

Isolasi dan Identifikasi Kapang Saprofitik pada Sampel Tanah di Sekitar Kawasan Gunung Gamalama, Ternate

Muhammad Ilyas

*Pusat Penelitian Biologi
Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Bogor*

Abstract

Microorganisms, such as mould and bacteria, have important roles in organic matter decomposition; and this process is fundamental to maintain soil structure and fertility. Moulds have hypha with filament structures that can penetrate to the substrates. Their enzymatic capability is higher than that of bacteria, especially in decomposing organic compounds like lignin and cellulose. The objective of the study was to isolate and identify saprophytic mould inhabiting soil of Mount Gamalama, Ternate, North Moluccas. The mould isolation was based on sample dilution method with Rose Bengal Chloramphenicol Agar isolation media. The abundance of saprophytic mould counted by measuring the average Colony Forming Unit (CFU)/ml of all mould colonies which grown on isolated media by Total Plate Count (TPC) method. The diversity of isolated mould was identified based on phenotypic characters by observing both macroscopic and microscopic morphology. The result showed that the average of mould colonies were between $13,30 \times 10^4$ and $78,15 \times 10^4$ CFU/ml. Identification based on morphology from selected mould isolates showed that 25 fungal taxa and two groups of unidentified fungal isolates were identified.

Key words: isolation, identification, mould, soil samples, Mount Gamalama

Pendahuluan

Kapang tanah memiliki peran yang sangat penting pada proses dekomposisi senyawa organik dalam hutan dan habitat terestrial lainnya. Peran penting kapang dalam daur karbon dan proses penguraian serasah dan bahan organik dalam tanah telah banyak dikaji sebelumnya (Cromack dan Caldwell, 1992; Bills dan Polishook, 1994; Lodge, 1997). Sebagai organisme pengurai kapang memiliki keterlibatan dalam transformasi nutrisi dalam tanah. Kapang saprofitik yang digolongkan sebagai kapang pelapuk putih (*white-rot fungi*) dan coklat (*brown-rot fungi*) merupakan mikroba pengurai yang potensial karena mampu menghasilkan sejumlah metabolit untuk mengurai bahan organik dan persenyawaan karbon terutama lignoselulosa (Munir *et al.*, 2002; Lynd *et al.*, 2002). Proses penguraian persenyawaan karbon oleh kapang saprofitik diantaranya dengan cara menghasilkan persenyawaan oksalat untuk menarik kalsium pada dinding sel, memutus ikatan hemiselulosa, dan depolarisasi selulosa (Green *et al.*, 1991; Dutton dan Evans, 1996). Keberlangsungan proses penguraian bahan organik oleh kapang saprofitik sangat menentukan keseimbangan daur materi dalam tanah dan lebih lanjut akan menentukan tingkat kesuburan dan kualitas tanah.

Pulau Ternate adalah wilayah kepulauan yang terletak di pesisir barat Pulau Halmahera, Provinsi Maluku Utara. Pulau Ternate memiliki luas daratan 133, 74 km², terletak pada koordinat 0°50` - 2°10` LU dan 126°20` - 128°05` BB. Topografi Pulau Ternate sebagian besar bergunung dan berbukit dengan tipe tanah regosol dan rendzina. Di Pulau Ternate terdapat dua gunung vulkanik, yaitu Gunung Gamalama dan Gunung Tuanane. Gunung Gamalama memiliki bentuk *stratovolcano* dengan puncaknya yang berketinggian 1.715 m dpl. Gunung Gamalama memiliki hutan montana (*montane forest*) pada kisaran ketinggian 1200--1500 m dpl dan hutan *ericaceous* pada ketinggian di atas 1500 m dpl (Anonim, 2009).

Sebagai daerah penghasil rempah-rempah, sebagian kawasan Pulau Ternate mengalami konversi tanah dari hutan menjadi kawasan perkebunan. Konversi tersebut

akan mempengaruhi kondisi edafik dan kualitas tanah. Kualitas sampel tanah dapat dianalisis melalui uji kimiawi dan uji biologis. Uji biologis kualitas tanah dapat dilakukan dengan mengisolasi dan mengidentifikasi mikroba guna mengetahui kelimpahan dan keragaman mikroba yang terdapat di dalamnya. Penelitian ini dilakukan berkaitan dengan uji biologis sampel tanah yaitu untuk mengisolasi dan mengidentifikasi kapang saprofitik pada sampel tanah di kawasan sekitar Gunung Gamalama, Ternate, Maluku Utara.

Materi dan Metode

Pengambilan sampel tanah dilakukan secara acak pada beberapa titik sampling di sekitar kawasan Gunung Gamalama, Ternate pada berbagai tingkat ketinggian tempat (Tabel 1). Sampel tanah diambil sebanyak $\pm 0,5$ kg dengan menggali tanah pada kedalaman 0--15 cm dan diukur derajat keasamannya dengan menggunakan *soil tester*. Tanah kemudian dimasukkan dalam kantong plastik hitam (*polybag*) berukuran 1 kg dan dikumpulkan dalam *box* khusus untuk dianalisis di laboratorium.

Tabel 1. Deskripsi sampel tanah pada berbagai tingkat ketinggian tempat di sekitar kawasan Gunung Gamalama, Ternate, Maluku Utara

Table 1. Description of sampling sites in Mount Gamalama, Ternate, North Moluccas

No	Lokasi sampling	Posisi GPS	Ketinggian tempat (m dpl)	pH tanah	Deskripsi sampel
1	MG 500	000.47.001 N 127.21.325 E	514	6,5	Tanah perkebunan pala (<i>Myristica fragans</i>)
2	MG 750	000.47.252 N 127.21.118 E	742	6,9	Tanah perkebunan cengkeh (<i>Syzygium aromaticum</i>)
3	MG 1000	000.47.764 N 127.20.749 E	1000	6,9	Tanah hutan heterogen
4	MG 1250	000.47.705 N 127.20.864 E	1253	6,0	Tanah dengan vegetasi pandan (Pandanaceae)
5	MG 1500	000.47.881 N 127.20.686 E	1463	6,9	Tanah hutan heterogen

Isolasi kapang dilakukan dengan menggunakan metode pengenceran sampel (Ando *et al.*, 2003; Ilyas *et al.*, 2006). Teknik pengisolasian kapang yang terdapat pada ampel tanah dilakukan dengan tahapan kerja sebagai berikut; 10 g sampel tanah ditimbang dan dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer berisi 90 ml akuades steril (pengenceran 10^{-1}), kemudian dihomogenkan dengan vorteks (sediaan I). Sebanyak 1 ml sediaan I dimasukkan ke dalam 9 ml akuades steril (pengenceran 10^{-2}), lalu divorteks sampai homogen (sediaan II). Selanjutnya dengan langkah yang sama dilakukan pula proses pengenceran berikutnya sampai diperoleh pengenceran sampel 10^{-3} (sediaan III). Sebanyak 200 μ l sediaan II dan III dituang pada cawan petri berdiameter 9 cm berisi media *Rose Bengal Chloramphenicol Agar*, lalu disebar dengan menggunakan *spatula drygalskii*. Masing-masing perlakuan tersebut dibuat sebanyak tiga ulangan. Biakan diinkubasi pada suhu ruang selama 3--7 hari. Koloni kapang yang tumbuh dihitung rerata koloninya (CFU)/ml. Data rerata kerapatan koloni selanjutnya dianalisis regresi dengan menggunakan program SPSS 13 untuk mengetahui korelasi antara ketinggian lokasi sampling dengan rerata kerapatan koloni kapang.

Koloni kapang yang tumbuh selama proses isolasi, dimurnikan dengan propagasi koloni yaitu memotong dan mentransfer secara aseptik sebagian miselium kapang ke dalam media kultur baru (Alexopoulos *et al.*, 1996). Isolat-isolat kapang yang tumbuh

pada media isolasi *Rose Bengal* dipilih dan ditransfer ke dalam cawan Petri berdiameter 6 cm berisi media PDA. Koloni selanjutnya diinkubasi dalam inkubator pada suhu 27° C selama 3--7 hari sampai bersporulasi. Isolat kapang yang telah murni kemudian diamati secara makroskopis dan mikroskopis untuk proses identifikasi. Koloni yang telah murni dan tumbuh dengan baik selanjutnya dipilih dan ditanam kembali dalam tabung reaksi berisi agar miring (*slant*) (PDA) sebanyak dua kali ulangan.

Kapang yang telah diisolasi dan dimurnikan kemudian diidentifikasi. Identifikasi kapang dilakukan berdasarkan ciri dan karakter fenotipik. Identifikasi fenotipik berupa ciri dan karakter morfologi berdasarkan panduan Ellis (1971), Domsch *et al.* (1980), Webster (1980), Samson *et al.* (1995), Barnett dan Hunter (1998), dan Gandjar *et al.* (1999). Identifikasi ciri dan karakter morfologi dilakukan baik secara makroskopis maupun secara mikroskopis. Secara makroskopis karakter yang diamati meliputi; warna dan permukaan koloni (granular, seperti tepung, menggunung, dan licin), tekstur, zonasi, daerah tumbuh, garis-garis radial dan konsentris, warna balik koloni (*reverse color*), dan tetes eksudat (*exudate drops*). Pengamatan secara mikroskopis diantaranya meliputi; keberadaan septa pada hifa, pigmentasi hifa, ada tidaknya *clamp connection* pada hifa, bentuk dan ornamentasi spora (vegetatif dan generatif), bentuk dan ornamentasi tangkai spora, dan lainnya.

Hasil dan Pembahasan

Hasil penghitungan rerata jumlah koloni kapang dari sampel tanah Gunung Gamalama berkisar antara $13,30 \times 10^4$ dan $78,15 \times 10^4$ koloni/ml. Rerata kerapatan koloni kapang tertinggi dicapai oleh sampel tanah MG 500 yang diambil pada ketinggian 514 m dpl sedangkan kerapatan terendah didapat pada sampel MG 1000 (1000 m dpl). Data rerata koloni kapang pada setiap lokasi pengambilan sampel disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Rerata koloni kapang (CFU/ml) pada sampel tanah sekitar kawasan Gunung Gamalama, Ternate, Maluku Utara

Table 2. The mean of fungal colonies (CFU/ml) from soil sample of Mount Gamalama, Ternate, North Moluccas

No.	Lokasi pengambilan <i>sample</i>	Ketinggian tempat (m dpl)	Rerata kerapatan koloni kapang (CFU/ mL)
1	MG 500	514	$78,15 \times 10^4$
2	MG 750	742	$15,78 \times 10^4$
3	MG 1000	1000	$13,30 \times 10^4$
4	MG 1250	1253	$51,80 \times 10^4$
5	MG 1500	1463	$20,00 \times 10^4$

Hasil analisis antara ketinggian lokasi sampling dengan jumlah rerata kerapatan koloni kapang menggunakan analisis regresi 5% pada SPSS 13 tidak menunjukkan adanya korelasi. Hal tersebut menunjukkan bahwa kelimpahan kapang tidak hanya dipengaruhi oleh ketinggian tempat. Kelimpahan kapang sangat dipengaruhi faktor-faktor lingkungan lainnya seperti kelembaban, suhu, derajat keasaman (pH), ketersediaan nutrien, dan faktor mikroklimatik (Kuter, 1986; Alexopoulos *et al.*, 1996; Lodge, 1997). Kelimpahan tertinggi pada sampel MG 500 menunjukkan bahwa kondisi lingkungan khususnya ketersediaan materi organik pada lokasi sampling tersebut mendukung untuk pertumbuhan kapang. Kapang tergolong organisme heterotrof dan umumnya bersifat saprofit. Senyawa organik dibutuhkan sebagai sumber nutrisi untuk pertumbuhannya. Ketersediaan senyawa organik dalam tanah akan menyokong pertumbuhan optimum kapang saprofitik.

Hasil identifikasi fenotipik terhadap isolat kapang memperoleh 27 kelompok taksa kapang yang berbeda secara morfologi. Hasil isolasi dan identifikasi kapang dari sampel tanah Gunung Gamalama dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil identifikasi morfologi kapang pada sampel tanah sekitar kawasan Gunung Gamalama, Ternate, Maluku Utara
 Table 3. Saprophytic fungal taxa isolated from soil of Mount Gamalama, Ternate, North Moluccas

No	Takson kapang	Ketinggian tempat (m dpl)				
		514	742	1000	1253	1463
1	<i>Arthrotrrys</i> sp.	0	+	0	0	0
2	<i>Aspergillus flavus</i> Link	+	+	0	+	0
3	<i>Aspergillus fumigatus</i> Fres	0	+	+	0	0
4	<i>Aspergillus japonicus</i> Saito	+	0	0	0	0
5	<i>Aspergillus niger</i> van Tieghem	+	+	0	+	+
6	<i>Aspergillus oryzae</i> (Ahlburg) Cohn	+	0	0	0	0
7	<i>Aspergillus terreus</i> Thom	+	0	0	0	0
8	<i>Chaetomium</i> sp.	0	+	0	0	+
9	<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fres.) de Vries	+	0	+	+	0
10	<i>Cladosporium herbarum</i> (Pers.) Link	+	0	0	0	0
11	<i>Curvularia lunata</i> (Wakker) Boedijn	+	+	0	+	0
12	<i>Eupenicillium</i> sp.	0	0	+	+	+
13	<i>Fusarium oxysporum</i> Schleht.: Fr.	+	+	0	0	0
14	<i>Fusarium</i> sp.	0	0	0	+	0
15	<i>Gliocladium virens</i>	+	+	0	+	0
16	<i>Neurospora</i> sp.	+	+	0	0	0
17	<i>Nigrospora</i> sp.	0	0	0	+	0
18	<i>Penicillium griseofulvum</i> Dierckx	+	0	+	+	0
19	<i>Penicillium purpurogenum</i> Stoll	0	0	+	0	0
20	<i>Penicillium</i> sp. 1	+	0	+	0	+
21	<i>Penicillium</i> sp. 2	+	0	+	+	0
22	<i>Rhizopus oryzae</i> Went & Prinsen Geerl	0	+	+	+	+
23	<i>Syncephalastrum racemosum</i> Cohn	0	+	0	0	0
24	<i>Trichoderma harzianum</i> Rifai	+	+	0	0	+
25	<i>Trichoderma</i> sp.	+	+	0	+	0
26	Isolat steril koloni miselia berwarna putih hingga krem	+	+	+	+	+
27	Isolat steril koloni miselia berwarna coklat gelap (<i>dematiaceous</i>)	+	+	0	0	+

Keterangan: (+) = ada/ ditemukan
 (0) = tidak ditemukan

Identifikasi morfologi dilakukan pada isolat kapang yang ditumbuhkan pada media PDA, diinkubasi pada suhu 27° C, dan umur isolat 7--10 hari. Identifikasi berdasarkan karakter morfologi terhadap kapang saprofitik yang terisolasi menunjukkan 14 kelompok marga yaitu *Arthrotrrys*, *Aspergillus* (6 jenis), *Chaetomium*, *Cladosporium* (2 jenis), *Curvularia*, *Eupenicillium*, *Fusarium* (2 jenis), *Gliocladium*, *Penicillium* (4 jenis), *Rhizopus*, *Syncephalastrum*, dan *Trichoderma* (2 jenis). Selain itu terdapat dua kelompok isolat kapang steril yang tidak teridentifikasi secara morfologi karena selama inkubasi pada media PDA tetap steril dan tidak membentuk struktur reproduksi baik seksual maupun aseksual.

Keragaman isolat kapang terbanyak terdapat pada sampel tanah MG 500. Pada sampel tanah MG 500 terisolasi sebanyak 18 taksa kapang yang berbeda. Adapun keragaman kapang terendah terdapat pada sampel tanah MG 1500 (1463 m dpl) yang terisolasi sebanyak delapan kelompok taksa kapang.

Hasil isolasi dan identifikasi menunjukkan bahwa kapang marga *Aspergillus* dan *Penicillium* dapat ditemukan di hampir semua stasiun sampling. *Aspergillus* dan *Penicillium* adalah kapang saprofitik umum yang bersifat kosmopolit yaitu dapat ditemukan di berbagai tipe habitat (Domsch *et al.*, 1980; Samson *et al.*, 1995). Kapang marga *Aspergillus* memiliki habitat yang kosmopolit dan merupakan marga yang besar dengan lebih dari 180 jenis anamorf dan 70 nama teleomorf (Samsons *et al.* 1995). Kapang *Pencillium* memiliki habitat kosmopolit dan jenis yang beragam. Kapang tersebut umumnya bersifat saprofit dan beberapa bersifat parasit pada tumbuhan tinggi (Samson *et.al.*, 1995).

Kapang saprofitik lain yang ditemukan adalah marga *Arthrotrrys*, *Chaetomium*, *Eupenicillium*, *Fusarium*, *Gliocladium*, *Neurospora*, dan *Trichoderma*. Selain itu, kapang dari suku Dematiaceae seperti marga *Cladosporium*, *Curvularia*, dan *Nigrospora* serta anggota Zygomycetes yaitu marga *Rhizopus* dan *Syncephalastrum* juga diisolasi. Mekanisme dan peran kapang saprofitik *Arthrotrrys*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Chaetomium*, *Fusarium*, *Gliocladium*, *Penicillium*, dan *Trichoderma* dalam mengurai materi organik selulosa dalam berbagai tipe ekosistem telah banyak dikaji dan dilaporkan sebelumnya (Kader *et al.*, 1999; Peciulyte, 2007). Kapang marga *Chaetomium* selain bersifat saprofitik juga tergolong kapang termofilik yang dapat tumbuh dengan baik dan bersporulasi pada suhu hingga 40° C. Kapang tersebut memiliki kemampuan untuk menguraikan senyawa organik khususnya selulosa dalam waktu yang singkat karena memiliki aktivitas selulolitik yang sangat kuat (Gandjar *et al.*, 1999). Kapang *Trichoderma* dapat tumbuh dengan cepat melebihi kecepatan tumbuh kapang lain diantaranya karena memiliki aktivitas selulolitik yang kuat (Singh dan Sharma, 2002; Muhammad dan Amusa, 2003). *Trichoderma* umumnya bersifat saprofitik, tetapi beberapa jenis bersifat parasit pada kapang lain (Barnett dan Hunter, 1998). Kapang *Trichoderma* memiliki sebaran kosmopolit baik di daerah tropis maupun subtropis dan telah banyak diisolasi dari tanah, rizosfir, serasah tumbuhan tinggi, buah dan sayuran, pupuk kandang, kompos, dan berbagai limbah industri (Domsch *et al.*, 1980; Samsons *et al.*, 1995).

Sebagian isolat kapang saprofitik yang terisolasi dari sampel tanah sekitar kawasan Gunung Gamalama pada media kultur PDA tidak menunjukkan adanya pembentukan struktur reproduksi baik seksual maupun aseksual dan tetap steril selama masa inkubasi. Struktur reproduksi merupakan karakter yang penting untuk identifikasi berdasarkan morfologi khususnya untuk menentukan taksa kapang pada tingkatan takson marga dan jenis. Identifikasi isolat fungi steril dengan menggunakan pendekatan molekuler seperti perbandingan sekuen DNA menjadi hal yang umum dilakukan (Horton dan Burns, 2001). Namun demikian, pendekatan molekuler tersebut tidak selalu dapat diterapkan khususnya untuk mengidentifikasi isolat fungi steril hingga pada tingkatan taksa jenis dan strain. Hal tersebut disebabkan karena pendekatan molekuler terbentur pada sedikitnya jumlah referensi *database* sekuen DNA yang tersedia dibandingkan dengan tingginya tingkat keanekaragaman fungi. Pendekatan identifikasi pada isolat fungi steril berdasarkan ciri dan karakter fenotip atau morfologi tetap dapat diterapkan sebagai alternatif proses pengidentifikasian meskipun tidak dapat menggolongkan isolat fungi sampai pada tingkatan taksa yang lebih rendah (Bills dan Polishook, 1994).

Kesimpulan

Hasil penghitungan menunjukkan bahwa rerata kelimpahan koloni kapang saprofitik pada sampel tanah sekitar kawasan Gunung Gamalama, Ternate, propinsi Maluku Utara berkisar antara $13,30 \times 10^4$ dan $78,15 \times 10^4$ koloni/ ml. Rerata kerapatan koloni kapang tertinggi dicapai oleh sampel tanah MG 500 yang diambil pada ketinggian 514 m dpl sedangkan kerapatan terendah didapat pada sampel MG 1000 yang disampling pada ketinggian 1000 m dpl. Hasil identifikasi berdasarkan karakter dan ciri morfologi terhadap

kapang saprofitik yang terisolasi menunjukkan terdapat 14 kelompok marga kapang yaitu *Arthrobotrys*, *Aspergillus* (6 jenis), *Chaetomium*, *Cladosporium* (2 jenis), *Curvularia*, *Eupenicillium*, *Fusarium* (2 jenis), *Gliocladium*, *Penicillium* (4 jenis), *Rhizopus*, *Syncephalastrum*, dan *Trichoderma* (2 jenis).

Daftar Pustaka

- Alexopoulos, C.J., Mims, C.W. and Blackwell, M., 1996. *Introductory mycology*. 4th ed. John Wiley & Sons, Inc., Toronto.
- Ando, K., Nakhashima, C., Park, J-Y., and Otoguro, M., 2003. Workshop on isolation methods of microbes. Biotechnology Center-NITE & Research and Development Center for Biotechnology-LIPI, Cibinong: 24--26 Juni 2003.
- Anonim,, 2009. Kondisi geografis Pulau Ternate. www.damandiri.or.id/file/ernesiscadewiibab5pdf. 24 November 2009. pk. 09. 35. WIB.
- Barnett, H.L. and Hunter, B.B., 1998. *Illustrated genera of imperfect fungi*. 4th ed. APS Press, Minnesota.
- Bills, G.F. and Polishook, J.D., 1994. Abundance and diversity of microfungi in leaf litter of lowland rain forest in Costa Rica. *Mycologia*. 86(2), 187--198.
- Cromack, K. and Caldwell, B.A., 1992. The role of fungi in litter decomposition and nutrient cycling. In: Carroll, J.C. and D.T. Wicklow (eds.). *The Fungal Community: Its Organizations and Role in the Ecosystems*. 2nd ed. Marcel Dekker, New York.
- Domsch, K.H., Gams, W. and Anderson, T.H., 1980. *Compendium of soil fungi*. Vol 1. Academic Press, London.
- Dutton, M.V. and Evans, C.S., 1996. Oxalate production by fungi: Its role in pathogenicity and ecology in the soil environment. *Canadian Journals of Microbiology*. 42, 881--895.
- Ellis, M.B. 1971. *Dematiaceous hyphomycetes*. Commonwealth Mycological Institute, Kew Surrey.
- Gandjar, I., Samson, R.A., van den Tweel-Vermeulen, K., Oetari, A. dan Santoso, I., 1999. *Pengenalan kapang tropik umum*. Yayasan Obor Indonesia, Jakarta.
- Green, F., Larsen, M.J., Winandy, J.E. and Highley, T.L., 1991. The role of oxalic acid in incipient brown-rot decay. *Material und Organismen*. 26(3), 191-213.
- Horton, T.R. and Burns, T.D., 2001. The molecular revolution in ectomycorrhizal ecology: Peeking into the black box. *Molecular Ecology*. 52, 577--586.
- Ilyas, M., Rahmansyah, M. dan Kanti, A., 2006. *Seri panduan: Teknik isolasi fungi*. LIPI-Press, Jakarta.
- Kader, A.J., Omar, O. and Feng, L.S., 1999. Isolation of cellulolytic fungi from the Bario highland, Sarawak. *ASEAN Review of Biodiversity and Environmental Conservation*.
- Kuter, G.A., 1986. Microfungal populations associated with the decomposition of sugar maple leaf litter. *Mycologia*. 78, 114--126.
- Lodge, D.J., 1997. Factors related to diversity of decomposer fungi in tropical rain forests. *Biodiversity and Conservation*. 6, 681--688.
- Lynd, L.R., Weimer, P.J., van Zyl, W.H. and Pretorius, I.S., 2002. Microbial cellulose utilization: Fundamentals and biotechnology. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 66(3), 506--577.

- Muhammad, S. and Amusa, N.A., 2003. In-vitro inhibition of growth of some seedling blight inducing pathogens by compost inhabiting microbes. *African Journal of Biotechnology*. 2(6): 161-164.
- Munir, E., Hattori, T. and Shimada, M., 2002. A new glucose metabolism in wood-rotting fungi. *Proceeding of The 4th International Wood Science Symposium*. Serpong, Indonesia 2-5 September 2002. LIPI-JSPS Core University Program In The Field of Wood Science. 336--340.
- Peciulyte, D. 2007. Isolation of cellulolytic fungi from waste paper gradual recycling materials. *Ekologija*. 53(4), 11--18.
- Samson, R.A., E.S. Hoekstra, J.C. Frisvad, and O. Filtenborg. 1995. *Introduction to food borne fungi*. 4th ed. Ponsen & Looyen, Baarn.
- Singh, A. and Sharma, S., 2002. Composting of crop residue through treatment with microorganisms and subsequent vermicomposting. *Bioresource Technology*. (85), 107--111.
- Webster, J., 1980. *Introduction to fungi*. 2nd ed. Cambridge University Press, Melbourne.