

**Wpływ dwunitro-orto-krezolu (DNOC) na fizjologię
i morfologię grzybów glebowych**
**IV. Oddziaływanie różnych stężeń DNOC
na morfologię strzępek dojrzewającego mycelium oraz kolonii**

TERESA KORNIŁŁOWICZ

Instytut Gleboznawstwa i Chemii Rolnej Akademii Rolniczej w Lublinie

Korniłłowicz T. (Institute of Soil Science and Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture, Agricultural Academy, 20-069 Lublin, Leszczyńskiego 7, Poland): *Effects of dinitroorthocresol (DNOC) on physiology and morphology of soil fungi. IV. The effect of various concentrations of DNOC on morphology of developing hyphae and colonies. Acta Mycol. 21 (1): 3-12, 1985.*

Low doses of DNOC (1 - 10 mcg/ml) caused morphological and anatomical changes of vegetative hyphae and conidiophores of some soil fungi. These changes in hyphae were connected with changes in structure of fungi colonies. Sporulation of fungi was stopped in the presence of low DNOC concentrations — approached to field doses.

WSTĘP

Wiele pestycydów o różnej budowie i mechanizmie działania wywołuje zmiany w morfologii grzybów — często o podobnym charakterze (Verdcourt 1952; Imszeniecki, Piotrowa 1957; Brian 1960; Sharples 1963; Bent, Moor 1966; Barathova i wsp. 1969; Sherald i wsp. 1973; Jakubowska, Nowak 1973; Strzelczyk 1968; 1975; 1976; Gorska-Poczopko 1977; Korniłłowicz i wsp. 1979; Korniłłowicz 1982c). W indukcji zmian morfologicznych i cytologicznych grzybów znaczną aktywnością odznaczają się połączenia fenolowe, zwłaszcza z grupy chlorofenoli (Verdcourt 1952; Imszeniecki, Piotrowa 1957; Bent, Moor 1966; Strzelczyk 1968, 1975, 1976). Z badań zamieszczonych w poprzedniej części pracy (Korniłłowicz 1982c) wynika, że również nitropochodne fenolu takie jak dwunitro-orto-krezol wywołują zniekształcenie kiełkujących zarodników i strzępek rostkowych grzybów.

W niniejszej pracy opisano charakter morfologicznych i anatomicznych zmian kolonii oraz strzępek dojrzewającej grzybni, odznaczających się redukcją przyrostu biomasy grzybni w obecności niskich dawek DNOC (Korniłowicz 1982a).

MATERIAŁ I METODY

Do badań użyto 19 szczepów grzybów glebowych wybranych spośród 50 wrażliwych na dwunitro-orto-krezol (Korniłowicz 1982a). W wyborze materiału szczepowego zastosowano kryteria selekcji przyjęte w poprzedniej pracy (Korniłowicz 1982c). Użyto szczepy następujących grzybów: *Rhizopus nigricans*, *Penicillium purpurogenum*, *Aspergillus niger*, *Mucor mucedo*, *M. griseo-cyanus*, *Mucor sp.* i *Penicillium sp.*

Rozcieńczenia DNOC, tak jak i poprzednio (Korniłowicz 1982c) wykonywano początkowo w 0,1 n NaOH, a następnie w wodzie (roztwory wyjściowe). Zastosowano dawki DNOC (w mcg/ml): 1; 5; 10; 25; 50 oraz dodatkowo 75 i 100.

Hodowle grzybów z rodziny *Mucoraceae* prowadzono na zmodyfikowanej pożywce Saundersa, a pozostałe grzyby hodowano na zmodyfikowanej pożywce Czapek-Dox (Korniłowicz 1982c). We wszystkich przypadkach stosowano stałą objętość pożywki (10 ml) z odpowiednią ilością DNOC. Kontrolę stanowiła pożywka bez preparatu. Jako inokulum używano zawiesiny zarodników.

Do obserwacji morfologii strzępek przygotowywano mikrokultury na krążkach agarowych (Strzelczyk 1968). Badania cytologiczne grzybni prowadzono w hodowlach na płatkach celofanowych (Strzelczyk 1976). Spostrzeżenia dotyczące struktury kolonii wykonywano bezpośrednio na płytkach. Wszystkie hodowle inkubowano w 26°C przez 1-3 dni na celofanie i 14 dni — na agarze. Czas hodowli grzybów był zależny od tempa rozwoju grzyba, stężenia preparatu oraz charakteru prowadzonych obserwacji.

W czasie hodowli grzybów prowadzono makroskopowe i mikroskopowe obserwacje morfologii kolonii, strzępek wegetatywnych i sporoforów (hodowle na agarze) oraz wykonywano preparaty mikroskopowe z hodowli na celofanie, barwiąc grzybnię na obecność jąder metodą Piekarskiego-Robinowa (Gurr 1956). Wpływ DNOC na budowę jąder prześledzono tylko na jednym szczepie (*Mucor mucedo*), co wynikało z dużych trudności w wybarwianiu jąder grzybni rosnącej w obecności dwunitro-orto-krezolu. Wybrany do badań szczep charakteryzował się wyraźnymi zmianami morfologicznymi już w obecności niskich stężeń DNOC.

Uwzględniono następujące cechy grzybów: wielkość i barwę kolonii,

wyniosłość nad podłoże, obecność i strukturę powietrznej grzybni zarodnikującej, morfologię strzępek wegetatywnych i sporotwórczych, intensywność zarodnikowania, rozmieszczenie i wielkość jąder.

Fotografie wykonywano przy stałym powiększeniu mikroskopu wynoszącym 20×10 (morfologia komórek) lub bezpośrednio z płytek (morfologia kolonii).

WYNIKI BADAŃ

Stwierdzono, że zastosowany pestycyd nitrofenolowy (DNOC) wywoływał zmiany morfologiczne rozwijających się strzępek wegetatywnych. Podobnie jak to zanotowano wcześniej (Kornilłowicz 1982c), charakter tych zmian był zależny od stężenia preparatu i przynależności gatunkowej szczepu (tab. 1, ryc. 1 - 4).

Wysokie stężenia DNOC przekraczające 50 mcg/ml wykluczały na ogół rozwój strzępek po skielkowaniu zarodników.

Pod wpływem najniższych dawek dwunitro-orto-krezolu (1 i 5 mcg/ml) większość badanych grzybów nie przejawiała wyraźnej deformacji strzępek wegetatywnych. Jedynie 2 szczepy *Rhizopus nigricans* (nr 1 i 3) już w obecności 5 mcg DNOC/ml odznaczały się nadmiernym rozgałęzieniem, a niekiedy obrzmieniem strzępek (ryc. 1).

Natomiast koncentracje od 10 do 50 mcg DNOC/ml wywoływały wyraźną, pogłębiającą się ze wzrostem stężenia, deformację strzępek wegetatywnych przeważającej liczby badanych mikrogrzybów. Objawiała się ona rozgałęzieniem strzępek oraz ich skróceniem, co szczególnie wyraźnie zaznaczyło się w obrębie *Mucoraceae* (ryc. 1, 2). Tworząca się w obecności DNOC grzybnia wegetatywna była złożona z nabrzmiąłych, wielokrotnie rozgałęziających się skróconych strzępek. Ponadto zauważono, że *Mucor mucedo* w obecności DNOC obok strzępek wytwarzał komórki morfologicznie zbliżone do pączków. Stwierdzono przy tym, że zjawisko to ograniczało się do grzybni stykającej się bezpośrednio z agarrem (ryc. 2B).

Słabiej zaznaczyły się zmiany morfologiczne strzępek wegetatywnych *Penicillium purpurogenum*, *Aspergillus niger* i *Penicillium* sp. hodowanych z DNOC (10- 50 mcg/ml). Grzyby te nie wykazywały obrzmiewania strzępek w obecności tego preparatu, jednakże niektóre z nich (*Aspergillus niger*) wytwarzały skrócone i silnie rozgałęzione strzępki. Szczepy badanych gatunków *Penicillium* w obecności ww. dawek DNOC również przejawiały zahamowanie wzrostu strzępek, nie wykazując jednak widocznej ich deformacji.

W tabeli 1 podano najniższe stężenia DNOC całkowicie hamujące zarodnikowanie wybranych do tych badań grzybów. Obserwacje wykazały, że dawka 5 mcg DNOC/ml powodowała kilkudniowe opóźnienie sporulacji

Tabela 1 - Table 1

Najniższe stężenia DNOC całkowicie hamujące sporulację niektórych gatunków grzybów*

The lowest DNOC concentration wholly totally inhibits sporulation in some fungal species*

Gatunek grzyba Species	Szczep Nr Strain No.	DNOC (mcg/ml)
<i>Rhizopus</i>	1, 3	10
<i>nigricans</i>	4, 5	25
<i>Mucor mucedo</i>	1	10
<i>Mucor griseo-cyanus</i>	1	10
<i>Mucor sp.</i>	1	25
<i>Penicillium</i>	1, 2, 3, 4, 6,	
<i>purpurogenum</i>	7, 8	25
	5	100
<i>Penicillium sp.</i>	1	10
<i>Aspergillus</i>	1, 2	25
<i>niger</i>	3	10

* Przedstawione dane dotyczą tych grzybów (z wyjątkiem *Rhizopus nigricans* szcz. nr 1), które w obecności 5 mcg DNOC/ml podlegały wyraźnej zahamowaniu przyrostu biomasy (Kornilłowicz 1982).

The presented data are given only for fungi (with the exception of *Rhizopus nigricans* strain no. 1) which showed a distinct inhibition of biomass growth in the presence of 5 mcg DNOC (mcg/ml).

w porównaniu z kontrolą. Natomiast 2-krotnie wyższe stężenie tego preparatu nie tylko opóźniało, lecz również osłabiało lub eliminowało zarodnikowanie grzybów. Szczepy *Rhizopus nigricans* i *Mucor sp.* (nr 1) wytwarzały sporangiofory i sporangia o podobnym wyglądzie jak w kontroli, jednak ich liczba była mniejsza. To samo stężenie dwinitro-orto-krezolu redukowało także ilość konidioforów *Aspergillus niger*, które ponadto były „lamliwe”, o wyraźnie zmniejszonych główkach zarodników (ryc. 3). Również izolaty *Penicillium purpurogenum*, mimo braku wyraźnych zmian w liczebności trzonków zarodnikonośnych, przejawiały znaczną redukcję liczby sterygm i konidiów (ryc. 4), a liczba zarodników zazwyczaj wynosiła 1-2 komórki.

Prawie wszystkie zbadane grzyby (18 szczepów) wykazywały całkowite zahamowanie wytwarzania ciał owocowych w obecności 25 mcg DNOC/ml (tab. 1). Wskazuje to na silny fungitoksyczny wpływ tego preparatu. Powyższe fakty świadczą również o tym, że proces sporulacji jest znacznie silniej hamowany przez DNOC niż kiełkowanie zarodników i przyrost biomasy (Kornilłowicz 1982c).

Zebrałe obserwacje wykazały również, że kolonie badanych grzybów

wyrastające w obecności niskich dawek DNOC (5 i 10 mcg/ml) cechowały się zmienioną morfologią w porównaniu z ich wyglądem w kontroli. Były one mniejsze, o brzegach nierównych oraz cechowały się utratą typowej pigmentacji, wywołaną zahamowaniem zarodnikowania.

Obserwowano również zmiany w strukturze grzybni pod wpływem niskich dawek DNOC. Grzybnia *Mucor* sp. (nr 1) i *Mucor mucedo* (nr 1) była niska i zwarta, a szczepów *Rhizopus nigricans* wyraźnie krzaczkowata (ryc. 4), podczas gdy kolonie kontrolne ww. gatunków były wysokie i wełniste lub wełnisto-pajęczynowate (ryc. 4). Badany szczep *Mucor griseo-cyanus* (nr 1) reagował wytworzeniem mniejszych kolonii o niezmienionej strukturze grzybni.

Drastyczne zmiany morfologii i struktury kolonii wystąpiły u szczepów *Aspergillus niger* hodowanych z DNOC w dawce 10 mcg/ml. Objawiało się to charakterystycznym „sfilcowaniem” murawki, tj. zmianą struktury grzybni z puszystej i luźnej na zbitą i aksamitną (ryc. 3). Ponadto pod wpływem ww. dawki zarodnikujące kolonie przybierały barwę żółtą, natomiast kolonie kontrolne miały charakterystyczne czarne zabarwienie.

Kolonie szczepów *Penicillium purpurogenum* i *Penicillium* sp. w obecności 10 mcg DNOC/ml były płaskie o mączystej powierzchni (ryc. 4), podczas gdy kolonie kontrolne charakteryzowały się grzybnią wypukłą i aksamitną (ryc. 4).

W obecności DNOC w stężeniach 25 i 50 mcg/ml kolonie wszystkich badanych grzybów (z wyjątkiem *Penicillium purpurogenum* nr 5) były bardzo małe, zbudowane przeważnie tylko ze zredukowanej, przylegającej do podłoża hialinowej grzybni wegetatywnej.

Stosując wyższego rzędu stężenia dwunitro-orto-krezolu obserwowano powstawanie gwiazdkowatych drobnych „mikrokolonii”, wyrastających prawdopodobnie z bardziej opornych zarodników.

Przeżyciowe obserwacje cytologiczne komórek grzybów potwierdziły zanotowane wcześniej (K o r n i ł o w i c z 1982c) nagromadzenie ziarnistości w cytoplazmie strzępek wegetatywnych rosnących z DNOC — szczególnie w przypadku badanych przedstawicieli *Mucoraceae* (ryc. 1 - 2).

Obserwacje cytologiczne w hodowlach na płatkach celofanowych, wykonane na szczepie *Mucor mucedo* wykazały, że w strzępkach kontrolnych jądra były liczne, drobne, pęcherzykowate i pojedynczo rozmieszczone (ryc. 4), natomiast w strzępkach grzybów hodowanych z DNOC w stężeniu hamującym sporulację (10 mcg/ml) były one wyraźnie powiększone i skupione.

Powyższe spostrzeżenia wskazywałyby na zakłócenie mitozy i tłumaczyłyby hamowanie wzrostu i rozmnażania grzybów hodowanych w środowisku z dwunitro-orto-krezolem.

DYSKUSJA

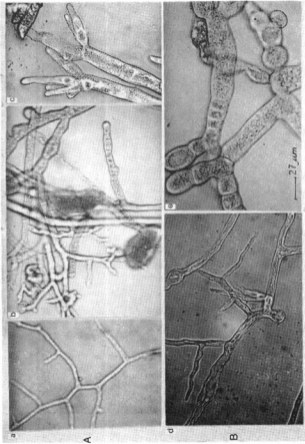
W niniejszej pracy stwierdzono, że dwunitro-orto-krezol odznaczał się wysoką aktywnością fungitoksyczną. Dowodem na to było bardzo silne ograniczenie sporulacji grzybów przez DNOC użyty w dawce zbliżonej do ilości polowych tego pestycydu (10 mcg/ml). Jak to wykazano wcześniej (Kornilłowicz 1982a), użyty nitrofenol cechował się również silnym działaniem mikostatycznym, co objawiało się zahamowaniem przyrostu biomasy przez niskie stężenia DNOC (5 - 10 mcg/ml). O wrażliwości badanych grzybów na DNOC świadczyły także zmiany w intensywności rozwoju kolonii. W obecności stosowanego preparatu nitrofenolowego powstające kolonie były mniejsze niż w kontroli, miały zmieniony wygląd i strukturę grzybni. Zbliżony charakter zmian kolonii grzybów obserwowali Verdcourt (1952) oraz Strzelczyk (1976) w doświadczeniach z *Penicillium corylophilum* i *Mucor christianiensis*. Według opisu wyżej cytowanych autorów kolonie tych grzybów wyrastające w obecności pięciochlorofenolanu sodu były zbite, słabo zarodnikujące lub pozbawione ciał owocowych.

Z nielicznych doświadczeń wynika, że pestycydy z grupy pochodnych fenolu mogą ograniczać sporulację grzybów, co objawia się redukcją liczby sporoforów i mniejszą ilością zarodników. Wskazują na to badania Strzelczyk (1976), która zanotowała zmniejszenie się wielkości sporangiów *Mucor* i liczby konidiów *Penicillium* w obecności pięciochlorofenolanu sodu i p-chloro-m-krezolanu sodu. Z doświadczeń własnych wynika, że również nitrowa pochodna fenolu wywoływała osłabienie lub zahamowanie zarodnikowania badanych grzybów przez redukcję liczby ciał owocowych i konidiów.

Prezentowane wyżej wyniki badań pozwalają przypuszczać, że ograniczenie rozmnażania grzybów w obecności dwunitro-orto-krezolu (niskie dawki) może mieć znaczenie ekologiczne utrudniając, a nawet uniemożliwiając rozprzestrzenienie grzybów przez zarodniki. Ze względu na wydatny udział mikrogrzybów w procesach zachodzących w glebie, wyżej opisane zjawisko byłoby niekorzystne.

Zebrane obserwacje wskazują, że ujemne działanie niskich koncentracji badanego pestycydu (5 - 10 mcg/ml) na rozwój grzybów zaznaczyło się głównie w fazie narastania i różnicowania materiału komórkowego (strzępki). Natomiast (Kornilłowicz 1982c) efekt sporostatycznego i sporobójczego działania DNOC wystąpił przy stężeniach kilkakrotnie wyższych (25 - 200 mcg/ml) od dawek hamujących sporulację (10 mcg/ml).

Z powyższych spostrzeżeń wynika, że grzyby w okresie sporogenezy są znacznie bardziej wrażliwe na DNOC niż w stadium kiełkowania spor. Potwierdza to zanotowaną wcześniej (Kornilłowicz 1982a, c) sil-



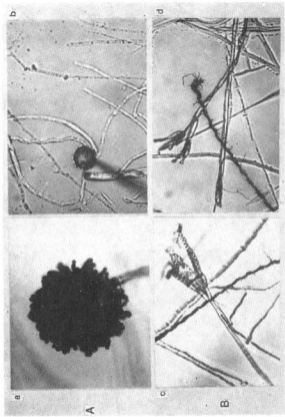
Ryc. 1. Zmiany morfologii strzępek vegetatywnych pod wpływem DNO

Morphology changes of vegetative hyphae in the presence of DNO

A — grzybnia powietrzna *Rhizopus nigricans* szczep nr 1, a — kontrola (hodowla 2-dniowa), b — 5 mg DNO/ml (hodowla 2-dniowa), c — 10 mg DNO/ml (hodowla 24 h), d — kontrola (hodowla 5-15-dniowa), E — kontrola (hodowla 72 h)

A — of air mycelium of *Rhizopus nigricans* (strain no. 1), a — control (2-day old culture), b — 5 mg of DNO/ml (2-day old culture), c — 10 mg of DNO/ml (24-hours old culture), d — control (5-15-day old culture), e — control (72-hours old culture)

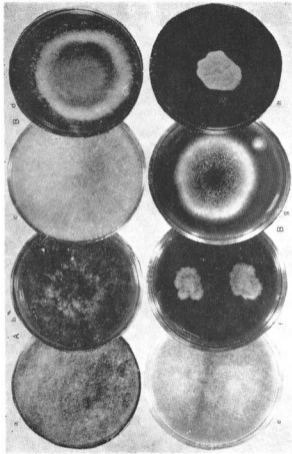
(strain No. 1), d — control (24-hours old culture), e — 5 mg DNO/ml (72-hours old culture)



Ryc. 2. Wpływ DNOC na morfologię strzępek zarodnikonosnych

The effect of DNOC on the morphology

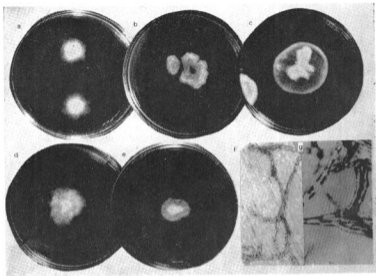
- A — *Aspergillus niger* (szczep nr 1), a — kontrola (hodowla 5-dniowa), b — 10 mcg DNOC/ml (hodowla 10-dniowa); B — *Penicillium purpurogenum* (szczep nr 3), c — kontrola (hodowla 5-dniowa), d — 10 mcg DNOC/ml (hodowla 10-dniowa)
- A — *Aspergillus niger* (strain No. 1), a — control (5-day old culture), b — 10 mcg of DNOC/ml (10-day old culture); B — *Penicillium purpurogenum* (strain No. 3), c — control (5-day old culture), d — 10 mcg of DNOC/ml (10-day old culture)



Ryc. 3. Wpływ DNOC na morfologię kolonii

The effect of DNOC on the morphology

- A — *Rhizopus nigricans* (szczep nr 1), a — kontrola (hodowla 5-dniowa), b — 5 mg DNOC/ml (hodowla 14-dniowa), B — *Mucor mucedo* (szczep nr 1), c — kontrola (hodowla 5-dniowa), d — 5 mg DNOC/ml (hodowla 10-dniowa), e — 10 mg DNOC/ml (hodowla 14-dniowa), f — 50 mg DNOC/ml (hodowla 14-dniowa); *Aspergillus niger* (szczep nr 1) g — kontrola (hodowla 5-dniowa), h — 10 mg DNOC/ml (hodowla 14-dniowa)
- A — *Rhizopus nigricans* (strain No. 1), a — control (5-day old culture), b — 5 mg DNOC/ml (14-day old culture); B — *Mucor mucedo* (strain No. 1), c — control (5-day old culture), d — 5 mg of DNOC/ml (10-day old culture), e — 10 mg of DNOC/ml (14-day old culture), f — 50 mg of DNOC/ml (14-day old culture), g — control (5-day old culture), h — 10 mg of DNOC/ml (14-day old culture)



Ryc. 4. Wpływ DNOC na morfologię kolonii

The effect of DNOC on the morphology of colony

Aspergillus niger (szczep nr 1), a — 25 meg DNOC/ml (hodowla 14-dniowa); *Penicillium purpurogenum* (szczep nr 3); b — 50 meg DNOC/ml (hodowla 14-dniowa), c — kontrola (hodowla 7-dniowa), d — 10 meg DNOC/ml (hodowla 14-dniowa), e — 50 meg DNOC/ml (hodowla 14-dniowa); zmiany wielkości i rozmieszczenia jąder w strzępkach *Mucor mucedo* (szczep nr 1) pod wpływem DNOC, f — kontrola (hodowla 1-dniowa), g — 10 meg DNOC/ml (hodowla 1-dniowa)

Aspergillus niger (strain No. 1), a — 25 meg of DNOC/ml (14-day old culture), b — 50 meg of DNOC/ml (14-day old culture); *Penicillium purpurogenum* (strain No. 3, c — control (7-day old culture), d — 10 meg of DNOC/ml (14-day old culture), e — 50 meg of DNOC/ml (14-day old culture); changes of nuclei size and distribution in hyphae of *Mucor mucedo* (strain No. 1) under the influence of DNOC, f — control (1-day old culture), g — 10 meg of DNOC/ml (1-day old culture)

niejszą aktywność mikostatyczną DNOC w stosunku do aktywności sporostatycznej i sporobójczej tego preparatu. Jest to zgodne z ogólnie znanym faktem wyższej oporności na substancje toksyczne zarodników aniżeli strzępek.

Z przeprowadzonych obserwacji wynika, że DNOC powodował nie tylko niedorozwój strzępek zarodnikonośnych, lecz również deformację strzępek wegetatywnych dojrzewającej grzybni. Zmiany morfologiczne strzępek wegetatywnych najczęściej objawiały się rozgałęzieniem i skróceniem, a w przypadku badanych przedstawicieli *Mucoraceae* również obrzmieniem (ryc. 1 - 2). Ten ostatni efekt wskazywał na zaburzenia w gospodarce wodnej grzybów pod wpływem DNOC. Ponadto rozwijająca się w środowisku z DNOC (10 mcg/ml) grzybnia wegetatywna *Mucor mucedo* obok strzępek złożona była z komórek pączkujących (ryc. 2). Zmianę formy wzrostu *Mucor mucedo* ze strzępkowej na drożdżopodobną obserwowano także podczas kiełkowania spor tego grzyba w obecności DNOC (K o r n i ł ł o w i c z 1982c). Wyjaśnienie aktywności morfogenetycznej dwunitro-orto-krezolu — zjawiska nie spotykanego w dotychczasowym piśmiennictwie — przedstawiono w poprzedniej — ww. pracy.

Zniekształcenie strzępek wegetatywnych grzybni rosnącej w obecności DNOC powodowało zmiany struktury kolonii. Obserwowane „sfilcowanie” murawek, tj. tworzenie gęstej i zbitej grzybni, przeważnie było związane z wytworzeniem licznych, skróconych, często obrzmiących odgałęzień bocznych. Podobne deformacje zmian morfologicznych strzępek i kolonii w obecności dwunitrofenolu zaobserwowali B e n t i M o o r (1966), a V e r d c o u r t (1952) i S t r z e l c z y k (1976) obserwowali podobne zmiany w hodowlach grzybów z chloropochodnymi fenolu.

Zgodnie z wcześniejszym poglądem (K o r n i ł ł o w i c z 1982c) należy uważać, że przyczyną opisanych zmian morfologicznych grzybów hodowanych z DNOC były zmiany w strukturze ściany komórkowej i przepuszczalności błony cytoplazmatycznej.

W poprzedniej części pracy stwierdzono, że zmianom morfologicznym strzępek rostkowych pod wpływem DNOC towarzyszyły zmiany anatomiczne (K o r n i ł ł o w i c z 1982c). Podobne spostrzeżenie poczyniono również w niniejszej pracy. Zanotowano bowiem, że deformacja strzępek wegetatywnych i zaburzenia sporulacji badanych grzybów w środowisku z DNOC sprzężone były ze zmianami rozmiarów i rozmieszczenia jąder komórkowych (ryc. 4).

Informacje te wskazywałyby, że przyczyną hamowania zarodnikowania grzybów w obecności użytego nitrofenolu mogły być zaburzenia mitozy i syntezy składników odpowiedzialnych za wzrost komórek, bowiem w grzybni o stłumionej sporulacji występowało nagromadzenie i powiększenie jąder komórkowych przy równoczesnym zahamowaniu wzro-

stu strzępek (ryc. 4). Zjawisko to opisali wcześniej Imszeniecki i Piotrowa (1957) oraz Strzelczyk (1976) w pracach nad oddziaływaniem fenolu i jego chloropochodnych na cytologię różnych grzybów. Można więc sądzić, że pestycydy nitrofenolowe, podobnie do chlorofenoli, wywołują zakłócenia w syntezie i podziale materiału jądrowego. Jest to zgodne z poglądem Horsfall'a (cyt. za Byrde 1965), który uważa, że podstawione fenole, reagując ze składnikami chromosomów, są silnymi inhibitorami mitozy w komórkach grzybów.

Dotychczasowe badania własne dotyczące oddziaływania DNOC na mikrogrzyby pozwalają sądzić, że zmiany morfologiczne i anatomiczne komórek i kolonii grzybów w obecności tego pestycydu spowodowane były nie tylko jego bezpośrednim działaniem na struktury powierzchniowe (błona i ściana) oraz wewnątrzkomórkowe (jądra) komórek grzybów, lecz również interferencją DNOC z metabolizmem komórek (wpływ pośredni). Ten ostatni efekt był związany z zakłóceniem równowagi procesów syntezy w komórkach badanych grzybów (Korniłowicz 1982a, b), które — zgodnie z podstawowym mechanizmem działania nitrofenoli (Simon 1953) — było wtórnym efektem rozkojarzenia fosforylacji oksydacyjnej przez DNOC.

Jakkolwiek powszechnie uważa się, że pestycydy nitrofenolowe wywołują przede wszystkim zaburzenia bilansu energetycznego komórek, to wcześniejsze (Korniłowicz 1982a - c) oraz prezentowane w niniejszej pracy wyniki badań własnych wskazują na wielokierunkowy mechanizm oddziaływania użytego pestycydu nitrofenolowego — dwu-nitro-orto-krezolu na mikrogrzyby.

LITERATURA

- Barathova H., Betina V., Nemeč P., 1969, Morphological changes induced in fungi by antibiotics. *Folia Microbiol.* 14: 478.
- Bent K. I., Moor R. H., 1966, The mode action of griseofulvin. *Symposium Soc. Gen. Microbiol., Univ. Press, London, Cambridge*, 16: 82.
- Brian P. W., 1960, Griseofulvin. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 43: 1.
- Byrde R. I. W., 1965, The chemical environment for fungal growth. (In:) *The Fungi* — 1: 525, Ainsworth G. C., Sussman A. S., Acad. Press. New York, London.
- Gorska-Poczopko I., 1977, Obserwacje deformacji młodych strzępek niektórych grzybów wywołanej przez ester metylowy kwasu 2-benzimidazolokarbaminowego. 216.
- Gurr E., 1956, *Practical Manual of Medical and Biological Staining Techniques*. Leonard Hill, London.
- Imszeniecki A. A., Piotrowa K. E., 1957, Morfologo-fizjologičeskaja charakteristika drożdziej adaptirovannyh k fenolu ili suljemie. *Mikrobiologia* 26: 296.
- Korniłowicz T., Gostkowska K., Szember A., 1979. Obserwacje nad

- wpływem DNOC na wzrost i morfologię kolonii mikrogrzybów. Ann. UMCS, sec. E, 34.
- Kornilłowicz T., 1982, Wpływ dwunitro-orto-krezolu na fizjologię i morfologię grzybów glebowych. I. Ann. UMCS, sec. E, 37 (w druku). — 1982b ditto. II. Acta Mycol. (w druku); — 1982c, ditto, III. Acta Mycol. (w druku).
- Sharples R. O., 1963, The fungitoxic effects of dicloran on *Botrytis cinerea*. Chem. Abstr. 58:1870.
- Simon E. W., 1953, Mechanism of dinitrophenol toxicity. Biol. Rev. Cambridge Phil. Soc. 28:453.
- Strzelczyk A. B., 1968, Metody badania grzybów glebowych. Roczn. Glebozn. 19:404.
- Strzelczyk A. B., 1968, Influence of antifungal vapours on spore germination of fungi isolated from deteriorated old books. Can. J. Microbiol. 14:901.
- Strzelczyk A. B., 1975, Wpływ fungicydów dodanych do podłoża na grzyby niszczące zabytkowy papier. Acta Mycol. 11:3.
- Strzelczyk A. B., 1976, Adaptation to fungicides of fungi damaging paper. 1. 12:49.
- Verdcourt B., 1952, The effect of certain phenolic compounds on the germination and growth of microfungi. Mycologia 44:377.

SUMMARY

Determination of the influence of dinitroorthocresol (DNOC) on morphology and anatomy of colonies and hyphae generally sensitive to this pesticide was the aim of investigation.

The following fungi were used in the experiments (19 strains) *Rhizopus nigricans* Ehrenberg, *Mucor mucedo* L. ex Fries, *Mucor griseo-cyanus* (Hagem) Schipper-f, *Penicillium purpurogenum* Stoll, *Aspergillus niger* van Tieghem, *Mucor* sp. and *Penicillium* sp.

Fungi cultures were grown on Czapek-Dox and Saunders mediums of own modification (Kornilłowicz 1982).

The following doses of DNOC (in mcg/ml) were used: 1, 5, 10, 25, 50 and additionally 75 and 100.

Observations of hyphae morphology were done on agar discs (Strzelczyk 1968). Cytological investigation was carried out in cultures on cellophane discs (Strzelczyk 1968). Cytological investigation was carried out in cultures on cellophane discs (Strzelczyk 1976) colouring mycelium for nuclei presence by Piekarski-Rubinow method. Observations of colony morphology were carried out directly on Petri plates.

High fungitoxic activity of DNOC was noted, evidenced by sporulation stop of fungi caused by low concentrated DNOC (10 mcg/ml).

It was shown that DNOC caused morphological changes of vegetative hyphae. The changes were generally revealed by branching and shortening of hyphae, sometimes by swelling. *Mucor mucedo* in these conditions besides hyphae also developed budding cells.

Noted morphological changes in hyphae caused morphological and anatomical changes of fungi colonies. Colonies growing in the presence of DNOC were white and smaller than in control with low and compact mycelia.

In mycelium with sporulation stopped by DNOC, enlargement and accumulation of cells nuclei was observed.