



Multi Inang Fungi Ektomikoriza pada Dipterocarpaceae di Hutan Tropis

Multi-Host of Ectomycorrhizal Fungi on Dipterocarpaceae in Tropical Rain Forests

Maliyana Ulfa^{1*}, Eny Faridah², Su See Lee³, Sumardi², Christine le Roux⁴, Antoine Galiana⁴, Patahayah Mansor³, & Marc Ducouso⁴

¹Balai Litbang Lingkungan Hidup dan Kehutanan Palembang, Jl. Kolonel H. Burlian km 6,5 Pundi Kayu, Palembang, Indonesia

*Email : ahzaadzkiya14@gmail.com

²Fakultas Kehutanan, Universitas Gadjah Mada, Jl. Agro 1 Bulaksumur, Sleman, Indonesia

³Forest Research Institute of Malaysia (FRIM), Selangor, Kepong, Malaysia

⁴Laboratoire des symbioses tropicales et méditerranéennes (LSTM), Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD), Campus International de Baillarguet, 34398 Montpellier Cedex 5, France

HASIL PENELITIAN

Riwayat Naskah :

Naskah masuk (received): 17 Februari 2017

Diterima (accepted): 25 September 2018

KEYWORDS

dipterocarpaceae
ectomycorrhizal fungi
multi-host
tropical forests
DNA

ABSTRACT

Dipterocarpaceae is known as the dominant forest vegetation family in tropical forests that has mutual symbiosis with ectomycorrhizal fungi. It makes tropical forest resilience depend on the existence of ectomycorrhizal fungi. The role of ectomycorrhizal fungi to support the regeneration was found in multi-host form, indicated by sharing ectomycorrhizal fungal species between plants. Based on that phenomenon, the study aims to recognize ectomycorrhizal fungi that associate with dipterocarpaceae at tree and seedling levels, and the presence of multi-host ectomycorrhizal fungi on both growth stages. The research was conducted by identifying the ectomycorrhizal fungi via molecular approach by using Polymerase Chain Reaction (PCR) technique. To strengthen the sequence of DNA extracts, a specific primer pair of ITS 1F-ITS 4 was used. The identity of the ectomycorrhizal fungi was obtained by matching the samples' DNA sequence to the Genbank database. Based on the identification results, ectomycorrhizal fungi that associate with dipterocarpaceae on tree and seedling levels have genetic relationship with Dothideomycetes class and Sordariales, Sebaciales, Cantharellales, Russulales, Agaricales, Boletales, and Thelephorales orders. The research also found that multi-host of ectomycorrhizal fungi to dipterocarpaceae is formed both in different species and growth stages of host (tree and seedling). The most ectomycorrhizal fungi that play a role in multi-host are those with genetic relationship to the orders of Thelephorales, Russulales, and Sebaciales. Tomentella sp. of Thelephorales order was the most multi-host on both tree and seedling levels. R. lepidicolor, Sebacina sp., and ectomycorrhizal fungi of Thelephoraceae were found multi-host in seedling level. The existence of ectomycorrhizal fungi associated in multi-host with dipterocarpaceae is a natural asset for rehabilitation effort of degraded tropical forests.

INTISARI

KATA KUNCI

dipterocarpaceae
fungi ektomikoriza
multi inang
hutan tropis
DNA

Dipterocarpaceae dikenal sebagai keluarga vegetasi hutan dominan di hutan tropis yang memiliki simbiosis mutualisme dengan fungi ektomikoriza. Hal tersebut menjadikan pemulihan hutan tropis bergantung pada keberadaan fungi ektomikoriza. Peranan fungi ektomikoriza dalam mendukung regenerasi dijumpai dalam bentuk multi inang yang dapat terindikasi dari penggunaan secara bersama jenis fungi ektomikoriza antar tanaman. Berdasarkan hal tersebut, penelitian bertujuan untuk mengetahui jenis-jenis fungi ektomikoriza yang berasosiasi dengan dipterocarpaceae di tingkat pohon dan semai, serta mengetahui adanya multi inang fungi ektomikoriza pada kedua tingkat pertumbuhan tersebut. Penelitian ini dilakukan dengan mengidentifikasi ektomikoriza melalui pendekatan molekuler dengan menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Urutan ekstrak DNA diperkuat menggunakan pasangan primer spesifik ITS 1F-ITS 4. Identitas fungi ektomikoriza diperoleh dari pencocokan urutan DNA sampel terhadap database Genbank. Berdasarkan hasil identifikasi, jenis-jenis fungi ektomikoriza yang berasosiasi dengan dipterocarpaceae di tingkat pohon dan semai mempunyai hubungan kekerabatan dengan kelas Dothideomycetes dan ordo Sordariales, Sebaciales, Cantharellales, Russulales, Agaricales, Boletales, dan Thelephorales. Penelitian juga menemukan multi inang fungi ektomikoriza terhadap dipterocarpaceae, baik pada jenis maupun tingkatan pertumbuhan inang yang berbeda (semai dan pohon). Jenis fungi ektomikoriza yang paling berperan dalam multi inang adalah fungi yang mempunyai hubungan kekerabatan dengan ordo Thelephorales, Russulales, dan Sebaciales. *Tomentella sp.* dari ordo Thelephorales ditemukan paling banyak berasosiasi multi inang pada pohon dan semai. *R. lepidicolor*, *Sebacina sp.*, dan fungi ektomikoriza famili Thelephoraceae masing-masing berasosiasi multi inang di tingkat semai. Keberadaan jenis-jenis fungi ektomikoriza yang mampu berasosiasi secara multi inang dengan dipterocarpaceae merupakan modal alami upaya rehabilitasi hutan tropis terdegradasi.

© Jurnal Ilmu Kehutanan -All rights reserved

Pendahuluan

Dipterocarpaceae merupakan salah satu jenis pohon kayu ciri khas hutan hujan tropis di Indonesia. Keberlangsungan hidup dipterocarpaceae mempunyai ketergantungan pada simbiosis mutualisme dengan mikoriza, yaitu dengan fungi ektomikoriza (Brearley 2012), meskipun beberapa jenis dipterocarpaceae juga dilaporkan mempunyai asosiasi dengan endomikoriza terutama pada tahap awal pertumbuhan (Tawaraya & Turjaman 2014). Dalam hubungan timbal balik yang saling tergantung dan menguntungkan tersebut tanaman inang mendapatkan hara dan air yang dibutuhkan serta terlindungi dari patogen dan nematoda

tanah karena adanya kolonisasi miselium fungi ektomikoriza pada perakaran. Sebaliknya, fungi ektomikoriza mendapatkan karbon dari fotosintesis tanaman (Smith & Read 2008) dan substrat organik dari dekomposisi bahan organik (Lindahl & Tunlid 2015). Asosiasi simbiosis antara dipterocarpaceae dengan fungi ektomikoriza telah dilaporkan beberapa peneliti berdasarkan pengamatan tubuh buah (Watling & Lee 1995; Watling et al. 2002) dan berdasarkan metode molekuler (Sirikantaramas et al. 2003; Yuwa-Amornpitak et al. 2006; Tata et al. 2008; Peay et al. 2010; Kaewgrajang et al. 2014; Tapwal et al. 2016; Essene et al. 2017) dalam topik bahasan yang beragam.

Menurut Brundrett (2009), ada sekitar 6000 spesies tanaman berektomikoriza dalam 145 genus dan 26 famili atau sekitar 5600 angiosperma dan 285 gymnosperma, yang sebagian besar adalah pohon atau semak-semak. Asosiasi terbatas beberapa famili tanaman dengan ektomikoriza ditemukan pada Betulaceae, Fabaceae, Fagaceae, Dipterocarpaceae, Myrtaceae, dan Pinaceae. Jumlah spesies dipterocarpaceae ditemukan 500 jenis, yang tergolong dalam 17 genus (Ashton 2003). Fungi ektomikoriza yang terlibat dalam asosiasi simbiotik mutualisme tergolong dalam Basidiomycetes, Ascomycetes, dan Zygomycetes. Famili dipterocarpaceae di hutan tropis Asia Tenggara dijumpai dalam komunitas tumbuhan dengan kelimpahan jenis pohon yang tinggi, yang mendominasi di hutan tropika dataran rendah (Kettle 2010). Struktur komunitas tumbuhan dipengaruhi oleh variasi edafis pada skala lokal (Paoli et al. 2006), karena setiap perubahan yang terjadi di dalamnya cenderung terkait dengan perbedaan kondisi optimum antara fungi mikoriza untuk pertumbuhan dan akuisisi sumber daya (Smith & Read 2008). Sifat fungi ektomikoriza yang biotrop obligat menjadikan preferensi antara simbiosis dan inang (spesifisitas) dapat membentuk hubungan biotik yang kuat antara tanaman dan struktur komunitas fungi (Ishida et al. 2007; Tedersoo et al. 2008).

Multi inang merupakan karakter unik fungi ektomikoriza dalam berasosiasi, yaitu dapat berasosiasi dengan berbagai jenis inang. Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa fungi ektomikoriza mempunyai karakter multi inang terhadap inang (Diédhiou et al. 2010; Taschen et al. 2015). Adanya dugaan multi inang fungi ektomikoriza pada dipterocarpaceae berdasarkan penemuan tubuh buah, dilaporkan Watling dan Lee (1995) dari fungi ektomikoriza yang tumbuh di sekitar sejumlah inang dipterocarpaceae. Lee et al. (1997) juga menemukan indikasi adanya multi inang fungi ektomikoriza pada tingkat pertumbuhan yang berbeda pada *S. leprosula* berdasarkan morfotipe ektomikoriza. Multi inang dapat terindikasi secara spesifik setelah ditemukan pendekatan molekuler, sehingga lebih menjamin kepastian adanya kemampuan suatu individu fungi untuk berasosiasi dengan beberapa jenis inang. Kemampuan fungi ektomikoriza yang demikian dikenal sebagai generalis (Smith et al. 2009). Karakter

tersebut melibatkan tumbuhan yang berbeda jenis dan berbeda umur sehingga mengindikasikan bekerjanya fungi ektomikoriza dalam mekanisme jaringan yang kompleks di hutan dan berlangsungnya transfer karbon dan hara dalam jaringan fungi ektomikoriza (Simard et al. 2012). Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis-jenis fungi ektomikoriza yang berasosiasi dengan dipterocarpaceae di tingkat pohon dan semai dengan menggunakan metode molekuler, serta mengetahui adanya multi inang fungi ektomikoriza pada kedua tingkat pertumbuhan tersebut.

Bahan dan Metode

Lokasi dan waktu penelitian

Kegiatan penelitian di lapangan dilaksanakan pada bulan Mei 2012 sampai dengan April 2013 di Hutan Desa Sungai Telang, Kabupaten Bungo, Propinsi Jambi. Lokasi penelitian ini berjarak $\pm 1,5$ km arah tenggara dari Desa Sungai Telang, yang secara geografis terletak pada S $01^{\circ} 42' 59''$ dan E $101^{\circ} 47' 8,0''$. Lokasi penelitian merupakan hutan sekunder yang masuk dalam kawasan Hutan Lindung Bukit Panjang Rantau Bayur, Kabupaten Bungo.

Penyiapan sampel untuk analisis molekuler dilaksanakan di laboratorium BP2LHK Palembang. Sampel tersebut kemudian dianalisis secara molekuler di *Laboratoire des Symbioses Tropicales et Méditerranéennes (LSTM)*, *Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD)*, sebuah lembaga penelitian dan pengembangan agronomi milik CIRAD Perancis yang berkedudukan di Montpellier. Kegiatan tersebut dilaksanakan pada bulan Mei 2012 sampai dengan Oktober 2015.

Alat dan bahan penelitian

Peralatan yang digunakan untuk pengambilan sampel adalah GPS (*Global Positioning System*) untuk merekam posisi geografi plot sampel, kompas untuk menentukan arah plot sampel, tali tambang, pita plastik gulung, gunting tanaman, pisau lapangan, label, kantong plastik untuk menyimpan sampel akar, meteran, dan alat tulis untuk mencatat data lapangan. Peralatan yang digunakan di laboratorium merupakan alat-alat yang digunakan dalam analisis

biologi molekuler. Untuk membantu pengambilan *root tip* sebagai bahan ekstrak dari setiap sampel akar digunakan mikroskop binokuler. Selama proses ekstraksi digunakan vorteks dan sentrifugasi. Tahapan penguatan urutan DNA (amplifikasi) menggunakan *thermocycler* untuk melakukan *Polymerase Chain Reaction (PCR)* untuk menghasilkan gugus DNA yang spesifik dalam jumlah besar dalam waktu singkat. Untuk memisahkan dan mempurifikasi fragmen DNA dari sampel hasil PCR, digunakan perangkat uji metode elektroforesis gel agarosa, dan visualisasi DNA setelah tahapan elektroforesis menggunakan UV-transiluminator. Selama proses analisis biologi molekuler digunakan alat-alat bantu berupa pipet mikro, gelas petri, spatula, pinset, ependorf sebagai tempat sampel ekstrak DNA, dan alat tulis untuk mencatat data laboratorium.

Bahan penelitian adalah biji dari 3 (tiga) jenis *Shorea* (*S. leprosula*, *S. mecistopteryx*, dan *S. stenoptera*), larutan hipoklorit 2,5%, pasir, cocopeat, tanah, polybag, *root tips* akar berektomikoriza (pohon dan semai), bahan kimia dan *reagent* untuk analisis di laboratorium. Bahan kimia berupa aquades dan larutan *setil-trimethyl-ammonium bromida* (CTAB) untuk mengekstrak sampel DNA setelah pengambilan sampel *root tips*. Bahan *reagent* untuk analisis molekuler metode PCR menggunakan *RedExtract® kit* yang berisi semua reagen yang dibutuhkan untuk mengekstrak dan menguatkan DNA genomik dengan cepat. Untuk memperkuat urutan dari ekstrak DNA digunakan pasangan primer spesifik ITS 1F-ITS 4B. Pengujian elektroforesis menggunakan agarosa sebagai bahan pembuatan gel elektroforesis, buffer *Tris-asam acetat (TAE)* untuk mengaktifkan dan menstabilkan pH DNA, dan penanda DNA *ethidiumbromida* untuk mengidentifikasi dan mengukur semikualitatif fragmen DNA yang terpisah dalam gel.

Metode penelitian

Dalam rangka untuk mengetahui adanya asosiasi antara fungsi ektomikoriza dengan inangnya, baik pada tingkat semai dan pohon maka dilakukan pengambilan sampel pohon untuk kemudian diambil sampel *root tips* pada akarnya, serta penanaman semai dipterocarpaceae tidak bermikoriza di rhizosfer pohon dipterocarpaceae yang juga diambil *root tips* akarnya

setelah semai berumur 4 bulan. *Root tips* akar pohon dan semai merupakan bahan analisis identifikasi fungsi ektomikoriza secara molekuler di laboratorium untuk menghasilkan identitas simbiosis pembentuk ektomikoriza (*real symbiont*). Hasil tersebut kemudian digunakan sebagai bahan analisis indikasi adanya multi inang baik antar pohon, antar semai, maupun antara pohon dengan semai dipterocarpaceae.

Teknik pengambilan sampel pohon

Pengambilan sampel pohon Dipterocarpaceae dilakukan secara acak di 3 (tiga) plot yang masing-masing plot berukuran panjang 100 m dan lebar 100 m (luas 10.000 m²). Luas plot dengan sampel vegetasi berupa pohon mengikuti persyaratan luasan dalam inventarisasi vegetasi (Wyatt-Smith 1958). Pohon yang dijadikan objek penelitian adalah pohon dewasa jenis-jenis Dipterocarpaceae yang ditentukan berdasarkan kriteria pohon yaitu berdiameter setinggi dada (1,3 m) 20 cm atau lebih. Apabila pohon berbanir, diameter diukur 20 cm di atas banir. Pohon terpilih kemudian dipetakan secara geografis menggunakan GPS Garmin® type 78s, serta diidentifikasi dan diukur diameter pohonnya (DBH). Sampel pohon yang diperoleh merupakan pohon dipterocarpaceae sisa akibat pelaksanaan tebang pilih yang berlangsung sebelumnya, sehingga jenisnya beragam namun tidak ditemukan dalam jumlah yang banyak (Gambar 1). Dengan luasan plot tersebut, dapat diketahui asosiasi yang terjadi dalam satuan rhizosfer tiap pohon dan hubungan antar rhizosfer tiap pohon.

Penanaman semai tidak bermikoriza di rhizosfer pohon dipterocarpaceae

Semai yang ditanam terdiri dari 3 (tiga) jenis *shorea*, yaitu *S. leprosula*, *S. mecistopteryx*, dan *S. stenoptera*. Untuk memastikan semai tidak bermikoriza, benih tanaman sebelum ditanam telah disterilisasi terlebih dahulu dengan cara merendamnya dalam larutan hipoklorit 2,5% selama lima menit dan kemudian dicuci sampai bersih. Setelah itu benih ditabur pada media pasir yang sudah disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit pada tekanan 1 atm dan suhu 121°C. Penyemaian benih dilakukan pada media pasir selama 30 hari. Semai kemudian disapih pada media campuran cocopeat dan tanah

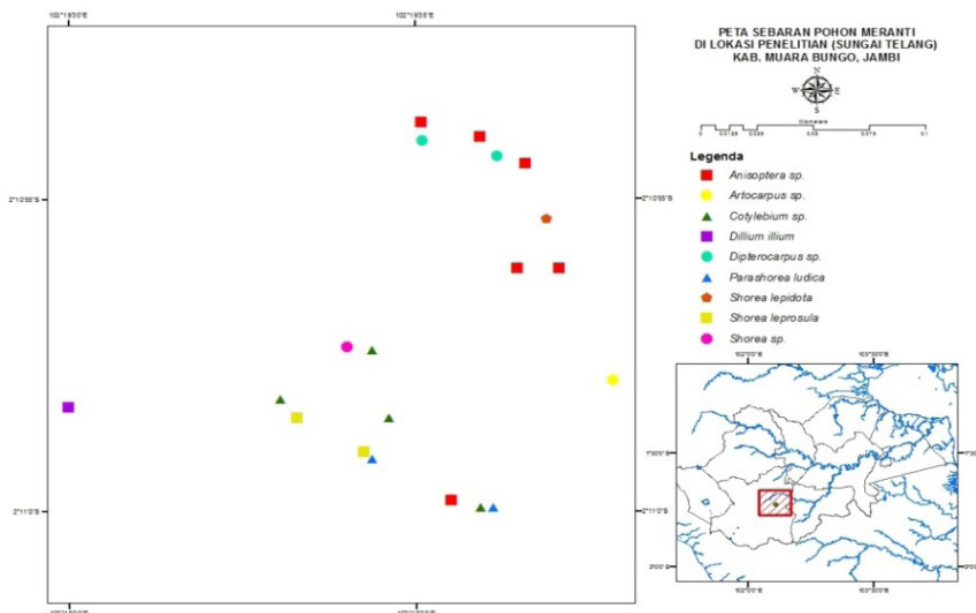
dengan perbandingan 1:1 (v/v) yang telah disiapkan dalam polybag berukuran 12 x 10 cm. Media saph sebelum digunakan juga disterilisasi dengan cara yang sama seperti pada media semai. Media *cocopeat* dipilih karena dapat menjaga kelembaban tanah dan media tanah diperlukan untuk mendukung kekokohan semai. Pembibitan dilakukan selama 6 bulan di persemaian yang ternaungi oleh paranet dengan intensitas cahaya 65%. Pada awal masa pembibitan dilakukan pemberian pupuk kimia NPK (15:15:15) sebanyak 0,25 g per pot untuk menjaga suplai hara bagi semai. Mutu semai yang siap tanam minimal merupakan semai kriteria ketiga, yaitu kurang dari 35 cm dan diameter kurang dari 4 mm (Hendromono 2003).

Penanaman semai ketiga jenis *shorea* dilakukan di area proyeksi tajuk di setiap pohon dipterocarpaceae pada lokasi penelitian (Gambar 1). Jumlah semai setiap jenisnya adalah 10 semai, yang ditanam secara berselang-seling di sekitar pohon sampel (Gambar 2). Setelah berumur 4 bulan setelah tanam, semai uji diambil dan *root tips* akar semai digunakan sebagai sampel untuk keperluan identifikasi fungi ektomikoriza secara molekuler. Pengambilan sampel *root tips* pada akar semai dilakukan setelah 4 bulan setelah tanam karena Lee & Alexander (1996)

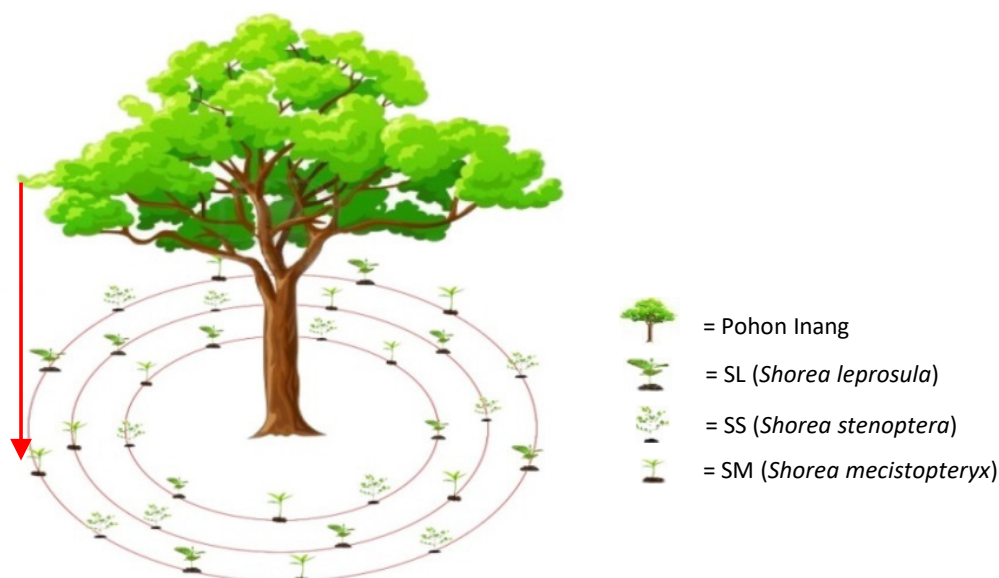
melaporkan bahwa mantel fungi telah terbentuk pada akar semai berumur 20 hari, yang kemudian dilanjutkan dengan pembentukan *hartig net*.

Pengambilan sampel *root tips* pada akar pohon dan semai

Pengambilan *root tips* dari akar pohon dipterocarpaceae mengikuti prosedur Diédhiou et al. (2010) yaitu dengan melakukan penelusuran akar dari dasar batang. Sepuluh sampai 30 sampel akar diambil secara acak di 4 (empat) arah mata angin di setiap pohon. Sampel akar pada semai *S. leprosula*, *S. mecistopteryx*, dan *S. stenoptera* diambil berdasarkan tipe kenampakan (*morphotype*) akar yang terkolonisasi fungi ektomikoriza. Semua sampel akar disimpan dalam kondisi dingin (4°C) setelah 1-3 hari pengambilan sampel di lokasi penelitian. Akar kemudian dipisahkan dengan hati-hati dari tanah dengan cara dibilas menggunakan air mengalir dalam saringan berdiameter 0,5 mm. *Root tips* diamati menggunakan mikroskop binokuler untuk dipisahkan dari akar dan dimasukkan ke dalam larutan *setiltrimetilamonium bromide* (CTAB). CTAB digunakan untuk mengekstrak DNA ektomikoriza (Doyle & Doyle 1987).



Gambar 1. Peta sebaran pohon dipterocarpaceae di hutan sekunder Sungai Telang, Jambi
Figure 1. Map of tree distribution in secondary forest, Sungai Telang, Jambi



Gambar 2. Lay out penanaman 3 (tiga) jenis semai shorea (*S. leprosula*, *S. stenoptera*, dan *S.mecistoptyx*) di bawah pohon dewasa dipterocarpaceae

Figure 2. Lay out of 3 (three) different shorea seedlings (*S. leprosula*, *S. stenoptera*, dan *S. mecistoptyx*) under dipterocarp trees)

Analisis Molekuler

DNA fungi ektomikoriza diisolasi dari tiap *root tips* menggunakan pengeksrak pada *RedExtract® kit*, yang kemudian diekstraksi menggunakan larutan ekstraksi 50 µL pada suhu 95°C selama 10 menit, dan 50 µL larutan dilusi. Identifikasi fungi ektomikoriza dilakukan dengan memperkuat (*amplifying*) dan mengurutkan (*sequencing*) rDNA ITS nuklir dengan menggunakan pasangan primer spesifik ITS 1F/ITS 4 (White et al. 1990). Untuk mendapatkan replikasi DNA digunakan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR), digunakan larutan *RedExtract® kit* dan *primer*, sehingga terbentuk keselarasan urutan DNA maju dan mundur untuk menghasilkan sekuens DNA konsensus. Tahapan dalam PCR diawali dengan pembuatan campuran larutan 20 µL dari reaksi yang mengandung 5 µL H₂O, larutan PCR *RedExtract* 10 µL, 0,5 µL primer ITS 1F 20 M, 0,5 µL primer ITS 4 20 M, dan ekstrak DNA ektomikoriza 4 µL. Primer yang digunakan meliputi ITS₁ F (5'-CTTGTC ATTTAGAGGAAGTAA-3') sebagai *forward primer* dan ITS₄ (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') sebagai *reverse primer*.

Penguatan DNA (*amplifying*) dilakukan menggunakan *thermal cycler Gene Amp PCR 9700* dengan parameter cara kerja yaitu denaturasi awal pada 94°C selama 3 menit, selama 35 kali putaran, yang terdiri dari denaturasi pada 94°C selama 30 detik,

annealing pada 52°C selama 1 menit, ekstensi pada 72°C selama 1 menit, dengan ekstensi akhir pada 72°C selama 10 menit. Hasil tahapan ini kemudian ditindaklanjuti dengan tahapan elektroforesis gel, yang dilakukan dengan menggunakan 15 µL produk PCR dan diisi ke dalam 1% gel agarose dan divisualisasikan dengan penanda DNA *ethidiumbromide*. Tahapan ini dilakukan untuk mengetahui ukuran fragmen DNA dari produk PCR (lebih dari 200 bp). Jika ditemukan sampel dengan ukuran di atas 200 bp, maka sisa produk PCR 5 µL, yang disimpan sebelum dilakukan tahapan penguatan DNA (*amplifying*), dikirimkan ke *Genoscreen* milik *CIRAD* untuk proses pengurutan (*sequencing*).

Hasil pengurutan tersebut kemudian dikoreksi dan disesuaikan dengan program *software Chromas 2.5.1*. Untuk menentukan afiliasi taksonomi fungi ektomikoriza, urutan DNA dibandingkan dengan database GenBank menggunakan algoritma BLAST (*Best Local Alignment Search Tool*) yang terdapat pada *National Center for Biotechnology Information* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), yang dilanjutkan dengan penamaan takson yaitu dengan mengikuti skor BLAST.

Analisis Data

Deskripsi kolonisasi fungi ektomikoriza pada akar pohon dan semai di lapangan dilakukan secara kualitatif berdasarkan ciri pembentukan ektomikoriza (Brundrett et al. 1996). Jenis-jenis

fungi ektomikoriza di tingkat pohon dan semai yang dihasilkan dari identifikasi secara molekuler, merupakan bahan analisis komparasi, yang selanjutnya dianalisis secara kuantitatif deskriptif untuk mengetahui indikasi adanya multi inang pada tingkat pertumbuhan dipterocarpaceae tersebut. *Alignment* ganda dilakukan dengan paket *software* ClustalX dan Genedoc. Analisis filogenetik dilakukan menggunakan MEGA versi 5 (Tamura et al. 2011) dengan algoritma kemungkinan yang maksimum, dan stabilitas pengelompokan dinilai dengan melakukan analisis *bootstrap*.

Hasil dan Pembahasan

Fungi Ektomikoriza yang menginokulasi pohon dan semai dipterocarpaceae

Pohon-pohon dipterocarpaceae di lokasi penelitian berdiameter lebih dari 20 cm (Tabel 1) dan terdiri dari jenis yang beragam. Secara keseluruhan, dari 18 pohon terdiri dari 6 jenis dipterocarpaceae yaitu *Parashorea lucida*, *S. leprosula*, *S. lepidota*, *Cotylelobium* sp., *Dipterocarpus* sp., dan *Anisoptera* sp. (Gambar 1). Ektomikoriza pada akar pohon dan semai yang ditanam di setiap pohon sampel (Gambar 2) diambil berdasarkan petunjuk adanya penebalan, warna, dan pola percabangan akar terinfeksi yang menyerupai piramida (Brundrett et al. 1996).

Hasil identifikasi fungi ektomikoriza secara molekuler di tingkat pohon dan semai dipterocarpaceae selengkapnya ditampilkan pada Tabel 2. Dari 104 identitas fungi ektomikoriza, telah dianalisis untuk mengetahui filogenetik berdasarkan sekuen DNA fungi ektomikoriza dengan dukungan *bootstrap* >70%, yang dikelompokkan dalam kelas Dothideromycetes, ordo Sordariales, Sebaciniales, Cantharellales, Russulales, Agaricales, Boletales, dan Thelephorales (Gambar 3). Jenis-jenis fungi ektomikoriza yang berhasil diidentifikasi didominasi oleh fungi ektomikoriza yang tergolong dalam basidiomycota, kecuali Dothideromycetes dan Sordariales yang tergolong dalam ascomycota. Secara keseluruhan, *Tomentella* sp. yang mempunyai hubungan kekerabatan dengan ordo Thelephorales merupakan fungi ektomikoriza yang paling banyak

ditemukan, baik di tingkat pohon maupun semai. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Peay et al.(2010) dan Brearley (2012), yang menemukan jenis fungi ektomikoriza tersebut di hutan tropis yang didominasi oleh *Dipterocarpus* di Thailand dan Malaysia.

Dalam penelitian ini, identifikasi jenis fungi ektomikoriza secara molekuler telah menghasilkan identitas fungi ektomikoriza yang dapat memberikan informasi kepastian pembentukan ektomikoriza pada inangnya, sehingga dapat digunakan untuk mendeteksi karakter asosiasi yang terjadi. Metode molekuler selain dapat mengkarakterisasi suatu komunitas mikroba dan keanekaragamannya (Tedersoo et al. 2014), juga secara khusus dapat mendeteksi berbagai tingkat preferensi asosiasi (Aponte et al. 2010; Tedersoo et al. 2010).

Tabel 2 menunjukkan adanya jenis-jenis fungi ektomikoriza yang cenderung lebih banyak ditemukan berasosiasi dengan dipterocarpaceae di tingkat semai jika dibandingkan di tingkat pohon, yang mengindikasikan fungsinya sebagai fungi ektomikoriza tahap awal (*early stage*). Fungi ektomikoriza tersebut adalah jenis yang masuk dalam famili Thelephoraceae, Sebacinaceae, dan Inocybaceae. Pada Thelephoraceae, banyak ditemukan fungi ektomikoriza *Tomentella* sp., yang juga dilaporkan banyak menginfeksi tanaman di tingkat semai (Tata 2008; Ramanankierana et al. 2014). Sementara itu, *Sebacina* sp. (Sebacinaceae) banyak ditemukan pada semai setelah terjadi kerusakan lahan (Kałucka & Jagodziński 2016; Malysheva et al. 2016). Meskipun dalam penelitian ini jumlahnya tidak sebanyak *Tomentella* sp. dan *Sebacina* sp., jenis fungi ektomikoriza dalam famili Inocybaceae juga relatif lebih banyak ditemukan di tingkat semai seperti yang dijumpai Tata (2008) dan Séne et al.(2015). Dalam penelitian oleh Jeong et al. (2006), jenis-jenis Thelephoraceae dan *Inocybe* ditemukan mendominasi pada akar semai *Pinus densiflora* di lahan pasca tambang. Secara umum, jenis fungi ektomikoriza tahap awal lebih banyak ditemukan pada lingkungan yang terdegradasi bahkan pada tingkat yang lebih rusak (Hankin et al. 2015).

Tabel 1. Jenis dan diameter (cm) pohon dipterocarpaceae di lokasi penelitian
Table 1. Species and diameter (cm) of dipterocarpaceae trees in research site

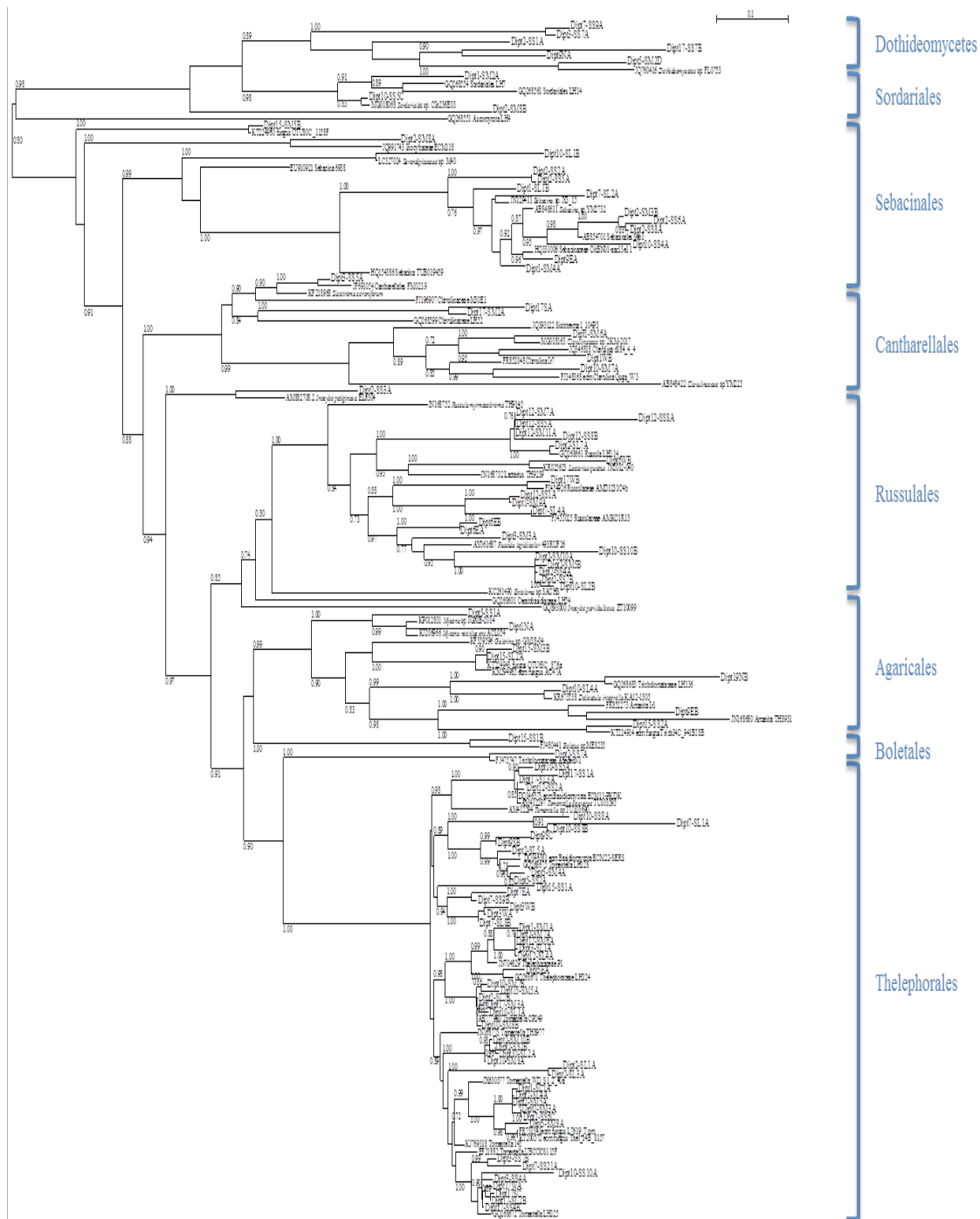
No. Pohon	Nama jenis	Diameter (cm)
1.	<i>Parashorea lucida</i>	80
2.	<i>Cotylelobium</i> sp.	62
3.	<i>Anisoptera</i> sp.	48
4.	<i>P. lucida</i>	47
5.	<i>Shorea leprosula</i>	55
6.	<i>Cotylelobium</i> sp	62
7.	<i>Shorea leprosula</i>	50
8.	<i>Cotylelobium</i> sp.	48
9.	<i>Cotylelobium</i> sp.	58
10.	<i>Shorea</i> sp.	95
11.	<i>Anisoptera</i> sp.	131
12.	<i>Anisoptera</i> sp.	57
13.	<i>S. lepidota</i>	140
14.	<i>Anisoptera</i> sp.	82
15.	<i>Dipterocarpus</i> sp.	73
16.	<i>Anisoptera</i> sp.	65
17.	<i>Anisoptera</i> sp.	63
18.	<i>Dipterocarpus</i> sp.	58

Tabel 2. Hasil identifikasi berdasarkan penanda molekuler ITS jenis-jenis fungi ektomikoriza yang ditemukan pada akar pohon dan semai dipterocarpaceae

Table 2. The identification results based on ITS molecular marker of ectomycorrhizal fungi which found on root of tree and seedlings of dipterocarpaceae)

No.	Jenis fungi ektomikoriza	Kemiripan pada sekuen DNA Genbank	Inang
		No. Akses	Pohon Semai
1	<i>Clavulina</i> sp.	JO 346817	<i>P. lucida</i>
2		LC 035145	<i>Cotylelobium</i> sp.
3		KF 484437	<i>S. mecistopteryx</i>
4		AB 848421	<i>S. stenoptera</i>
5	Clavulinaceae	GQ 268599	<i>Dipterocarpus</i> sp.
6		GQ 268602	<i>S. mecistopteryx</i>
7	<i>Russula</i> sp.	AB 848565	<i>Cotylelobium</i> sp.
8		AB 629011	<i>S. mecistopteryx</i>
9		EU 598176	<i>S. mecistopteryx</i>
10		KC 679823	<i>S. mecistopteryx</i>
11	<i>R. lepidicolor</i>	AY 061687	<i>S. leprosula</i> <i>S. stenoptera</i>
12	<i>R. lepida</i>	DQ 422013	<i>S. mecistopteryx</i>
13	<i>R. lutea</i>	HQ 604848	<i>Cotylelobium</i> sp.
14	<i>R. postiana</i>	KF 850410	<i>Cotylelobium</i> sp.
15	<i>Lactarius quietus</i>	KR 025623	<i>Cotylelobium</i> sp.
16	Russulaceae	FJ 454926	<i>Dipterocarpus</i> sp.
17		AB 854698	<i>S. leprosula</i>
18		FJ 455025	<i>S. leprosula</i>
19	<i>Tomentella</i> sp.	KJ 769318	<i>Anisoptera</i> sp. <i>S. leprosula</i>
20		KM 403022	<i>Cotylelobium</i> sp. <i>S. stenoptera</i>
21		GQ 268672	<i>Dipterocarpus</i> sp. <i>S. stenoptera</i> <i>S. mecistopteryx</i>
22		JQ 347222	<i>Cotylelobium</i> sp.

Tabel 2. Lanjutan Table 2. Continued			
No.	Jenis fungi ektomikoriza	Kemiripan pada sekuen DNA Genbank	Inang
23		AY 748885	<i>S. mecistopteryx</i>
24		JX 630377	<i>S. leprosula</i> <i>S. stenoptera</i> <i>S. mecistopteryx</i>
25		KM 403047	<i>S. leprosula</i>
26		AB 848668	<i>S. leprosula</i>
27		AY 635174	<i>S. leprosula</i>
28		AB 777490	<i>S. leprosula</i> <i>S. mecistopteryx</i>
29		AY 635173	<i>S. mecistopteryx</i>
30		GU 220622	<i>S. stenoptera</i> <i>S. mecistopteryx</i>
31		GQ 268675	<i>S. stenoptera</i> <i>S. mecistopteryx</i>
32		FR 852207	<i>S. mecistopteryx</i>
33		AB 777492	<i>S. stenoptera</i>
34		EU 668210	<i>S. mecistopteryx</i>
35		AM 412297	<i>S. leprosula</i>
36		JF 748114	<i>S. leprosula</i>
37	<i>T. sublilacina</i>	DQ 482004	<i>S. leprosula</i>
38	<i>T. beaverae</i>	NR 121287	<i>S. leprosula</i>
39	<i>Thelephora</i> sp.	EF 634080	<i>S. leprosula</i>
40		HM 100661	<i>Dipterocarpus</i> sp.
41		JN 858076	<i>S. leprosula</i>
42		EF 634087	<i>S. stenoptera</i>
43	Thelephoraceae	FJ 454993	<i>Dipterocarpus</i> sp. <i>S. stenoptera</i>
44		GQ 268671	<i>S. leprosula</i>
45		JQ 991859	<i>S. leprosula</i>
46		KM 247463	<i>S. stenoptera</i>
47		JN 704829	<i>S. leprosula</i>
48		FJ 455029	<i>S. leprosula</i>
49		KF 514715	<i>S. leprosula</i> <i>S. mecistopteryx</i>
50	<i>Sebacina</i> sp.	FN 669246	<i>Cotylelobium</i> sp.
51		KM 576590	<i>S. leprosula</i>
52		HE 687106	<i>S. mecistopteryx</i>
53		JN 129411	<i>S. stenoptera</i> <i>S. mecistopteryx</i>
54		EU 668260	<i>S. stenoptera</i>
55		JN 294111	<i>S. leprosula</i>
56		AB 848611	<i>S. stenoptera</i>
57	<i>Sebacinales</i> sp.	HE 814196	<i>S. mecistopteryx</i>
58		KJ 188485	<i>S. leprosula</i>
59	Sebacinaceae	JF 210753	<i>S. stenoptera</i>
60	<i>Inocybe</i> sp.	HG 796983	<i>Dipterocarpus</i> sp.
61	<i>Inocybe petiqinosa</i>	HQ 586862	<i>S. stenoptera</i>
62	Inocybaceae	JQ 991743	<i>S. mecistopteryx</i>
63	<i>Amanita rubescens</i>	AJ 889923	<i>Cotylelobium</i> sp.
64	<i>Entoloma</i> sp.	KC 261490	<i>Anisoptera</i> sp.
65	<i>Boletus</i> sp.	AB 848411	<i>S. stenoptera</i>
66	<i>Cantharella</i> sp.	JF 691054	<i>S. stenoptera</i>
67	<i>Phaeocollybia megalospora</i>	KF 219600	<i>S. leprosula</i>
68		KC 662116	<i>S. mecistopteryx</i>
69	Ceratobasidiaceae	GO 268601	<i>S. mecistopteryx</i>
70	Tricholomataceae	FJ 475747	<i>S. stenoptera</i>
71	Dothideomycetes	JQ 760426	<i>S. mecistopteryx</i>
72	<i>Sordariales</i> sp.	GQ 268554	<i>S. stenoptera</i>



Gambar 3. Pohon filogenetik berdasarkan sekuens ektomikoriza ITS dari keanekaragaman fungi ektomikoriza pada pohon dan semai dipterocarpaceae

Figure 3. The phylogenetic tree based on ITS ectomycorrhizal sequences from diversity of ectomycorrhizal fungi on trees and seedlings of dipterocarpaceae

Kehadiran jenis-jenis fungi tahap akhir yang cenderung berasosiasi dengan dipterocarpaceae di tingkat pohon juga ditemukan, yaitu fungi yang masuk dalam famili Russulaceae, Amanitaceae, dan Entolomataceae. Redecker et al. (2001) dan Nara (2009) melaporkan jenis-jenis dalam famili Russulaceae sebagai fungi ektomikoriza tahap akhir (*last stage*), sementara jenis-jenis fungi ektomikoriza

dalam Amanitaceae dan Entolomataceae dilaporkan Wazny (2014) dan Glassman et al. (2017) lebih banyak eksis di tingkat pohon pada famili Pinaceae. Meskipun demikian, jenis-jenis Russulaceae juga ditemukan pada tingkat pertumbuhan semai dalam penelitian ini. Hal tersebut dapat terjadi karena fungi mampu bersaing secara efektif dengan fungi tahap awal ketika akar baru terintegrasi dalam perakaran pohon (Fleming 1984).

Multi inang fungi ektomikoriza pada pohon dan semai

Pendekatan molekuler selain dapat memastikan pembentukan ektomikoriza pada jenis-jenis dipterocarpaceae, juga mampu menunjukkan pola hubungan asosiasi simbiosis. Pada Tabel 2, suatu jenis fungi ektomikoriza ditemukan dapat berasosiasi dengan beberapa jenis dipterocarpaceae dan antar tingkatan pertumbuhan (pohon dan semai), yang dikenal dengan multi inang. Hal tersebut ditemukan pada *Tomentella* sp. yang banyak berasosiasi pada pohon dan semai, yaitu pohon *Dipterocarpus* dan semai *S. stenoptera* serta *S. mecistopteryx*; pohon *Anisoptera* sp. dan semai *S. leprosula*; pohon *Cotylelobium* dan semai *S. stenoptera*. Selain itu, jenis fungi ektomikoriza pada famili Thelephoraceae ditemukan menginfeksi pada pohon *Dipterocarpus* sp. dan *S. stenoptera*. Keberadaan jenis-jenis fungi ektomikoriza tersebut pada pohon dan semai menunjukkan adanya indikasi hubungan antara keduanya melalui jaringan ektomikoriza, yang memfasilitasi proses transfer fotosintat, hara, dan air (Smith & Read 2008) dan dapat mendukung ketahanan dan pemulihan hutan sekunder (Beiler et al. 2010).

Multi inang fungi ektomikoriza juga ditunjukkan di tingkat semai dipterocarpaceae, yaitu *R. lepidicolor* pada semai *S. leprosula* dan *S. stenoptera*, *Sebacina* sp. pada semai *S. mecistopteryx* dan *S. stenoptera*, dan fungi ektomikoriza famili Thelephoraceae pada *S. leprosula* dan *S. mecistopteryx*. Dalam hal ini ada 2 kemungkinan mekanisme asosiasi yang terjadi, yaitu melalui jaringan ektomikoriza dari pohon terdekat atau karena keberadaan propagul fungi ektomikoriza yang lain. Menurut Sloss et al. (2006), keberhasilan pertumbuhan awal tanaman disebabkan semai terintegrasi pada jaringan mikoriza. Sementara itu, Teste et al. (2009) menyatakan bahwa mekanisme kolonisasi fungi ektomikoriza pada semai juga didukung oleh inokulum ektomikoriza yang terbawa angin atau di dalam tanah (misalnya, chlamydospora, sklerotia, fragmen hifa, dan potongan ektomikoriza pada akar pohon yang terputus). Hal ini terkait dengan sebaran fungi ektomikoriza multi inang berkisar antara 12% hingga 90% dari semua spesies dan mendukung transfer karbon antar semai yang berbeda jenis (Roy et al. 2009). Menurut Diédhiou et al.

(2010) multi inang di tingkat semai berkaitan dengan kebutuhan semai untuk tumbuh dan bertahan hidup. Kemampuan semai mengakses berbagai sumber dan jenis fungi ektomikoriza terkait dengan kemampuan tanaman untuk mengenali sinyal khusus protein dari fungi untuk kemudian bersimbiosis sehingga terjadi pertukaran nutrisi (Liao et al. 2016).

Secara umum jenis-jenis fungi ektomikoriza yang mempunyai hubungan kekerabatan dengan ordo Thelephorales lebih banyak menunjukkan multi inang, baik pada jenis maupun tingkatan pertumbuhan dipterocarpaceae yang berbeda. Jenis-jenis Thelephorales juga dilaporkan generalis pada *Shorea* (Sirikantaramas et al. 2003) dan *Dipterocarpus* (Yuwa-Amornpitak et al. 2006) serta pada Ericaceae (Bayman et al. 2016) dan Pinaceae (Smith et al. 2009; Wen et al. 2014). Kemampuan multi inang fungi ektomikoriza menunjukkan adanya karakter generalis dalam berasosiasi (Dickie et al. 2017). Karakter tersebut terbentuk karena fungi ektomikoriza dapat berasosiasi dengan berbagai famili tanaman (Nara 2006b) dan keberadaannya mendominasi dalam suatu komunitas fungi ektomikoriza (Bruns et al. 2002). Dominasi tersebut disebabkan spora dan miselia fungi ektomikoriza generalis biasanya tersebar luas di tanah hutan (Nara 2006b), sehingga dapat dengan cepat mengkolonisasi semai (Matsuda & Hijii 2004). Menurut Nara (2006a), pertumbuhan bibit rehabilitasi meningkat secara signifikan setelah bibit terhubung ke jaringan ektomikoriza yang banyak dibentuk oleh fungi ektomikoriza generalis.

Terbentuknya multi inang tidak terlepas dari tingkat spesifisitas suatu inang (Murata et al. 2013; Roy-Bolduc et al. 2016). Menurut Reddy & Pandey (2006), spesifisitas inang dan kemampuan kolonisasi fungi mikoriza secara bersama turut mendukung keberhasilan simbiosis. Spesifisitas yang rendah pada inang turut mendukung potensi asosiasi sehingga tanaman mempunyai daya tahan hidup yang tinggi (Molina & Horton 2015). Dalam hal ini, jenis dipterocarpaceae mempunyai kecenderungan spesifisitas yang rendah seperti halnya dijumpai Yuwa-Amornpitak et al. (2006) dan Brearley (2012), bahkan Brearley et al. (2016) menyebutkan dipterocarpaceae tidak mempunyai spesifisitas. Hal

ini sesuai dengan pendapat Ishida et al. (2007) dan Tedersoo et al. (2008) yang menyebutkan bahwa pola hubungan asosiasi antara fungi ektomikoriza dengan inangnya dipengaruhi oleh identitas inang tanaman dan kecil kemungkinan terbentuknya multi inang jika terjadi peningkatan jarak filogenetik pada inang. Oleh karenanya, rendahnya spesifisitas dipterocarpaceae terkait dengan kedekatan antar genus, seperti genus *Anisoptera* mempunyai kekerabatan dengan genus *Dipterocarpus* (Cao et al. 2006) dan *Cotylelobium* (Indrioko et al. 2006). Pada suku Shoreae, *Parashorea* mempunyai garis kekerabatan dengan *Shorea* (Indrioko et al. 2006).

Keberadaan jenis-jenis fungi ektomikoriza yang mampu berasosiasi secara multi inang dengan dipterocarpaceae merupakan modal alami upaya rehabilitasi hutan tropis. Jika potensi inokulum jenis-jenis tersebut diketahui memadai untuk mendukung regenerasi alami, maka upaya rehabilitasi dimungkinkan tidak memerlukan bantuan inokulasi. Namun pada kondisi hutan yang sangat terdegradasi, inokulasi pada bibit rehabilitasi dapat menggunakan jenis-jenis fungi ektomikoriza yang mampu bermulti inang dengan menerapkan teknologi inokulasi ektomikoriza berbasis multi spesies agar dapat menjamin keberhasilan asosiasi simbiosis.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil identifikasi dengan menggunakan pendekatan molekuler, jenis-jenis fungi ektomikoriza yang berasosiasi dengan dipterocarpaceae di tingkat pohon dan semai adalah fungi ektomikoriza yang mempunyai hubungan kekerabatan dengan kelas Dothideomycetes, ordo Sordariales, Sebaciales, Cantharellales, Russulales, Agaricales, Boletales, dan Thelephorales. Dari jenis-jenis fungi ektomikoriza tersebut ditemukan jenis fungi ektomikoriza yang mempunyai karakter multi inang terhadap dipterocarpaceae, yaitu jenis fungi ektomikoriza yang mempunyai hubungan kekerabatan dengan ordo Thelephorales, Russulales, dan Sebaciales. Multi inang jenis-jenis fungi ektomikoriza tersebut ditemukan pada jenis dan tingkatan pertumbuhan dipterocarpaceae yang berbeda. Jenis fungi ektomikoriza yang ditemukan paling banyak berasosiasi multi inang pada pohon dan semai adalah *Tomentella* sp. dari ordo Thelephorales. Sementara itu, jenis fungi ektomikoriza yang berperan

dalam multi inang di tingkat semai adalah *R. lepidicolor*, *Sebacia* sp. (Sebaciales), dan fungi ektomikoriza dari famili Thelephoraceae.

Daftar Pustaka

- Aponte C, García LV, Marañón T, Gardes M. 2010. Indirect host effect on ectomycorrhizal fungi: Leaf fall and litter quality explain changes in fungal communities on the roots of co-occurring Mediterranean oaks. *Soil Biology and Biochemistry* 42(5):788-796. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.01.014>
- Ashton PS. 2003. Dipterocarpaceae. Hlm. 182-197 dalam *Flowering Plants· Dicotyledons*. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Bayman P, Mosquera-Espinosa AT, Saladini-Aponte CM, Hurtado-Guevara NC, Viera-Ruiz NL. 2016. Age-dependent mycorrhizal specificity in an invasive orchid, *Oeceoclades maculata*. *American Journal of Botany* 103(11):1880-1889. <https://doi.org/10.3732/ajb.1600127>
- Beiler KJ, Durall DM, Simard SW, Maxwell SA, Kretzer AM. 2010. Architecture of the wood-wide web: Rhizopogon spp. Genets link multiple Douglas-fir Cohorts. *The New Phytologist* 185(2):543-553.
- Brearley FQ. 2012. Ectomycorrhizal associations of the dipterocarpaceae. *Biotropica* 44(5):637-648. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7429.2012.00862.x>
- Brearley FQ, Saner P, Uchida A, Burslem DFRP, Hector A, Nilus R, Egli S. 2016. Plant ecology & diversity testing the importance of a common ectomycorrhizal network for dipterocarp seedling growth and survival in tropical forests of Borneo. *Plant Ecology & Diversity*, 9(5-6):563-576. <https://doi.org/10.1080/17550874.2017.1283649>
- Brundrett MC, Bougher N, Dell B, Grove T, Malajczuk N. 1996. Working with mycorrhizas in forestry and agriculture. *ACIAR Monograph*. The Journal of Biological Chemistry 32(June 1982): 374.
- Brundrett MC. 2009. Mycorrhizal associations and other means of nutrition of vascular plants: Understanding the global diversity of host plants by resolving conflicting information and developing reliable means of diagnosis. *Plant and Soil* 320(1-2): 37-77. <https://doi.org/10.1007/s11104-008-9877-9>
- Bruns TD, Bidartondo MI, Taylor DL. 2002. Host specificity in ectomycorrhizal communities: what do the exceptions tell us? *Integrative and Comparative Biology* 42(2) 352-359.
- Cao CP, Gailing O, Siregar I, Indrioko S, Finkeldey R. 2006. Genetic variation at AFLPs for the Dipterocarpaceae and its relation to molecular phylogenies and taxonomic subdivisions. *Journal of Plant Research* 119(5):553-558. <https://doi.org/10.1007/s10265-006-0005-8>
- Dickie IA, Cooper JA, Bufford JL, Hulme PE, Bates ST. 2017. Loss of functional diversity and network modularity in introduced plant-fungal symbioses. *AoB PLANTS* 9(1). <https://doi.org/10.1093/aobpla/plw084>

- Diédhiou AG, Selosse MA, Galiana A, Diabaté M, Dreyfus B, Bâ AM, Béna G. 2010. Multi-host ectomycorrhizal fungi are predominant in a Guinean tropical rainforest and shared between canopy trees and seedlings. *Environmental Microbiology* **12**(8), 2219–2232. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2010.02183.x>
- Essene AL, Shek KL, Lewis JD, Peay KG, Mcguire KL. 2017. Soil type has a stronger role than dipterocarp host species in shaping the ectomycorrhizal fungal community in a Bornean lowland tropical rain forest. *Frontiers in Plant Science* **8**: 1–10. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01828>
- Fleming LV. 1984. Effects of soil trenching and coring on the formation of ectomycorrhizas on birch seedlings grown around mature trees. *New Phytologist* **98**(1): 143–153.
- Glassman SI, Lubetkin KC, Chung JA, Bruns TD. 2017. The theory of island biogeography applies to ectomycorrhizal fungi in subalpine tree “islands” at a fine scale. *Ecosphere* **8**(2). <https://doi.org/10.1002/ecs2.1677>
- Hankin SL, Karst J, Landhäuser SM. 2015. Influence of tree species and salvaged soils on the recovery of ectomycorrhizal fungi in upland boreal forest restoration after surface mining. *Botany* **93**(5):267–277. <https://doi.org/10.1139/cjb-2014-0132>
- Indrioko S, Gailing O, Finkeldey R. 2006. Molecular phylogeny of Dipterocarpaceae in Indonesia based on chloroplast DNA. *Plant Systematics and Evolution* **261**(1–4):99–115. <https://doi.org/10.1007/s00606-006-0435-8>
- Ishida TA, Nara K, Hogetsu T. 2007. Host effects on ectomycorrhizal fungal communities: Insight from eight host species in mixed conifer-broadleaf forests. *New Phytologist* **174**(2):430–440. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02016.x>
- Jeong H, Lee Y, Eom A, Lee C. 2006. Identification of ectomycorrhizal fungi from *Pinus densiflora* seedlings at an abandoned coal mining spoils. *Journal of Ecology and Field Biology* **29**(2):143–149. <https://doi.org/10.5141/JEFB.2006.29.2.143>
- Kaewgrajang T, Sangwanit U, Kodama M, Yamato M. 2014. Ectomycorrhizal fungal communities of *Dipterocarpus alatus* seedlings introduced by soil inocula from a natural forest and a plantation. *Journal of Forest Research* **19**(2):260–267. <https://doi.org/10.1007/s10310-013-0408-z>
- Kałucka IL, Jagodziński AM. 2016. Successional traits of ectomycorrhizal fungi in forest reclamation after surface mining and agricultural disturbances: A review. *Den-drobiology* **76**(C):91–104. <https://doi.org/10.12657/denbio.076.009>
- Kettle CJ. 2010. Ecological considerations for using dipterocarps for restoration of lowland rainforest in Southeast Asia. *Biodiversity and Conservation* **19**(4):1137–1151. <https://doi.org/10.1007/s10531-009-9772-6>
- Lee LS, Alexander IJ, Watling R. 1997. Ectomycorrhizas and putative ectomycorrhizal fungi of *Shorea leprosula* miq. (Dipterocarpaceae). *Mycorrhiza* **7**(2):63–81. <https://doi.org/10.1007/s005720050165>
- Lee SS, Alexander IJ. 1996. The dynamics of ectomycorrhizal infection of *Shorea leprosula* seedlings in Malaysian rain forests. *New Phytologist* **132**(2): 297–305. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1996.tb01849.x>
- Liao H, Chen Y, Vilgalys R. 2016. Metatranscriptomic study of common and host-specific patterns of gene expression between pines and their symbiotic ectomycorrhizal fungi in the genus *Suillus*. *Plos Genetics* **12**(10):1–24. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006348>
- Lindahl BD, Tunlid A. 2015. Tansley insight ectomycorrhizal fungi – potential organic matter decomposers , yet not saprotrophs. *New Phytologist* **205**:1443–1447.
- Malysheva EF, Malysheva VF, Kovalenko AE, Pimenova EA, Gromyko MN, Voronina EY. 2016. Below-ground ectomycorrhizal community structure in the postfire successional *Pinus koraiensis* forests in the Central Sikhote-Alin (the Russian Far East). *Botanica Pacifica* (January). <https://doi.org/10.17581/bp.2016.05102>
- Matsuda Y, Hiji N. 2004. Ectomycorrhizal fungal communities in an *Abies firma* forest, with special reference to ectomycorrhizal associations between seedlings and mature trees. *Canadian Journal of Botany* **82**(6):822–829. <https://doi.org/10.1139/b04-065>
- Murata M, Kinoshita A, Nara K. 2013. Revisiting the host effect on ectomycorrhizal fungal communities: Implications from host-fungal associations in relict *Pseudotsuga japonica* forests. *Mycorrhiza* **23**(8): 641–653. <https://doi.org/10.1007/s00572-013-0504-0>
- Nara K. 2006a. Ectomycorrhizal networks and seedling establishment during early primary succession. *New Phytologist* **169**(1): 169–178. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01545.x>
- Nara K. 2006b. Pioneer dwarf willow may facilitate tree succession by providing late colonizers with compatible ectomycorrhizal fungi in a primary successional volcanic desert. *New Phytologist* **171**: 187–198.
- Nara K. 2009. Spores of ectomycorrhizal fungi: ecological strategies for germination and dormancy. *New Phytologist* **181**(2):243–245.
- Paoli GD, Curran L M, Zak DR. 2006. Soil nutrients and beta diversity in the Bornean Dipterocarpaceae: evidence for niche partitioning by tropical rain forest trees. *Journal of Ecology* **94**(1):157–170. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2005.01077.x>
- Peay K G, Kennedy PG, Davies SJ, Tan S, Bruns TD. 2010. Potential link between plant and fungal distributions in a dipterocarp rainforest: Community and phylogenetic structure of tropical ectomycorrhizal fungi across a plant and soil ecotone. *New Phytologist* **185**(2):529–542. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.03075.x>
- Ramanankierana H, Baohanta R, Randriambanona H, Prin Y, Rakotoarimanga N, Baudoin E, Robin D. 2014. Ectomycorrhizal fungi on the early colonizing shrub *Sarcocolaena oblongifolia* F . facilitate the establishment of an endemic tree *Uapaca bojeri* L . in Madagascarian highland forests. *International Journal of Ecology and Ecosolution* **1**(1):1–15.

- Redecker D, Szaro TM, Bowman RJ, Bruns TD. 2001. Small genets of *Lactarius xanthogalactus*, *Russula cremoricolor*, and *Amanita francheti* in late-stage ectomycorrhizal successions. *Molecular Ecology* **10**(4):1025–1034.
- Roy-Bolduc A, Laliberté E, Hijri M. 2016. High richness of ectomycorrhizal fungi and low host specificity in a coastal sand dune ecosystem revealed by network analysis. *Ecology and Evolution* **6**(1):349–362. <https://doi.org/10.1002/ece3.1881>
- Roy M, Watthana S, Stier A, Richard F, Vessabutr S, Selosse M-A. 2009. Two mycoheterotrophic orchids from Thailand tropical dipterocarpacean forests associate with a broad diversity of ectomycorrhizal fungi. *BMC Biology* **7**:51. <https://doi.org/10.1186/1741-7007-7-51>
- Selosse MA, Richard F, He X, Simard SW. 2006. Mycorrhizal networks: des liaisons dangereuses? *Trends in Ecology and Evolution* **21**(11):621–628. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2006.07.003>
- Séne S, Avril R, Chaintreuil C, Geoffroy A, Ndiaye C, Diédhiou AG, Bâ A. 2015. Ectomycorrhizal fungal communities of *Coccoloba uvifera* (L.) L. mature trees and seedlings in the neotropical coastal forests of Guadeloupe (Lesser Antilles). *Mycorrhiza* **25**(7):547–559. <https://doi.org/10.1007/s00572-015-0633-8>
- Simard SW, Beiler KJ, Bingham MA, Deslippe JR, Philip LJ, Teste FP. 2012. Mycorrhizal networks: Mechanisms, ecology and modelling. *Fungal Biology Reviews* **26**(1): 39–60. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2012.01.001>
- Sirikantaramas S, Sugioka N, Lee SS, Mohamed LA, Lee HS, Szmidt AE, Yamazaki T. 2003. Molecular identification of ectomycorrhizal fungi associated with Dipterocarpaceae. *Tropics* **13**(2):69–77.
- Smith ME, Douhan GW, Fremier AK, Rizzo DM. 2009. Are true multihost fungi the exception or the rule? Dominant ectomycorrhizal fungi on *Pinus sabiniana* differ from those on co-occurring *Quercus* Species. *New Phytologist* **182**(2):295–299.
- Smith SE, Read D J. 2008. *Mycorrhizal symbiosis*. 3rd. Academic Press New York, ISBN, 440026354, 605.
- Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Neil M, Kumar S. 2011. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution* **28**(10):2731–2739.
- Tapwal A, Kumar R, Borah D. 2016. Response of mycorrhizal inoculations on *Dipterocarpus retusus* seedlings in nursery Response of mycorrhizal inoculations on *Dipterocarpus retusus* seedlings in nursery. *Current Life Sciences* **2**(1), 1–8.
- Taschen E, Sauve M, Taudiere A, Parlade J, Selosse MA, Richard F. 2015. Whose truffle is this? Distribution patterns of ectomycorrhizal fungal diversity in *Tuber melanosporum* brûlés developed in multi-host Mediterranean plant communities. *Environmental Microbiology* **17**(8): 2747–2761. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12741>
- Tata M. 2008. *Mycorrhizae on dipterocarps in rubber agroforests (RAF) in Sumatra*. University of Utrecht. Retrieved from <http://igitur-archive.library.uu.nl/dissertations/2008-1203-201249/UUindex.html>
- Tedersoo L, Bahram M, Polme S, Koljalg U, Yorou S, Wardle DA, Lindahl BD. 2014. Disentangling global soil fungal diversity. *Science* **346**(6213):1052–1053. <https://doi.org/10.1126/science.1221185>
- Tedersoo L, Jairus T, Horton BM, Abarenkov K, Suvi T, Saar I, Kõljalg U. 2008. Strong host preference of ectomycorrhizal fungi in a Tasmanian wet sclerophyll forest as revealed by DNA barcoding and taxon-specific primers. *New Phytologist* **180**(2):479–490. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02561.x>
- Tedersoo L, Sadam A, Zambrano M, Valencia R, Bahram M. 2010. Low diversity and high host preference of ectomycorrhizal fungi in western Amazonia, a neotropical biodiversity hotspot. *The ISME Journal*, **4**(4): 465–471. <https://doi.org/10.1038/ismej.2009.131>
- Watling R, Lee LS. 1995. Ectomycorrhizal fungi associated with members of the dipterocarpaceae in Peninsular Malaysia-I. *Journal of Tropical Forest Science* **7**(4): 657–669.
- Watling R, Lee SS, & Turnbull, E. 2002. *Tropical mycology volume 1, Macromycetes: The occurrence and distribution of 3 Putative ectomycorrhizal Basidiomycetes in a Regenerating South-east Asian Rainforest (1st ed.)*.
- Ważny R. 2014. Ectomycorrhizal communities associated with silver fir seedlings (*Abies alba* Mill.) differ largely in mature silver fir stands and in Scots pine forecrops. *Annals of Forest Science* **71**(7), 801–810. <https://doi.org/10.1007/s13595-014-0378-0>
- Wen Z, Murata M Xu Z, Chen Y, Nara. 2014. Ectomycorrhizal fungal communities on the endangered Chinese Douglas-fir (*Pseudotsuga sinensis*) indicating regional fungal sharing overrides host conservatism across geographical regions. *Plant and Soil* **387**(1–2):189–199. <https://doi.org/10.1007/s11104-014-2278-3>
- Yuwa-Amornpitak T, Vichitsoonthonkul T, Tanticharoen M, Cheevadhanarak S, Ratchadawong S. 2006. Diversity of ectomycorrhizal fungi on dipterocarpaceae in Thailand. *Journal of Biological Sciences*. <https://doi.org/10.3923/jbs.2006.1059.1064>