

Obserwacje nad morfologią *Geotrichum* sp. z korzenia kapusty

Studies on the morphology of Geotrichum sp. isolated from cabbage root

ZOFIA MACIEJOWSKA

I. WSTĘP

Rodzaj *Geotrichum* Link jest obecnie zaliczany do klasy grzybów niedoskonałych (*Fungi Imperfecti*), do rzędu *Moniliales* i rodziny *Moniliaceae*. Zgodnie z definicją podawaną przez specjalistów, cechą diagnostyczną rodzaju *Geotrichum* jest wytwarzanie bezbarwnej komórkowej grzybni, oraz jednokomórkowych, cylindrycznych zarodników — artrospor o ściętych i lekko zaokrąglonych końcach, ułożonych w łańcuszki (1, 2, 4).

Grzyby z rodzaju *Geotrichum*, w tym głównie *Geotrichum candidum* Link, występują pospolicie w glebie, na różnym materiale roślinnym, oraz na organizmach stałocieplnych. Mają one charakter saprofityczny lub pasożytniczy.

Według aktualnie przyjętej klasyfikacji, grzyby niedoskonałe, u których wytwarzanie artrospor jest podstawowym sposobem rozmnażania się wegetatywnego, są zaliczane do różnych rodzin. Jako przykłady mogą służyć rodzaje *Geotrichum* Link (*Moniliaceae*) i *Trichosporon* Behrend (*Cryptococcaceae*) (1, 6). W literaturze francuskiej spotykamy się z innymi poglądami. Na przykład Vuillemin (1931) wyróżnił w obrębie klasy *Adelomycetes* (= *Fungi Imperfecti*, 1) grupę *Arthrospores*, do której zaliczył m. in. wyżej wymienione rodzaje. Moreau (1954) wyróżnił w klasie grzybów niedoskonałych rząd *Arthromycetales*. Jak wskazuje nazwa rzędu, autor uważał, że rozmnażanie się przy pomocy artrospor jest zasadniczą i wspólną cechą diagnostyczną dla tej grupy spokrewnionych z sobą rodzajów. Do wyżej wymienionego rzędu zaliczył on, obok rodzaju *Geotrichum*, rodzaje: *Trichosporon*, *Monilia* Pers. ex Fr., *Cladosporium* Link ex Fr., *Oidiodendron* Robak, *Hormodendrum* Bon. i *Rhacodium* Pers. ex Wallr.

II. MATERIAŁY I METODY

Szczep *Geotrichum* 556 został wyizolowany w sierpniu 1964 r. ze zdrowego korzenia kapusty białej głowiastej z pola torfowego, w 2 dni po zbiorze. Hodowlę grzyba prowadzono na pożywce agarowo-ziemniaczanej z glukozą w temperaturze pokojowej i w 25°C, na pożywce agarowo-mineralnej z dodatkiem asparaginy i glukozy (AGA) w temperaturze 25°C (3), oraz na pożywce marchwiowo-agarowej z glukozą w temperaturze 25°C (3).

III. WYNIKI BADAŃ

Po 5 dniach hodowli w temperaturze 25°C na pożywce AGA kultury były białe, niskie i pokryte delikatnym mączystym nalotem z konidiów. Średnica kultur wynosiła przeciętnie 3,3 cm. Większość strzępek znajdujących się na brzegu kolonii tworzyła dichotomiczne rozgałęzienia (Tabl. I). Ponadto obserwowano niekiedy rozgałęzienia potrójne. Zarodniki powstawały w łańcuszkach, bazipetalnie, głównie przez rozpad na segmenty młodych strzępek, wyrastających zazwyczaj pojedynczo u boku szczytowej części starszych komórek grzybni, pod kątem zbliżonym do prostego (Tabl. I, 2, 3). Zarówno średnica młodej strzępki, jak i średnica zarodników była kilka razy mniejsza niż średnica komórki macierzystej. Podczas przygotowywania preparatu mikroskopowego górna część strzępki macierzystej, znajdująca się ponad młodym rozgałęzieniem niejednokrotnie odpadała, tworząc kolankowato wygięty segment (Tabl. I, 2). Wyżej opisane cechy mikroskopowe były obserwowane na wszystkich pożywkach. Zarodniki z kultury na pożywce AGA miały kształt prostokątów o lekko zaokrąglonych rogach (Tabl. I, 4). Ich wymiary wahały się w granicach $2,0-4,5 \times 2,0-18,5 \mu$, średnio $3,0 \times 4,8 \mu$.

Kultury na pożywce agarowo-marchwiowej z glukozą były delikatnie strefowane i pokryte niewielką ilością nalotu z konidiów. Po 5 dniach hodowli w temperaturze 25°C ich średnica wynosiła przeciętnie 3,1 cm. Zarodniki były lekko kanciaste w momencie powstawania, wkrótce jednak przybierały okrągławy kształt (Tablica I, 5). Wymiary zarodników wynosiły $2,0-3,5 \times 2,0-16 \mu$, średnio $3,0 \times 4,5 \mu$.

Po 5 dniach hodowli na pożywce agarowo-ziemniaczanej z glukozą w temperaturze 25°C średnica kolonii wynosiła przeciętnie 3,5 cm. Wymiary zarodników wynosiły $2,0-4,5 \times 2,5-15 \mu$, średnio $3,0 \times 4,8 \mu$. W starszych kulturach widoczne było strefowanie.

Po 4 miesiącach od momentu wyizolowania grzyba z korzenia kapusty zaobserwowano w hodowli na pożywce agarowo-ziemniaczanej z glukozą, na powierzchni koncentrycznych stref niektórych 4-tygodniowych kultur brodawkowate wzniesienia o średnicy około 1 mm. Badania

mikroskopowe wykazały, że poszczególne komórki strzępek grzybni pobranej z tych wzniesień były wypełnione kulistymi zarodnikami (Tabl. II, 1, 2, 3). Na przebiegu tych samych strzępek znajdowały się również komórki bez zarodników. W centralnej części każdej z przegród był widoczny mały otwór (Tabl. II, 1, 2). Przegrody oddzielające komórki z zarodnikami od komórek bez zarodników były lekko wygięte w stronę komórek z zarodnikami (Tabl. II, 2). Ścianki tych komórek ulegały z łatwością rozerwaniu uwalniając znajdujące się w ich wnętrzu zarodniki (Tabl. II, 4). W tych samych preparatach obserwowano przy przegrodach lub, rzadziej, w innych partiach strzępek powstawanie zarodników podobnych morfologicznie do wyżej wspomnianych endospor. Zarodniki te powstawały bazipetalnie, w łańcuszkach. Przy jednej przegrodzie tworzyło się zwykle kilka łańcuszków. Niekiedy obserwowano dzielenie się tych zarodników, co przyczyniało się do formowania skupień i zacierało pierwotny obraz łańcuszków (Tabl. II, 6). Obserwowano również powstawanie pojedynczych blastospor na grzybni, w sposób charakterystyczny dla *Trichosporon* (Tabl. II, 5).

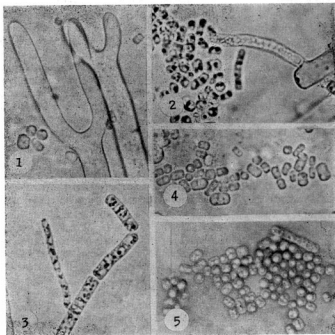
Próby kiełkowania kulistych zarodników wytworzonych na brodawkowatych wzniesieniach dały wyniki negatywne. Próby te przeprowadzono na pożywce agarowo-ziemniaczanej z glukozą sprawdzając kiełkowanie w ciągu 2 tygodni. Dalszych badań nad kiełkowaniem nie prowadzono. W kulturach wyjściowych natomiast obserwowano sporadycznie dzielenie się endospor wewnątrz strzępek grzybni (Tabl. II, 3).

Kultury wytwarzające brodawkowate wzniesienia przeszczepiano na świeżą pożywkę agarowo-ziemniaczaną z glukozą. W ciągu następnych 4 miesięcy hodowli obserwowano w tych kulturach jedynie rozmnażanie się przy pomocy grzybni i artrospor. Nie obserwowano natomiast ponownego pojawienia się brodawkowatych wzniesień, ani też dwu pozostałych stadiów morfologicznych.

IV. DYSKUSJA

Celem niniejszego artykułu było przedstawienie obserwacji nad morfologią izolatu *Geotrichum* 556. Na podstawie badań przeprowadzonych metodami podanymi przez Butlera (1960) izolat można by określić jako *Geotrichum candidum*. Wymiary artrospor, ich kanciasty kształt na pożywce AGA, sposób powstawania rozgałęzień i cechy morfologiczne kultur mieściły się w granicach cech diagnostycznych podanych przez tego autora dla *G. candidum*. Z uwagi jednak na brak w dostępnej literaturze danych o występowaniu u *G. candidum* endospor, oraz skupień zarodników charakterystycznych dla *Trichosporon cutaneum* (de Beurm., Gougerot et Vaucher) Ota v. *multisporum* (Cochet) L o d d e r

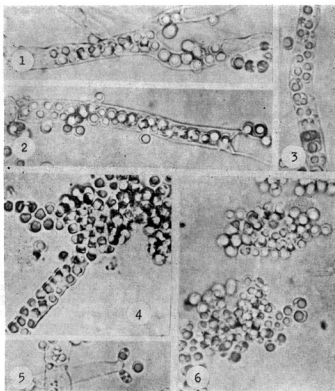
Tablica I — Plate I

*Geotrichum* sp. 556

1 — Dichotomiczne rozgałęzienia grzybni w kulturze na pożywce AGA w 25°C;
 2, 3 — Strzępki grzybni i artrospory w kulturze na pożywce agarowo-ziemniaczanej
 z glukozą w temperaturze pokojowej; 4 — Artrospory w kulturze na pożywce AGA
 w 25°C; 5 — Artrospory w kulturze na pożywce marchwiowo-agarowej z glukozą
 w 25°C, × 1000.

1 — Dichotomous branching of hyphae in culture on AGA at 25°C; 2, 3 — Hyphae
 and arthrospores in culture on PDA at room temperature; 4 — Arthrospores
 in culture on AGA at 25°C; 5 — Arthrospores in culture on carrot-glucose-agar
 at 25°C, × 1000.

Tablica II — Plate II

*Geotrichum* sp. 556

1, 2, 3 — Endospory wewnątrz strzępek grzybni w 4-tygodniowej kulturze na pożywce agarowo-ziemniaczanej z glukozą w temperaturze pokojowej; 4 — Endospory wysypujące się na zewnątrz poprzez rozerwaną ściankę strzępki; 5 — Blastospory na strzępce grzybni w kulturze na agarze ziemniaczanym z glukozą, $\times 1000$; 6 — Zarodniki w głowach w 4-tygodniowej kulturze na pożywce agarowo-ziemniaczanej z glukozą w temperaturze pokojowej.

1, 2, 3 — Endospores inside hyphae in 4-week old culture on PDA at room temperature; 4 — Endospores liberated through a broken wall of a hypha; 5 — Blastospores on a hypha in culture on PDA, $\times 1000$; 6 — Spores in heads in 4-week old culture on PDA at room temperature.

et Kreger-Van Rij (1952), określenie gatunku grzyba nie było możliwe. Zarówno powstawanie wyżej wspomnianych skupień, jak i wytwarzanie artrospor przez obydwie te gatunki wskazują na bliskie pokrewieństwo tych grzybów. Powyższy pogląd jest zgodny ze stanowiskiem autorów francuskich (Moreau 1954, Vuillemin 1931).

Powstawanie endospor wewnątrz strzępek grzybni *Endomyces albicans* Vuill. opisał Vuillemin (1899, cyt. wg Moreau 1954). Z ilustracji przedstawionych przez tego autora wynika, że *E. albicans* Vuill. wytwarzał nie tylko podobne do obserwowanych u *Geotrichum* 556 endospory, lecz i artrospory. Guilliermond (1912, cyt. Moreau 1954) komentując obserwacje Vuillemina wyraził pogląd, że obserwowane endospory powstawały w drodze pączkowania komórki żywej do wnętrza sąsiedniej komórki martwej. Lejkowate wygięcie, skierowane w stronę komórek z zarodnikami sugeruje, że przechodzenie zawartości plazmatycznej przez „lejek” jest wysoce prawdopodobne. Procesu bezpośredniego pączkowania z komórki do komórki nie obserwowano.

Powstawanie opisanych w tym artykule stadiów morfologicznych mogło być związane z przemianami jądrowymi. Ostatnio Wickerham (1964) opisał stadium dosk. u grzybów z rodzaju *Candida* Berkhout (= *Chlamydozoma* Wickerham) wyróżniając w kulturach tych grzybów kilka typów komórek uniseksualnych (unisexual) i biseksualnych (bisexual). Kolonie złożone z tych komórek powstawały na powierzchni kultur tworząc drobne wzniesienia w kształcie kraterów lub sektory. Powstawanie brodawkowatych wzniesień na powierzchni kultur *Geotrichum* 556 mogło być zjawiskiem analogicznym. Wickerham wskazuje na trudności w uzyskaniu i utrzymaniu w kulturze laboratoryjnej niektórych stadiów.

Maciejowska (1964) obserwowała 3 stadia morfologiczne u izolatu *Trichosporon* z gleby torfowej (stadium artrospor, stadium blastospor i stadium „zarodników spoczynkowych”). Pomimo że stadia te były obserwowane przynajmniej 2-krotnie w kulturach, nie zdołano ustalić warunków ich powstawania.

Przytoczone wyżej przykłady wskazują na różne możliwości interpretacji zjawisk obserwowanych u *Geotrichum* 556. Wyjaśnienie istoty tych zjawisk wymagałoby prowadzenia dalszych badań.

SUMMARY

Observations on the morphology of an isolate identified as *Geotrichum* sp. are presented in this paper. The mode of branching of hyphae, the measurements and shape of arthrospores, as well as the morphological characters of cultures studied by Butler's method fit the characters given by this author for *Geotrichum candidum* Link. In some cultures grown on PDA formation of small papillate outgrowths was observed. Some of the hyphal cells taken from the same outgrowths were packed with endospores. Spherical spores were formed in chains on other hyphae. They aggregated to form heads. It is suggested that the morphological stages observed may be related to eventual nuclear changes.

LITERATURA

- Ainsworth G. C., Bisby G. R., 1961, Dictionary of the fungi.
- Barnett H. L., 1960, Illustrated genera of imperfect fungi, Minneapolis.
- Butler E. E., 1960, Pathogenicity and taxonomy of *Geotrichum candidum*, *Phytopathology* 50: 665—672.
- Gilman J. C., A manual of soil fungi, London.
- Lodder J., Kreger Van-Rij N. J. W., 1952, The yeasts, Amsterdam.
- Maciejowska Z., 1964, Grzyby z rodzaju *Trichosporon* wyizolowane z gleby torfowej, *Prace Naukowe IOR* (6: 61—91).
- Moreau F., 1954, Les champignons, II, Paris.
- Wickerham L. J., 1964, A preliminary report on a perfect family of exclusively protosexual yeasts, *Mycologia* 56: 253—266.
- Vuillemin P., 1931, Les champignons parasites and les mycoses de l'homme, Paris.