahar Spring	Yaz Summer	Sonbahar Autumn	Kış Winter	İlkbahar Spring	Yaz Summer	Sonbahar Autumn	Kış Winter
ZYGOMETES SINIFI FORM CLASS : ZYGOMYCETES MUCORALES TAKIMI FORM ORDER: MUCORALES								
<i>Mucor jansseni</i> Lendner	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Mucor hiemalis</i> Wehmer	+	+	-	+	+	+	-	+
<i>Rhizopus nigricans</i> Ehrenberg	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Absidia spinosa</i> Lendner	+	-	+	+	+	-	+	+
DEUTEROMYCETES SINIFI CLASS: DEUTEROMYCETES MONILIALES TAKIMI ORDER: MONILIALES								
<i>Aspergillus fumigatus</i> Fresenius	-	-	+	+	-	-	+	+
<i>Aspergillus candidus</i> Link	+	-	+	+	+	+	+	+
<i>Penicillium chrysogenum</i> Thom	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Penicillium expansum</i> (Link) Thom	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>Penicillium verrucosum</i> Dierckx var. <i>verrucosum</i>	+	-	+	+	+	+	+	+
<i>Trichoderma viride</i> Pers. ex Fr.	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Trichoderma</i> sp.	+	+	-	-	+	+	+	-
<i>Stemphylium macrosporoideum</i> (Ber. and Bro.) Sac.	+	+	+	-	+	+	+	-

INVESTIGATIONS ON THE MICROFUNGUS FLORA IN THE SOILS OF *Pinus nigra* Arnold. STANDS IN BELGRAD FOREST

Doç. Dr. Günay ÇOLAKOĞLU

Abstract

In this study, the soil microfungi in the soil samples taken from two different locations of the Belgrad Forest were determined and studied qualitatively. The soil samples were taken from the soils of *Pinus nigra* Arnold. stands during spring, summer, autumn and winter seasons of 1999-2000 years.

32 soil samples were examined by using "Soil Dilution Plate Method" and 310 isolates of fungi were obtained. 9 genera, 13 species, a variety, and 5 sterile microfungi were identified from these isolates. The sterile isolates were not common.

1. INTRODUCTION

Some of soil microfungi are saprophyte and fungicolous. Some of these microfungi are known to cause allergy and aspergillosis. Allergenic microfungi are important sources for extract productions in medical microbiology. Some of the microfungi are also important sources for enzyme and antibiotic productions in industrial microbiology.

2. MATERIALS AND METHODS

Sampling locations of soils and dominant tree species were shown in Table 1. These locations were covered with *Pinus nigra* Arnold. stands.

32 soil samples, taken from *Pinus nigra* Arnold. stands of Belgrad Forest in consecutive spring, summer, autumn and winter seasons during 1999-2000 years, were examined by cultivation and microscopic methods. The samples were collected from two different locations of

the Belgrad Forest, and 16 samples were taken from each location. In the research period, a soil pit in Belgrad Forest was dug and the surface was cleaned up vertically. The samples were taken from a depth of 10 cm in aseptic conditions. Afterwards, they were mixed and left to dry in room temperature. In the process of isolating microfungi from the soil sample "Soil Dilution Plate Method" was employed (WAKSMAN 1922). Some sterile distilled water was added into the dried samples to form a 1/10 suspension. The suspensions were mixed for 30 minutes in a mechanical mixer (ÖNER 1973). Additionally, other suspensions were prepared at the ratios of 1/100, 1/1000, and 1/10000. Among these, the most appropriate suspensions for the study were those prepared at the ratios of 1/1000 and 1/10000. The suspension prepared at 1/10000 ratio was preferred in this study (WARCUP 1960). Before the deposition of organic matters and soil particles (PHARA/KOMMEDAHL 1954), 1 ml of the latter suspension was cultivated into medium of Peptone Dextrose Agar (MARTIN 1950) with a sterile pipette (BURGES 1967). To prevent bacteria and *Actinomycetes* production, 30 mg/l streptomycin was added into the medium along with the same amount of rose bengal to limit the size of colonies (MARTIN 1950). Microfungi were isolated on the Peptone Dextrose Agar after an incubation period of 7 days at 25°C, and cultivated into the Malt Extract Agar and Czapek Dox Agar media (SMITH 1971). Following another 7-10 days of incubation period at 25°C, the preparations were dyed with picric acid and identified by means of lactophenol solution (SMITH 1971). In the preparations, extra-minces lamellas were used and the identifications were carried out according to literatures.

3. RESULTS

In this study, the soil microfungi in the soils of *Pinus nigra* Arnold. stands in Belgrad Forest were studied qualitatively. During two years of the study, 32 soil samples were examined by using "Soil Dilution Plate Method", and 310 isolates of fungi were obtained. By identification of these isolates, 9 genera (Table 2), 4 species in the *Zygomycetes* class (*Mucorales*), 9 species, a variety in the form class *Deuteromycetes* (*Fungi Imperfecti*) (*Moniliales*); totally 13 species, a variety, and 5 different sterile microfungi were determined (Table 3). The sterile isolates were not common.

In the soils, *Penicillium* (2 species, a variety) was the most populated genus. *Mucor jansseni*, *Rhizopus nigricans*, *Penicillium chrysogenum*, and *Trichoderma viride* were the most frequent species found (Table 3).

4. CONCLUSIONS

Some of the microfungi isolated from soils of Belgrad Forest (*Mucor hiemalis*, *Absidia spinosa*, and *Penicillium verrucosum* Dierckx var. *verrucosum*) have close affinity to tree barks as found in an earlier study by the author (ÇOLAKOĞLU 1990).

The isolated species (*Mucor jansseni*, *Mucor hiemalis*, *Absidia spinosa*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus candidus*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium expansum* and *Trichoderma viride*) were in accord with related literature (HASENEKOĞLU 1980).

Some of soil microfungi are saprophyte and fungicolous (e.g. *Trichoderma viride*). These microfungi, some of which are found in soil and known to cause allergy (*Penicillium chrysogenum* and *Penicillium expansum*) (INSTITUTE PASTEUR 1976), and aspergillosis (*Aspergillus fumigatus*) (UNAT 1997). Allergenic microfungi are important sources for extracts productions in medical microbiology.

According to Pekin (ÇETİN 1983), *Penicillium chrysogenum* (glucose oxidase enzyme), *Trichoderma viride* (cellulase enzyme); and *Penicillium chrysogenum* (penicillin for antibiotics) (ÖNER 1996) are valuable sources enzymes and antibiotic productions in industrial microbiology.

KAYNAKLAR

BOOTH, C., 1971: The Genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Inst., Kew, Surrey, England.

BURGES, A., 1967: Microorganisms in the Soil .Hutch and Co. Ltd. pp.45-82.

ÇETİN, E.T., 1983: Endüstriyel Mikrobiyoloji. "B. Pekin: Enzimler." Birinci Baskı. İst. Tıp Fak. Yayın No.2, İstanbul s.149.

ÇOLAKOĞLU, G., 1990: Belgrad Ormanındaki Kesilmiş Canlı Ağaçların Kabuklarından İzole Edilen Küf Mantarları Üzerine Araştırmalar. İ.Ü. Orman Fak. Dergisi Seri A, 40(1):132-155.

ELLIS, M.B., 1971: Dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycol. Inst., Kew, Surrey, England.

GILMAN, J.C., 1957: A Manual of Soil Fungi. 2nd ed. Iowa State Coll. Press, Ames U.S.A.

HASENEKOĞLU, İ., 1980: Sarıkamış Civarı Orman, Çayır ve Tarla Topraklarının Mikrofungus Florası. Doktora Tezi. Atatürk Üniv. Temel Bilimler ve Yabancı Diller Yüksek Okulu, Botanik Bölümü, Erzurum.

INSTITUTE PASTEUR., 1976: Allergie. Paris

MARTIN, J.P., 1950: Use of Acid, Rose Bengal and Sterptomycin in the Plate Method for Estimating Soil Fungi. Soil Sci. 69:215-233.

ÖNER, M., 1973: Atatürk Üniversitesi Erzurum Çiftliği, Eğerli Dağı Kuzey Yamacı ve Trabzon-Hopa Sahil Şeridi Mikrofungus Florası İle İlgili Bir Araştırma. Atatürk Üniv. Yayınları Sevinç Matbaası Ankara. Atatürk Üniv. Yayın No.158, Fen-Edebiyat Fak. Yayınları No.21, Araştırma Serisi No.17,1-71.

ÖNER, M., 1996: Genel Mikrobiyoloji. Üçüncü Baskı, Ege Üniv. Fen Fak. Kitaplar Serisi No.94, İzmir s.59.

PHARA, K.D.; KOMMEDAHL, T.A., 1954: A Modified Plating Technique for the Study of Soil Fungi. Phytopath. 44:502.

RAPER, K.B.; THOM,C.; FENNEL, D.I., 1949: A Manual of the *Penicillia*. The Williams and Wilkins Comp. Baltimore, U.S.A. pp.3-875.

- RAPER, K.B.; FENNEL, D.I., 1965: The Genus *Aspergillus*. The Williams and Wilkins Comp. Baltimore, U.S.A. pp.129-686.
- RIFAI, M.A., 1969: A Revision of the Genus *Trichoderma*. Mycological Papers. Commonwealth Mycol. Inst. No.116.
- SMITH, G., 1971: An Introduction to Industrial Mycology. Edward Arnold Ltd. London, pp. 219-291.
- THOM, C.; RAPER, K.B., 1945: A Manual of the *Aspergilli*. The Williams and Wilkins Comp. Baltimore, U.S.A. pp.81-286.
- UNAT, E.K., 1997: Temel Mikrobiyoloji. Üçüncü Baskı, Üniv. Yayın No.4018, Cerrahpaşa Tıp Fak. Yayın No.207, İstanbul s.60.
- WAKSMAN, S.A., 1922: A Method of Counting the Number of Fungi in the Soil. J. Bacteriol. 7(3):339-341.
- WARCUP, J.H., 1960: Method for Isolation and Estimation of Activity of Fungi In Soil. The Ecology of Soil An International Symposium. Liverpool Univ. Press. 3-21.
- ZYCHA, H; SIEPMANN, R., 1969: *Mucorales*. Eine Beschreibung Aller Gattungen und Arten Dieser Pilzgruppe, Mit Einem Beitrag Zur Gattung Mortierella Von G.Linnemann. Verlag Von J. Cramer, Lehre, s.1-109.