

BAKIRA TOLERANSLI MANTARLARIN ÇÜRÜKLÜK MEKANİZMASI

Engin Derya GEZER
Kafkas Üniversitesi, Artvin Orman Fakültesi, 08000 ARTVİN
Ümit C. YILDIZ
Ali TEMİZ
Sibel YILDIZ
Eylem DİZMAN
Karadeniz Teknik Üniversitesi, Orman Fakültesi, 61080 TRABZON

Geliş Tarihi: 24.11.2004

Özet: Bakır içeren CCA, CCB ve AZCA gibi empenye maddeleri mantar ve böceklere karşı etkili olmalarından dolayı uzun yıllardır kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda, CCA ile empenyeli tel direklerinin, arsenik içermesine rağmen, bakıra toleranslı mantarların izole edildiği belirtilmiştir. *Poria* türü mantarlarının bakıra karşı direnç mekanizmasını, bu mantarların suda çözünebilen bakır sülfatı suda çözünmeyen ve mantarlara karşı daha az zehirli olan bakır oksalatlara dönüştürmeleri şeklinde açıklamıştır. Özellikle toprakla temas halinde olan ve çürüklük riskinin yüksek olduğu bölgelerde yıkanma oranının yüksek olması nedeniyle, kullanılan ağaç malzemelerin empenyesinde bu hususlar göz önüne alınmalı ve empenye formülasyonuna ek fungusitlerin ilavesi düşünülebilir.

Anahtar kelimeler: Empenye, Bakır içeren empenye maddeleri, bakıra toleranslı mantarlar, *Poria* türü mantarlar.

DECAY MECHANISMS IN COPPER-TOLERANT FUNGI

Abstract: Copper-based wood preservatives such as CCA, CCB, AZCA, have long been used because of their considerable efficacy. Although copper-based wood preservatives have been widely used for protecting wood against fungal attack, some brown rot and soft rot fungi, have repeatedly been isolated from copper treated wood in service, although CCA contains arsenic which is very toxic to fungi and insects. Copper tolerance in *Poria* species converted soluble copper sulphate into insoluble copper oxalate, which is less toxic to fungi. Especially, wood materials used in ground contact and in the regions where the decay risk of wood materials is higher result in more leaching, these factors should be taken into account and also additional fungicides might be thought to be added into preservatives formulations.

Keywords: Copper-based wood preservatives, copper tolerant fungi, *Poria* species fungi

1. GİRİŞ

Bakır çok düşük konsantrasyonlarda (1-10 µM) birçok canlı organizmalar için önemli bir mikro-besin kaynağıdır ve redoks, elektron alış verişi ve önemli reaksiyonlarla ilgili protein ve birçok metal-enzimlerin ana ögesi (1). Bakırın redoks reaksiyonlarındaki rolü bulunduğu ortamdaki kimyasallara bağımlı olarak Cu⁺¹, den, Cu⁺²,ye dönüşebilme yeteneğine bağlıdır. Buna karşın, bakırın serbest iyonik haldeki yapısı (Cu⁺²) yüksek konsantrasyonlarda mikroorganizmaların hücrelerine karşı çok zehirlidir. Bakırın zehirliliği temel olarak nükleik asitlerin bakırla reaksiyona girip enzimlerin aktif bölgelerinin değişime uğramasında, hücre zarı bileşenlerinin oksitlenmesinde ve işlem sırasında bakırın serbest hidroksil radikalleri oluşturması yeteneğinden kaynaklanmaktadır (2-4). Organik bakır kompleksleri nispeten mikroorganizmalara karşı zehirsizdir (4).

Bakır içeren CCA, CCB ve AZCA gibi empenye maddeleri mantar ve böceklere karşı etkili olmalarından dolayı uzun yıllardır kullanılmaktadır. Bakırın mantarlara karşı etkinliği genellikle proteinlerin bakır tarafından çökeltilmesi ve hayati önemdeki enzimatik reaksiyonları engellenmesinden kaynaklandığı bildirilmektedir (5). Bununla birlikte, bakır iyonlarının kolayca

reaksiyona girmeleri ve hücrede reaksiyona girecek bölgelerin çok fazla sayıda olması nedeniyle, bakırın zehirliliği mantarın hücre metabolizmasıyla sınırlı değildir.

2. BAKIRA TOLERANSLI MANTARLARIN ÇÜRÜKLÜK MEKANİZMASI

2.1. Esmer Çürüklük Mantarları

Yukarda belirtilen bakır içeren emprenye maddeleri uzun yıllardır çok yaygın kullanılmasına rağmen bazı esmer ve yumuşak çürüklük mantarları kullanımda olan emprenyeli malzemelerden defalarca izole ve teşhis edilmiştir (6-8). Bakıra karşı tolerans, genellikle esmer çürüklük mantarlarıyla ilişkilendirilmektedir (9). Esmer çürüklük mantarlarının en önemli ayırt edici biyokimyasal özelliklerinden birisi de bunların büyük bir bölümünün oksalik asit üretmesidir. Esmer çürüklük mantarları tarafından üretilen oksalatlar birkaç araştırmacı tarafından tespit edilmiştir (10-12). Bununla birlikte, oksalik asidin mantar metabolizmasındaki rolü tam olarak henüz açıklanamamaktadır. Schmidt ve arkadaşları, enzimatik olmayan çürüklüklerde oksalik asitin rolünü açıklamışlardır. Oksalik asit özetle demirin doğrudan indirgenmesiyle katalik bir rol oynadığını, bununla da selülozun depolimerizasyonu ile açıklanan Fenton ($Fe^{++}+H_2O_2$) hipotezine dayandırılmaktadır (13). Bununla birlikte, Hyde ve Wood oksalatın demir iyonunu indirgemediği ve bu durumun sadece ışığa bağımlı bir reaksiyon olduğunu bildirmişlerdir. Bundan dolayı, oksalatın odunda doğrudan Fenton tipi bir kimyasal reaksiyon katalizörü olarak fonksiyon gösteremeyeceğini ifade etmişlerdir (14). Bech-Anderson, ligninin ve selülozun nispeten asitlere karşı direnç göstermesi, bunun yanında hemiselülozlar asidik koşullarda oldukça kolay hidroliz olmasından dolayı, esmer çürüklük mantarları tarafından üretilen oksalik asitin odundaki hemiselülozları hidrolize uğratan ve odun çürüklüğüne neden olan enzimlerin selüloza ve sudan çözünen şekerlere daha kolay ulaşmasına neden olan bir araçtır. Bunun sonucunda da odunda sadece ligninin kalmasına neden olduğunu belirtmiştir (11). Green ve arkadaşları ile Shimada ve arkadaşları da benzer şekilde, oksalik asidin güçlü asit olmasında dolayı, oksalik asidin bazı hücre çeperi bileşenlerinin hidrolize olmasına neden olduğunu ve oksalik asitle modifiye edilmiş odunun modifiye olmamış olan oduna nazaran enzimlere karşı dirençlerinin daha az olduğunu bildirmişlerdir (15,16).

Odunu tahrip eden Basidiomycetes mantarları tarafından üretilen oksalik asit oksalat tuzları yapısındadır ve en yaygın olanı da kalsiyum oksalat dihidrattır. Bununla birlikte, kalsiyum oksalat çökmesinin fonksiyonel önemi henüz tam olarak açıklanamamaktadır. Bech-Anderson, kalsiyum oksalat üretiminin nedenini mantar tarafından üretilen oksalik asidi nötr hale gelmesini sağlamak olduğunu açıklamaktadır. Böylece mantar kendisine herhangi bir zarar vermeden oksalik asit üretimine devam etmeyi başarmaktadır (11). Kalsiyum çoğunlukla odunda en fazla bulunan metaldir. Kalsiyum hücre içerisinde çok sıkı şekilde kontrol altında tutulur ve dışardan ilave edilen kalsiyum konsantrasyonları modifikasyona uğratarak kalsiyum oksalata dönüştürülür (17).

2.2. Bakıra Toleranslı Mantarlar

Esmer çürüklük mantarlarının yanında *Coriolus versicolor*, *Heterobasidion annosum*, *Pleurotus florida* and *Phanerochaete chrysosporium* gibi bazı beyaz çürüklük mantarlarının da sıvı besin ortamında oksalat ürettikleri tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda mantarların aktif büyüme sürecindeki oksalat birikiminin çok az olduğu bildirilmiştir (18). Buna

ilaveten, oksalat birikimin esmer çürüklük mantarları tarafından üretilen oksalatların aksine besin ortamının pH'sını düşürmediği rapor edilmiştir (18).

Uzun yıllardır bakıra karşı dirençli olan mantarların mekanizmasını aydınlatmak üzere birçok çalışma yürütülmesine rağmen, bakır ve odunu tahrip eden bakıra karşı dirençli mantarlar arasındaki ilişki ve mekanizma henüz tam olarak açıklanamamıştır. *Postia* türü bakıra toleranslı mantarlar üzerine birkaç araştırmacı çeşitli çalışmalar yürütmüşlerdir (8,10,19). Levi, *P. incrassata* (Berk. & Curtis) Burt. and *P. vaporatii* mantarlarının bakıra karşı direnç mekanizmasını, bu mantarların suda çözünebilir bakır sülfatı suda çözünmeyen ve mantarlara karşı daha az zehirli olan bakır oksalatlara dönüştürmeleri şeklinde açıklamıştır (8). Levi (8) ve Chou (19), *P. placenta* Murr. mantarı için benzer mekanizmayı tespit ederlerken, *P. vaillantii* mantarı için bu mekanizmanın olmadığını bildirmişlerdir. Levi, *P. vaillantii* mantarının hüflerinin civarında mikro kristal yapılar tespit etmiştir ve bu yapıların bakır sülfat olduğu düşünülmektedir (8). Buna ilaveten, Levi, sıvı besin ortamının pH'sının düşmesiyle mantarın bakır sülfata karşı direncinin arttığını ve verilen bakır sülfat konsantrasyonunda mantarın büyüme hızının arttığını görsel olarak gözlemlemiştir (8). Chou da benzer sonuçları tespit etmiş ve *P. vaillantii* mantarının sitoplazmasında dağılmış olarak sülfür, fosfor ve bakır granüllerini (taneciklerini) bulmuştur (19). Bununla birlikte, mantar, odun örneklerinde büyüdüğünde bakır oksalat ve bakır sülfat kristalleri veya tanecikleri tespit edilememiştir. Levi, bakır oksalatın odunu tahrip eden; *P. monticola*, *P. vaporaria*, *Coniophora cerebella* ve *Lenzites trabea* mantarlarına karşı zehirliliğini test etmiş ve bütün mantarlar için bakır oksalatın bakır sülfata oranla daha az zehirli olduğunu bildirmiştir. Bununla birlikte, bakır oksalat da bu çalışma kapsamında kullanılan mantarların büyümesini yavaşlatmış ve engellemiştir (8).

Bir başka çalışmada, Sutter ve arkadaşları, *P. placenta* (Fr.) ve *P. vaillantii* (Pers.) Fr mantarlarının bakıra karşı direnç mekanizmasını çam diri odunundan alınan teğet ince olarak kesilmiş örnekler bakır sülfat pentahidrat veya bakır naftenat ile emprenye ederek araştırmışlardır (10). Her iki mantarın da bakırı bakır oksalata çökelterek bakırı çözünürlüğü daha az olan bakır komplekslerine dönüştürdükleri bildirilmiştir. Ayrıca tespit edilen bakır oksalat kristallerinin lümenler içerisinde depolandığı ve odunun yüzeyine taşındığı tespit edilmiştir. Birçok araştırmacının bakır oksalat kristallerinin çözünürlüğünün düşük olduğunu bildirmesiyle birlikte, Morrell yaptığı çalışmada, tespit edilen kristallerin de yıkanmaya karşı hassas olduğunu ve bunun da bakırın büyük oranda yıkanmasına neden olabileceğini bildirmiştir (20).

Sutter ve Jones, *Postia* (*P. placenta* ve *P. vaillantii*) ve *Phialophora* (*Ph. malorum* ve *Ph. mutabilis*) türü mantarların bakıra karşı tolerans mekanizmalarını araştırmışlar ve her tür için farklı bir mekanizmanın olduğunu bildirmişlerdir (10). *Postia* türü mantarlarda da bakıra karşı direnç mekanizması, daha önceki araştırmacıların da belirttiği gibi, bakırın oksalata çökmesi şeklinde gerçekleşirken, bakıra toleranslı olan *Phialophora* türü mantarlar bakır içeren besin ortamında oldukça zayıf bir gelişim göstermişlerdir, ancak bunların hayatlarını uzun süre devam ettirebildikleri bildirilmiştir (10).

Daniel ve Nilson, *Phialophora* türü mantarların bakır, arsenik veya bakır-krom-arsenik (CCA) ilavesiyle hazırlanan besin ortamında farklı büyüme hızı ve kapasitesi gösterdiğini gözlemlemiştir (21). Ayrıca, Boliden K33 emprenye maddesiyle emprenye edilen kayın örneklerinde *Phialophora* türü mantarlarının 7.5 ay sonunda K33'ü çok iyi bozundurma kapasitesine sahip olduklarını tespit etmişlerdir. Ancak, çam odunu örnekleri mantar miselleri tarafından tamamen sarılmasına rağmen, *Phialophora* türü mantarların odunda herhangi bir tahribat söz konusu olmamıştır (21).

Duncan, toluen esaslı çözücüler kullanarak bakır naftenatla empenye edilen örneklerin bazı esmer çürüklük mantarlarına maruz bırakılması durumunda yüksek bakır konsantrasyonlarında (0.085-0.175 pcf) empenye edilen örneklerde yüksek oranda ağırlık kayıpları tespit etmiştir. Bakır bileşikleri petrol ürünleri kullanılarak çözündürüldüğünde yıkanmaya karşı daha fazla hassas olduğunu bildirmiştir (22). Williams ve Fox, bazı bakır esaslı empenye maddelerinin bakıra karşı dirençli olan bazı esmer çürüklük mantarlarına karşı performanslarını araştırmışlardır. Özellikle amonyak esaslı bakır içeren empenye maddeleri kullanıldığında amonyak nedeniyle mantarlar için oluşan avantajlı durumun daha yüksek bakır konsantrasyonu ilavesiyle giderilmesi gerektiğini bildirmişlerdir (23).

Son yıllarda arsenik içeren empenye maddelerinin çevreye karşı zararlarından dolayı artan kaygı ve baskılar nedeniyle arsenik içermeyen bakır esaslı empenye maddeleri kullanılmaya başlanmıştır. Green III ve Clausen, bakır sitrat (CC bakır-krom) empenye maddesiyle sarı çam örneklerini empenye ederek 15 esmer çürüklük mantarına maruz bırakmış ve mantarların oksalik asit üretimini belirlemişlerdir (24). Bu çalışmada, 10. haftanın sonunda odun örneklerinde % 20-55 arasında ağırlık kaybı tespit edilmiştir. Kullanılan 15 mantarın 10 tanesinin bakıra toleranslı olduğu ve iki tanesinin de bakıra karşı hassas olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, ilk iki haftada mantarlar tarafından üretilen oksalik asitin o mantarın bakıra karşı toleransının bir göstergesi olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışma kapsamında kullanılan mantarlardan *Antrodia vaillantii* mantarının bakıra karşı en fazla dirençli tür olduğu, bakıra karşı en hassas mantarın ise *Tyromyces palustris* olduğu bildirilmiştir. Bu araştırmanın sonucunda ortaya çıkan en önemli nokta ise ağaç malzemenin çürüklük riskinin yüksek olduğu ve toprakla temas halindeki ağaç malzemelerin CC ile empenye edilerek kullanılması durumunda, bu maddelerin bakıra toleranslı mantarlara karşı hassas olması nedeniyle daha yüksek konsantrasyonla empenye edilmesi gerekliliği veya arseniğin yerine başka bir kimyasal maddenin ilavesi gerekliliğini ortaya koymasındadır (25).

Bakıra toleranslı mantarlar tarafından odunda bakır oksalat kristallerinin çökmesi ve esmer çürüklük mantarları tarafından oksalik asidin üretilmesi bakıra karşı mantarların tolerans mekanizmasında oksalik asidin rolü olduğu daha önce yapılan çalışmalarda bildirilmiştir. Son yıllarda bakır esaslı odun koruyucu maddelerin kullanımının artması nedeniyle, bakıra toleranslı mantarların mekanizmasında oksalik asidin rolünü ortaya koymak önemlidir. Clausen ve Green III tarafından yapılan çalışmada, bakıra karşı toleranslı dört esmer çürüklük mantarların (*Poria placenta*, *M. incrassata*, *W. cocos* ve *A. vaillantii*) ACQ-B, ACQ-D, CC (bakır-krom (bakır-sitrat)), CCA ve organik çözücülerde çözünen bakır esaslı (oksin bakır) empenye maddeleri ile empenyeli sarıçam örneklerindeki çürüklük kapasiteleri ve bu mantarlara maruz bırakılan empenyeli örneklerde başlangıç aşamasındaki oksalik asit üretimi değerlendirilmiştir (26). Emprenyeli odun örneklerindeki ağırlık kayıpları dördüncü haftanın sonunda %14'den daha az gerçekleşmiştir. Bakır mevcudiyetinde, örnekler mantarlara maruz bırakıldıktan sonra ikinci haftanın sonunda, mantarlar tarafından üretilen oksalik asit miktarının empenyesiz kontrol örneklerine oranla %66 ile %93 arasında daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Oksin bakır empenye maddesi hem mantarların örneklerde neden olduğu ağırlık kayıplarını hem de mantarlar tarafından üretilen oksalik asidi önlemiştir (26).

3. SONUÇLAR

Bakır içeren CCA, CCB ve AZCA gibi empenye maddeleri mantar ve böceklerle karşı etkili olmalarından dolayı uzun yıllardır kullanılmaktadır. CCA'nın formülasyonunda arsenik

bulunmasının nedeni; arseniğin böceklerin ve bakıra karşı toleranslı mantarların tahribatını önlemektir. Yapılan çalışmalarda; CCA ile emprenyeli tel direklerinde bile, arsenik içermesine rağmen, bakıra toleranslı mantarların izole edildiği belirtilmiştir. Doğu Karadeniz Bölgesi gibi toprakla temasın ve çürüklük riskinin yüksek olduğu yerlerde, bakırın yıkanma oranının yüksek olması nedeniyle mantar tahribatına daha kolay zemin hazırlamaktadır. Bu nedenle, Doğu Karadeniz Bölgesinin iklim özellikleri ve toprak özellikleri dış ortamda kullanılan ağaç malzemenin çürüme riskini artırdığından, emprenye işleminin ve kullanılan koruyucu madde bileşiminin uygun olması temin edilmelidir.

KAYNAKLAR

1. Kihn, J.C., Mestdagh, M.M., Rouxhet, P.G., ESR Study of Copper (II) Retention by Entire Cells, Cell Walls, and Protoplasts of *Saccharomyces cerevisiae*, Canadian Journal of Microbiology, 33 (1987) 777-782.
2. Sutter, H.P., Jones, E.B.G., Walchli, O., Occurrence of Crystalline Hyphal Sheaths in *Poria Placenta* (Fr.) Cke., Applied and Environmental Microbiology, 24 (1985) 19-23.
3. Avery, S.V., Howlett, N.G., Radice, S., Copper Toxicity Towards *Saccharomyces cerevisiae*: Dependence on Plasma Membrane Fatty Acid Composition, Applied and Environmental Microbiology, 62 (1996) 3960-3966.
4. Cervantes, C., Corona, F.G., Copper Resistance Mechanisms in Bacteria and Fungi, FEMS Microbiology Reviews, 14 (1994) 121-138.
5. Sutter, H.P., Jones, E.B.G., Interaction Copper and Wood Degrading Fungi, B.W.P.A Annual Convection, UK, 1985.
6. Young, G.Y., Copper Tolerance of Wood-Rotting Fungi, USDA, Forest Products Lab. Report no: 2223, Madison, WI, 1961.
7. Da Costa, E.W.B., Kerruish, R.M., Tolerance of *Poria* Species to Copper-Based Wood Preservatives, Forest Products Journal, 4 (1964) 106-112.
8. Lewi, M.P., The Mechanism of Action of Copper-Chrome-Arsenate Preservatives Against Wood-Destroying Fungi, B.W.P.A Annual Convection, 113-127, London, UK, 1969.
9. Shimada, M., Akatmatsu, Y., Ma, D.B., Takahashi, M., New Biochemical; Aspects of Oxalic Acid Production and Decomposition by Wood Destroying Fungi, 5th International Conference on Biotechnology in the Pulp and Paper Industry, 1992, Kyoto, Japan.
10. Sutter, H.P., Jones, E.B.G., Walchli, O., The Mechanism of Copper Tolerance in *Poria placenta* (Fr.)Cke. and *Poria vaillantii* (Pers.) Fr., Material und Organismen, 18 (4) (1983) 241-262.
11. Bech-Anderson, J., Production and Neutralization of Oxalic Acid Produced by the Dry Rot Fungus and Other Brown Rot Fungi, International Research Group on Wood Preservation 18th Annual Meeting, Stockholm, Sweden, 1987, IRG/WP 87-1330.

12. Illman, B.L., Meinholtz, D.C., Highly, T.L., Generation of Hydroxyl Radical by the Brown Rot Fungus, *Postia placenta*, International Research Group on Wood Preservation 19th Annual Meeting, Sweden, 1988, IRG/WP 88-1360.
13. Schmidt, C.J., Whitten, B.K., Nicholas, D.D., A Proposed Role For Oxalic Acid in Non-Enzymatic Wood Decay by Brown Rot Fungi, *AWPA*, 77 (1981) 157-164.
14. Hyde, S.M., Wood, P.M., A Model For Attack at a Distance From the Hyphae Based on Studies With the Brown Rot *Coniophora puteana*, International Research Group on Wood Preservation 26th Annual Meeting, Sweden, 1995, IRG/WP 95-10104.
15. Green III, F., Clausen, C.A., Larsen, M.J., Highly, T.L., Immuno-Scanning Electron Microscopic Localization of Extracellular Wood-Degrading Enzymes Within the Fibrillar Sheath of the Brown Rot Fungus *Postia placenta*, *Canadian Journal of Microbiology*, 38 (1992) 898-904.
16. Shimada, M., Akamatsu, Y., Otha, A., Takahashi, M., Biochemical Relationships Between Biodegradation of Cellulose and Formation of Oxalic Acid in Brown Rot Decay, International Research Group on Wood Preservation 22nd Annual Meeting, Sweden, 1991, IRG/WP 91-1472.
17. Connolly, J.H., Jellison, J., Oxalate Production and Calcium Oxalate Accumulation by *Gloeophyllum trabeum* in Buffered Cultures, International Research Group on Wood Preservation 25th Annual Meeting, Sweden, 1994, IRG/WP 94-10075.
18. Dutton, M.V., Evans, C.S., Atkey, P.T., Wood, D.A., Oxalate Production by Basidiomycetes, Including the White-Rot Species *Coriolus versicolor* and *Phanerochaete chrysosporium*, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 39 (1993) 5-10.
19. Chou, G.K., Chandler J.A., Preston, R.D., Uptake of Metal Toxicants by Fungal Hyphae Colonising CCA-Impregnated Wood, *Wood Science and Technology*, 7 (1973) 206-211.
20. Morrell, J.J., Copper Tolerant Fungi: a Brief Review of Their Effects and Distribution, American Wood Preservers' Association reprints, Appendix B, Madison, WI, 1989.
21. Daniel, G.F., Nilson, T., Studies on Preservative Tolerant Species, *International Biodeterioration*, 24 (1988) 327-335.
22. Duncan, C.G., Evaluating Wood Preservatives by Soil-Block Tests: 10. Effect of Species of Wood on Preservative Threshold Values. *Proceedings American Wood Preserver's Association*. 54(1958):172-177.
23. Williams, G.R., Fox, R.F., The Control of Copper Tolerant Basidiomycete Fungi in Preservative Treated Wood in Ground Contact, *Proceeding American Wood Preservers' Association*, 90 (1994) 156-176.
24. Green III, F., Clausen, C.A., Oxalic Acid Production of Fifteen Brown-Rot Fungi in Copper- Citrate- Treated Shouthern Yellow Pine, International Research Group on Wood Preservation 32nd Annual Meeting, Nara, Japan, 2001, IRG/WP 01-40112.

25. Clausen, A.C., Green III, F., Oxalic Acid Overproduction by Copper-Tolerant Brown-Rot Basidiomycetes on Southern Yellow Pine Treated With Copper-Based Preservatives, *International Biodeterioration and Biodegradation*, 51 (2003) 139-144.
26. Green III, F., Clausen, C.A., Copper Tolerance of Brown-Rot Fungi: Time Course of Oxalic Acid Production, *International Biodeterioration and Biodegradation*, 51 (2003) 145-149.