

Grzyby drożdżoidalne występujące na ziarniakach pszenicy.  
I. Studium taksonomiczne szczepów *Candida albicans*  
(Robin) Berkhout i *C. tropicalis* (Cast.) Berkhout

ZOFIA MACIEJOWSKA-POKACKA

Instytut Ochrony Roślin, Poznań, Miczurina 20

Maciejowska-Pokacka Z. (Institute of Plant Protection, 60-318 Poznań, Miczurina 20, Poland): *Yeasts occurring on wheat seeds. I. A taxonomic study of strains of Candida albicans (Robin Berkhout and C. tropicalis (Cast.) Berkhout.* Acta Mycol. 12 (1): 113-122, 1976.

Morphology and physiology of strains of *Candida albicans* and *C. tropicalis* isolated from winter wheat seeds were studied. Three groups of strains of *C. albicans* were differentiated. Strains of *C. tropicalis* differed in some morphological and physiological details from a standard description of the species.

WSTĘP

Grzyby drożdżoidalne stanowią niejednorodną grupę mikroorganizmów, u których podstawową formą rozmnażania się jest pączkowanie (Loder 1970 b). Zalicza się do nich: 1 — workowce należące do rzędu *Endomycetales*, 2 — podstawczaki zaliczane do rzędu *Ustilaginales*, 3 — grzyby blisko spokrewnione lub będące podstawczakami, zaliczane na razie jeszcze do rzędu *Sporobolomycetales* i 4 — grzyby zaliczane obecnie do rzędu *Cryptococcales* w klasie *Deuteromycetes*. Brak pełnych danych o stadiach doskonałych, o morfologii i fizjologii oraz o filogenezie tych grzybów doprowadził do utworzenia mniej lub bardziej niejednorodnych jednostek systematycznych. Taką niejednorodną jednostką jest rodzaj *Candida* Berkhout obejmujący 81 gatunków (van Uden, Buckley 1970). Duża liczba synonimów w obrębie gatunków *Candida* świadczy o braku właściwych kryteriów pozwalających na ustalenie wyraźnych granic pomiędzy rodzajami i gatunkami, a także o trudnościach w opracowywaniu takich kryteriów. Van Uden i Buckley (1970) wymieniają 100 synonimów *C. albicans* i 57 synonimów *C. tropicalis*. Przyczyna tego stanu tkwi: 1 — w podobieństwie faz pączkowania u różnych rodzajów i gatunków, 2 — w morfologicznej różnorodności wegeta-

tywnych form rozwojowych u niektórych szczepów i 3 — w niedostatecznej znajomości cech fizjologicznych. Obecnie zmierza się do tego, aby identyfikację gatunków oprzeć w pierwszym rzędzie na fizjologicznych cechach szczepów; cechy morfologiczne są również brane pod uwagę, lecz przy obecnym stanie wiedzy nie mogą być kryteriami pierwszoplanowymi.

Grzyby drożdżoidalne są znane głównie z powodu ich przydatności w przemyśle fermentacyjnym i spożywczo-paszowym (*Endomycetales* i *Cryptococcales*) oraz jako patogeny człowieka i zwierząt (zwłaszcza *Cryptococcales*) (Lodder 1970 a; Lodder, Kreger-van Rij 1967; Rose, Harrison 1969). W pracach dotyczących jakościowego składu mikoflory ziarna zbóż natomiast brakuje danych o grzybach drożdżoidalnych lub są w nich materiały o charakterze ogólnym (Christensen 1957; Christensen, Gordon 1948; Chrzanowska 1963; Podjapolska, Mirzojeva 1955; Stawicki 1967). Stwierdzono dotychczas, że grzyby drożdżoidalne zasiedlające ziarno zbóż występują najliczniej bezpośrednio po zbiorze. Chrzanowska (1963) podaje z kolei, że w warunkach niskiej wilgotności powietrza grzyby drożdżoidalne mogą utrzymywać się w dużej ilości na przechowywanym ziarnie w ciągu kilkunastu miesięcy, a Stawicki (1967) donosi o występowaniu *Candida albicans* w zespole mikroflorej wglębnej ziarniaków pszenicy.

Szczepy *C. albicans*, podobnie jak szczepy rozpatrywanej w tej pracy *C. tropicalis*, zaliczane są do saprofitów okolicznościowych. Były one izolowane z paszy zwierzęcej oraz z ziarna przeznaczonego dla przemysłu piwowarskiego (*C. tropicalis*), a także z powietrza, z gleby i z różnych organów roślinnych (*C. albicans*). Oba te grzyby należą jednak przede wszystkim do mikroorganizmów ściśle związanych z organizmem człowieka i zwierząt, gdzie na zasadzie komensalizmu mogą egzystować w przewodzie pokarmowym i w organach rozrodczych. Ponadto szczepy *C. tropicalis* są zdolne do wywoływania schorzeń żeńskich organów rozrodczych, a *C. albicans* jest jednym z groźnych patogenów człowieka, który atakuje skórę, śluzówki i różne organy wewnętrzne (Carmo-Sousa 1969; Gentles, La Touche 1969; Last, Price 1969). Z tego powodu istnieje obszerna literatura medyczna dotycząca patogenyzy zwłaszcza *C. albicans*, a prace taksonomiczne wykonane nad tymi grzybami dotyczą przeważnie szczepów pochodzących z człowieka lub zwierząt.

Celem niniejszej pracy wykonanej w ramach tematu badawczego nad florą grzybów drożdżoidalnych na ziarniakach pszenicy ozimej było: (1) określenie ilościowego, a przede wszystkim jakościowego składu grzybów drożdżoidalnych na tych ziarniakach, oraz (2) opracowanie w pierwszej kolejności morfologii i fizjologii szczepów *C. albicans* i *C. tropicalis*.

## MATERIAŁ I METODY

Grzyby drożdżoidalne będące przedmiotem niniejszej pracy zostały wyosobnione z ziarniaków pięciu odmian pszenicy ozimej: 'Grana', 'Eka Nowa', 'Mironowska 808', 'Kaukaz' i 'Helenka' pochodzących z 4 rejonów Polski (woj. zielonogórskie, poznańskie, rzeszowskie, lubelskie) i zebranych w latach 1971-1973. Izolacje wykonywano metodą rozcieńczeniową płytkowych (Maciejowska 1967): (1) z ziarniaków nieodkażonych, (2) z ziarniaków odkażonych przez 20, 30 i 60 sekund 0,1% roztworem sublimatu w 50% alkoholu etylowym, oraz (3) z ziarniaków wytrząsanych najpierw w ciągu 30 sekund w 50% alkoholu etylowym, a następnie w 0,1% wodnym roztworze sublimatu w ciągu 20 i 40 sekund. Posiewy wykonywano najczęściej w agarze glukozowo-ziemniaczanym z dodatkiem 0,1% propionianu sodu, 0,025% streptomycyny i 0,025% chloromycetyny. Stosowano również pożywkę molibdenianową i agar brzczkowy (Holland, Kuntz 1961; Ingram 1969; van der Walt 1970). Izolacje przeprowadzano przeszczepiając kolonie ukazujące się na pożywkach w 4, 5, 7 i 9 dniu inkubacji w temperaturze pokojowej. Ze względu na bardzo małe wymiary kolonii grzybów drożdżoidalnych wszystkie izolacje przeprowadzano używając szkła powiększającego. Wyniki przedstawione w pracy są oparte na badaniach 116 szczepów *Candida albicans* i 13 szczepów *C. tropicalis*. Do identyfikacji szczepów wykorzystano prace monograficzne (Lodder 1970 a; Lodder, Kreger-van Rij 1967).

## WYNIKI I DYSKUSJA

W badanym materiale stwierdzono dużą liczbę szczepów grzybów z rodzaju *Candida* (tab. 1). Szczepy te występowały głównie na ziarniakach odkażonych prawdopodobnie dlatego, że były one ściślej związane z okrywą nasienną i mogą, jak twierdzi Stawicki (1967), reprezentować mikoflorę wglębną ziarna. Występowanie grzybów drożdżoidalnych na badanych ziarniakach nie było zależne od rejonu pochodzenia ziarniaków i odmiany pszenicy, chociaż w 1972 r. najwięcej kolonii wyosobniono z odmiany 'Helenka'. Liczba grzybów drożdżoidalnych wyosobnionych w poszczególnych latach była bardzo różna, co mogło być zależne od warunków pogody.

Badane szczepy *C. albicans* podzielono na 3 grupy, ponieważ dostrzeżono niewielkie różnice fizjologiczne (tab. 2) lub morfologiczne. Pod względem fizjologicznym szczepy grupy I (ryc. 1-15) i szczepy grupy III (ryc. 25-33) zachowywały się identycznie, a ich cechy były całkowicie zgodne ze standardowym opisem *C. albicans*. Natomiast u szczepów grupy II (ryc. 16-24) obserwowano słabą asymilację melezytozy i D-arabinozy, czego dotychczas nie stwierdzono u szczepów opisywanych w li-

Tabela 1—Table 1

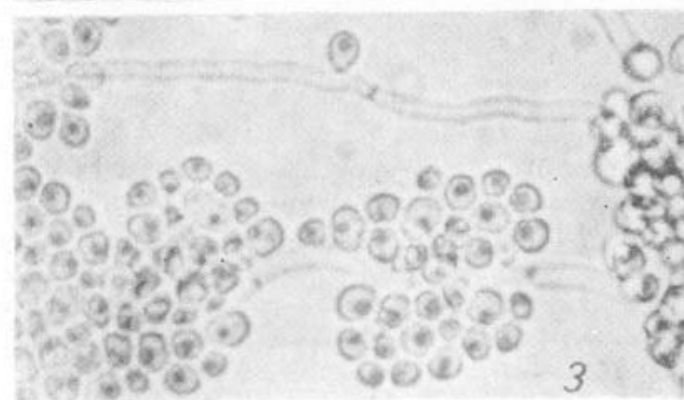
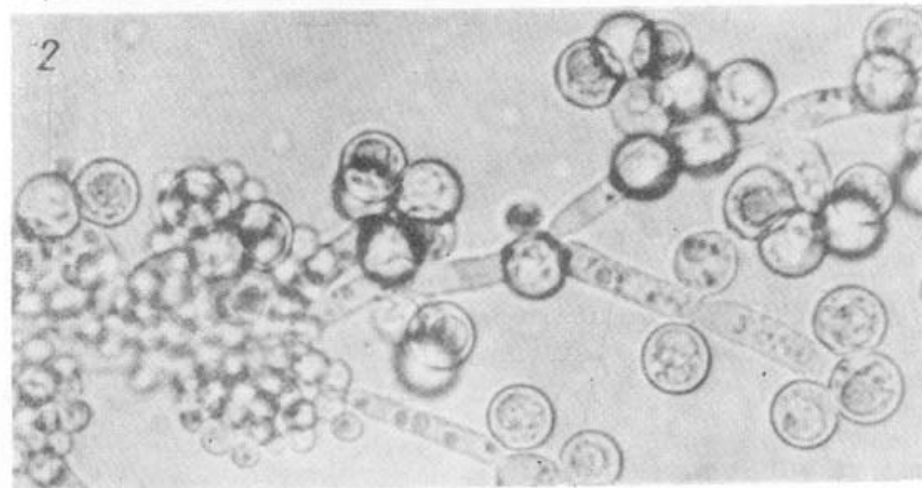
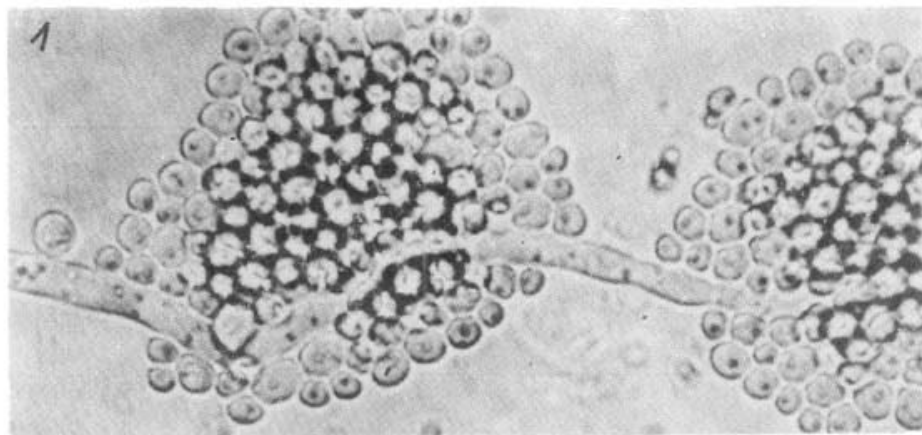
Liczebność szczepów *Candida albicans* i *C. tropicalis* w mykoflorze wyosobnionej z ziarniaków pszenicy

Number of strains of *Candida albicans* and *C. tropicalis* in mycoflora isolated from wheat seeds

Materiał używany do izolacji Material used for isolation	Średnia liczba kolonii wyosobnionych z 1 g ziarna (0-4 miesiące po zbiorze) Mean number of colonies isolated from 1 g of seeds (0-4 months after harvest)			
	Grzyby ogółem Fungi-total	Grzyby drożdżoidalne Yeasts	Szczepy <i>Candida</i> — Strains of <i>Candida</i>	
			<i>C. albicans</i>	<i>C. tropicalis</i>
Ziarniaki nieodkazywane Non-sterilized seeds	29 800	2 680	21	0
Ziarniaki odkazywane Sterilized seeds	2 120	239	263	30

temperaturze (van Uden, Buckley 1970). Wszystkie szczepy z grup I, II i III odznaczały się niską zdolnością fermentacji cukrów testowych, a galaktoza była fermentowana najwolniej. Nie jest to zgodne z wynikami badań Stawickiego (1967), który nie stwierdził fermentacji u szczepów *C. albicans* wyosobnionych przez niego z ziarniaków pszenicy.

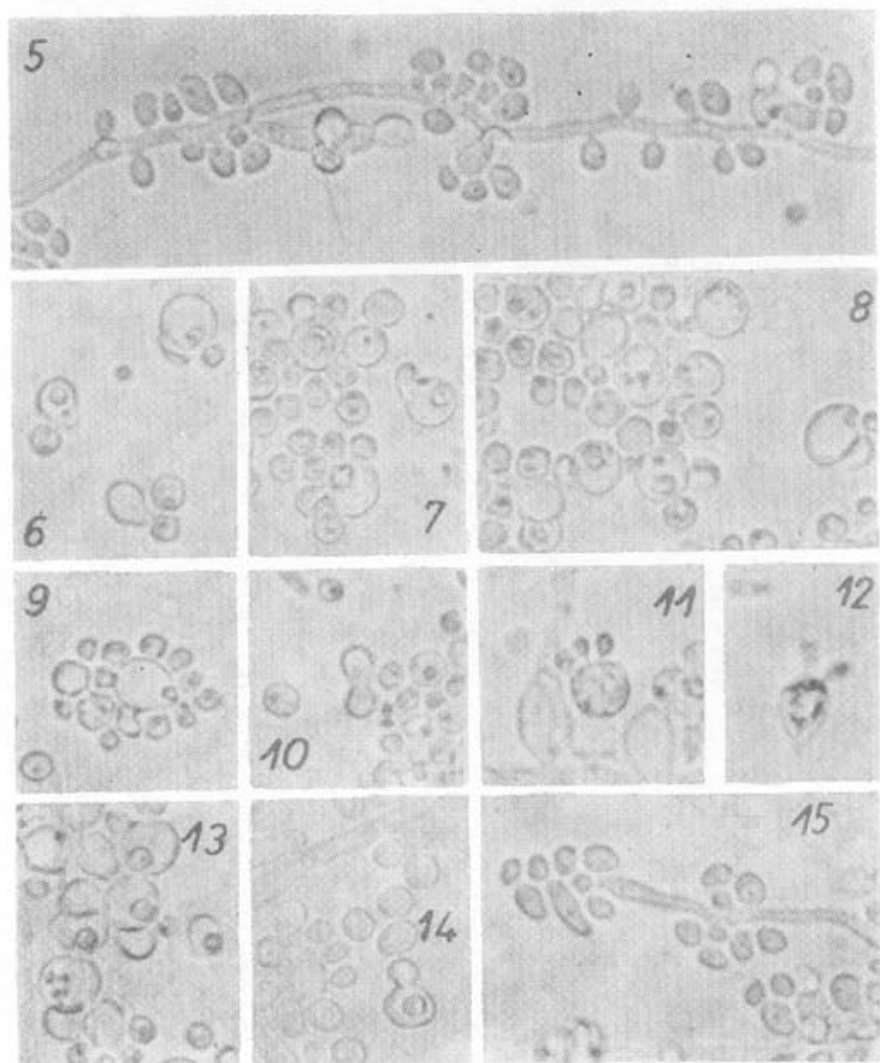
Wszystkie badane szczepy rozwijały się w temperaturze 39-40°C, wytwarzały w białku kurzym charakterystyczne strzępki rostkowe oraz posiadały typowe dla gatunku *C. albicans* cechy morfologiczne. Wytwarzały nibygrzybnię (ryc. 1-5, 14-16, 19-21, 30, 32) i niekiedy typową grzybnię, charakterystyczne chlamydospory (ryc. 1, 2, 4, 19, 26) i blastospory w główkach (ryc. 1-3, 15, 19, 25). Często spotykaną formą pączkowania było pączkowanie wielobiegunowe (multilateral budding) (ryc. 9, 23, 31, 33). Szczepy grupy III różniły się jednak wytwarzaniem większej ilości typowej grzybni i nibygrzybni (ryc. 28, 30, 32), a szczepy grupy II szczególnie częstym wytwarzaniem licznych komórek o kształcie stalagmoidalnym (ryc. 20, 21), nietypowych dla *C. albicans*. Komórki stalagmoidalne obserwowano zarówno w kulturach wyjściowych, jak i w kulturach jednozarodnikowych otrzymanych z kultur wyjściowych. Komórki te wydłużały się i powiększały (ryc. 16, 22), a niektóre z nich przybierały kształt zbliżony do jajowatego (ryc. 16). W mineralnej pożywce płynnej z dodatkiem maltozy lub glukozy szczytowa część tych komórek rozszerzała się w pęcherzykowate zgrubienie, z którego wyra-



Ryc. 1-4. *Candida albicans* (Robin) Berkh.

(szczep nr 26 z I grupy): 1, 3—blastospory w główkach na agarze glukozowo-ziemniaczanym, 2, 4—chlamydospory na agarze kukurydzianym ( $\times 1000$ )

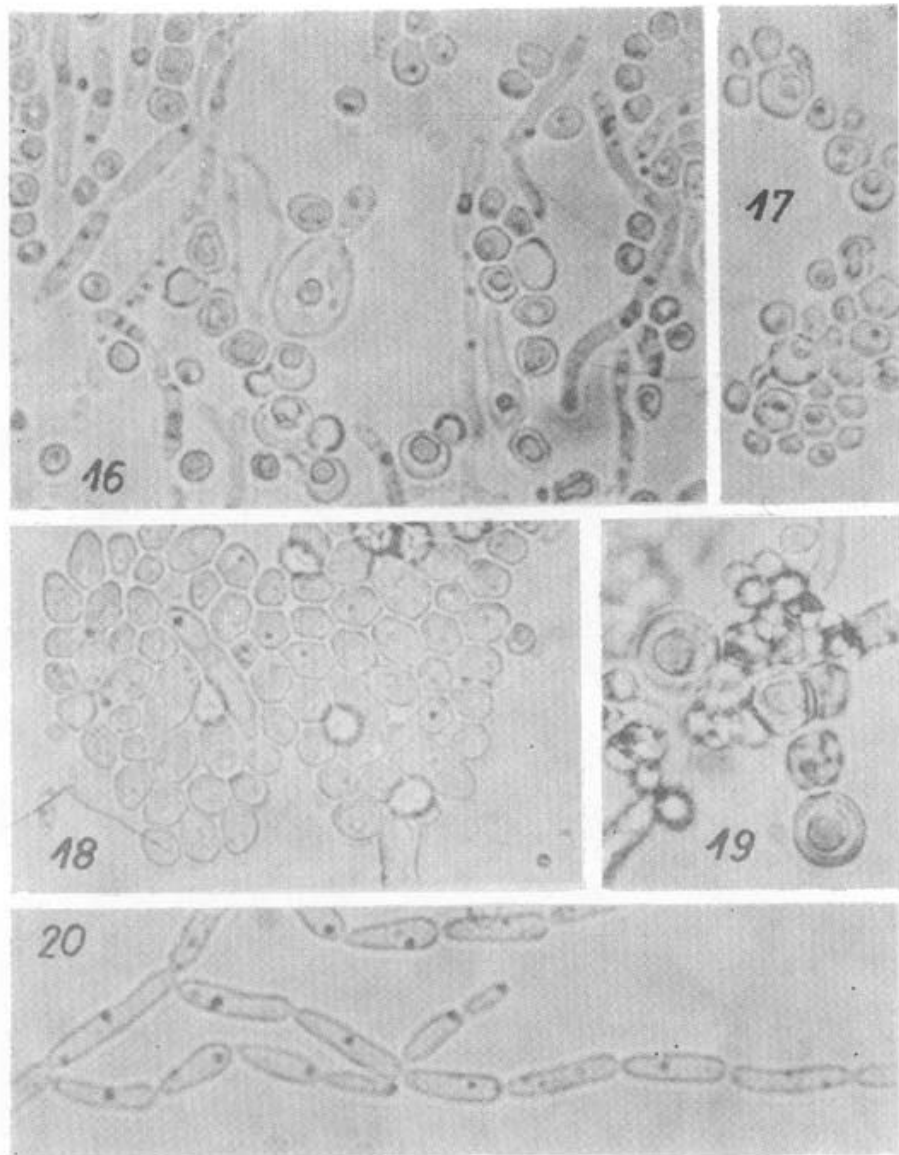
(strain No. 26 from group I): 1, 3—blastospores in heads on PDA; 2, 4—chlamydospores on cornmeal agar ( $\times 1000$ )



Ryc. 5-15. *Candida albicans* (Robin) Berkh,

(szczep nr 26 z I grupy): 5, 15 — powstawanie blastospor na agarze kukurydzianym; 6-9, 13, 14 — komórki z resztkami ściany na powierzchni w kulturze na agarze kukurydzianym; 10 — komórka bliźniacza; 11, 12 — pączkujące komórki wielojądrowe w mineralnej pożywce płynnej z maltozą po 3 tyg. ( $\times 1000$ )

(strain No 26 from group I): 5, 15 — formation of blastospores on cornmeal agar; 6-9, 13, 14 — cells with remnants of cell wall on the surface in a culture on cornmeal agar; 10 — a twin cell; 11, 12 — budding multinucleate cells in a liquid mineral medium with maltose after 3 weeks ( $\times 1000$ )

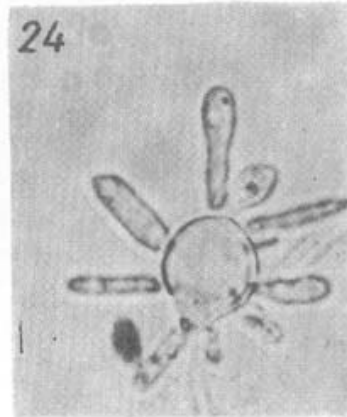
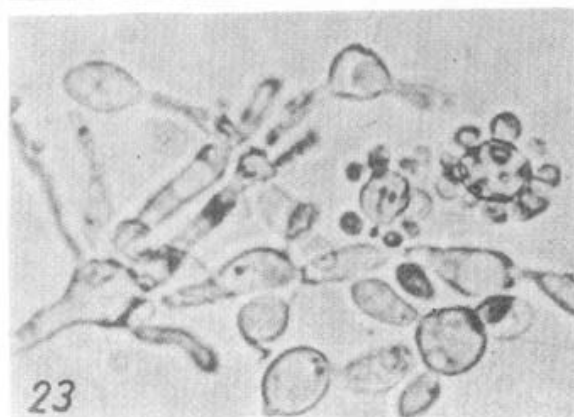
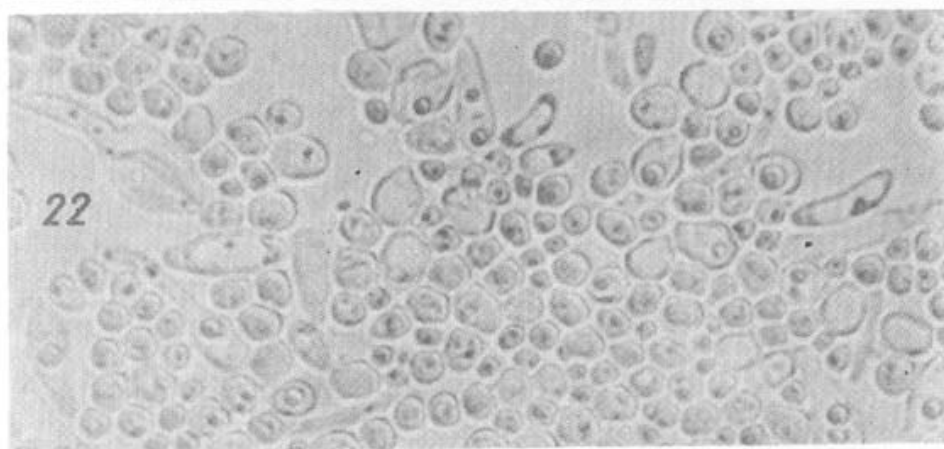
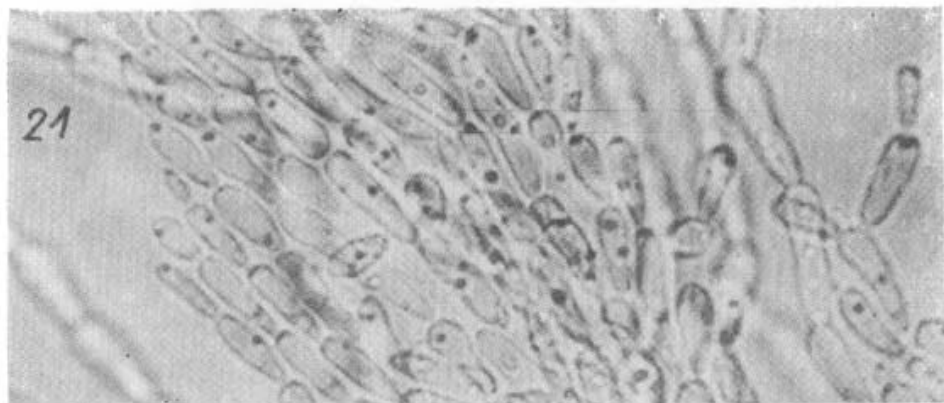


Ryc. 16-20. *Candida albicans* (Robin) Berkh.

(szcep nr 30 z II grupy): 16, 18 — fragment kultury na agarze kukurydzianym po 5 dniach; 17 — fragment kultury na agarze kukurydzianym: faza drobnokomórkowa, komórki z endosporami i z resztką ściany na powierzchni; 19 — chlamydospory i blastospory w główkach na agarze glukozowo-ziemniaczanym; 20 — komórki stalagmoidalne na agarze kukurydzianym ( $\times 1000$ )

(strain No. 30 from group II): 16, 18 — fragment of a culture on cornmeal agar after 5 days; 17 — fragment of a culture on cornmeal agar: small cell generation, cells with endospores and remnants of cell wall on the surface; 19 — chlamydospores and blastospores in heads on PDA; 20 — stalagmoid cells on cornmeal agar ( $\times 1000$ )



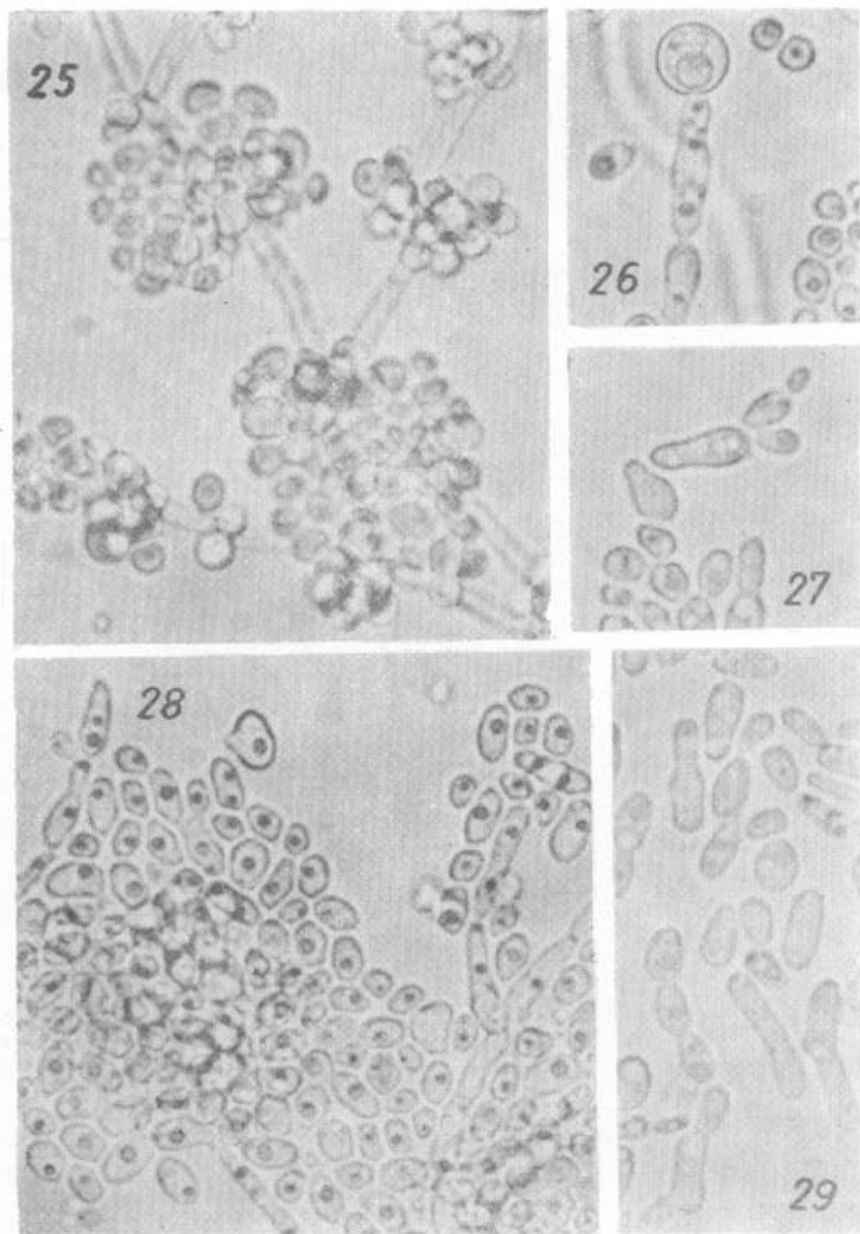


Ryc. 21-24. *Candida albicans* (Robin) Berkh.

(szczep nr 30 z II grupy): 21 — komórki stalagmoidalne; 22 — fragment 5-dniowej kultury na agarze kukurydzianym; 23, 24 — komórki z 3-tygodniowej kultury w płynnej pożywce mineralnej z maltozą ( $\times 1000$ )

(strain No. 30 from group II): 21 — stalagmoid cells; 22 — fragment of a 5-day-old culture on cornmeal agar; 23, 24 — cells from 3-week-old culture in a liquid mineral medium with maltose ( $\times 1000$ )

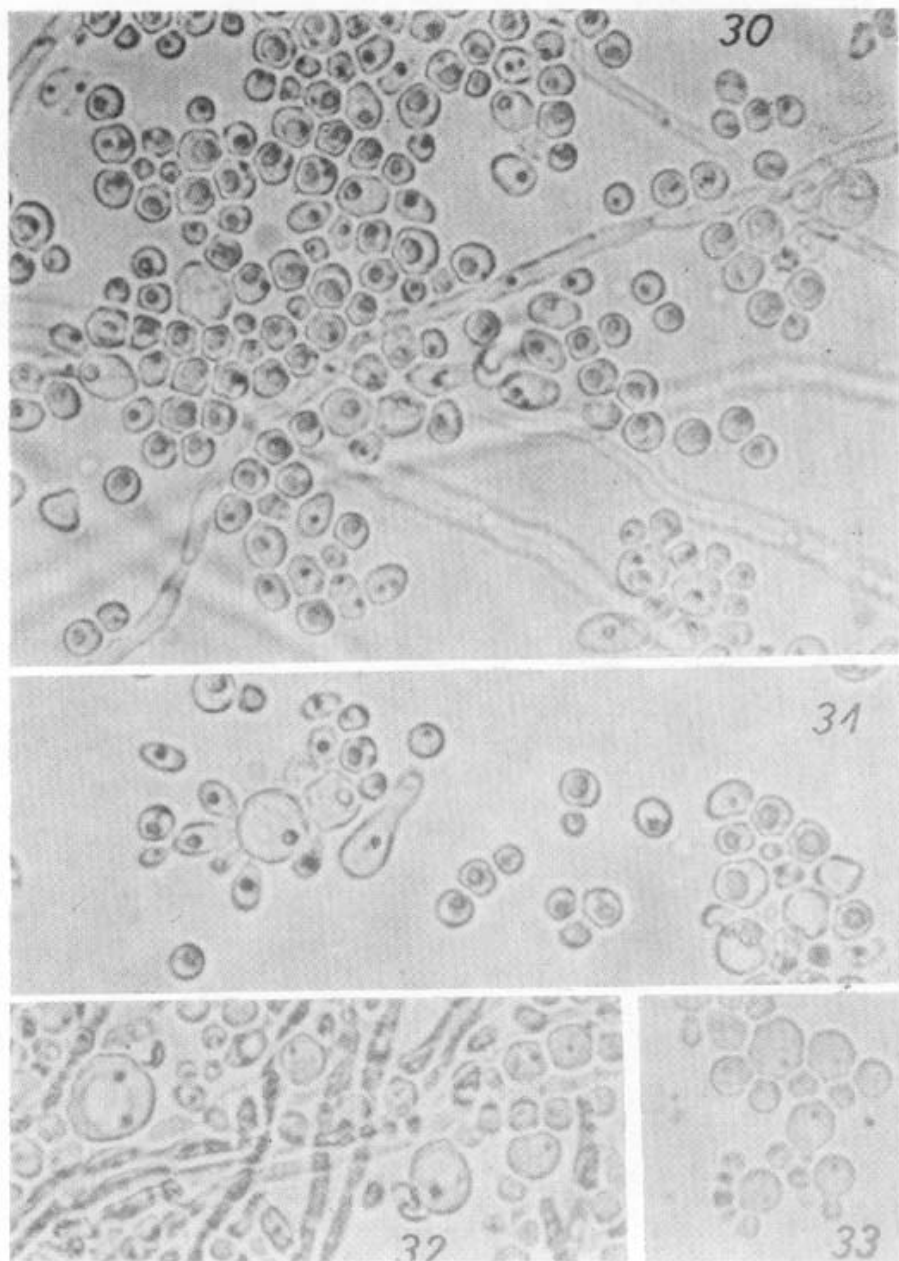




Ryc. 25-29. *Candida albicans* (Robin) Berkh.

(szczep nr 106 z III grupy): 25 — blastospory w główkach na agarze glukozowo-ziemniaczanym; 26 — chlamydospora; 27, 29 — komórki z młodej kultury w płynnej pożywce mineralnej z maltozą; 28 — generacja komórek dużych na agarze kukurydzianym ( $\times 1000$ )

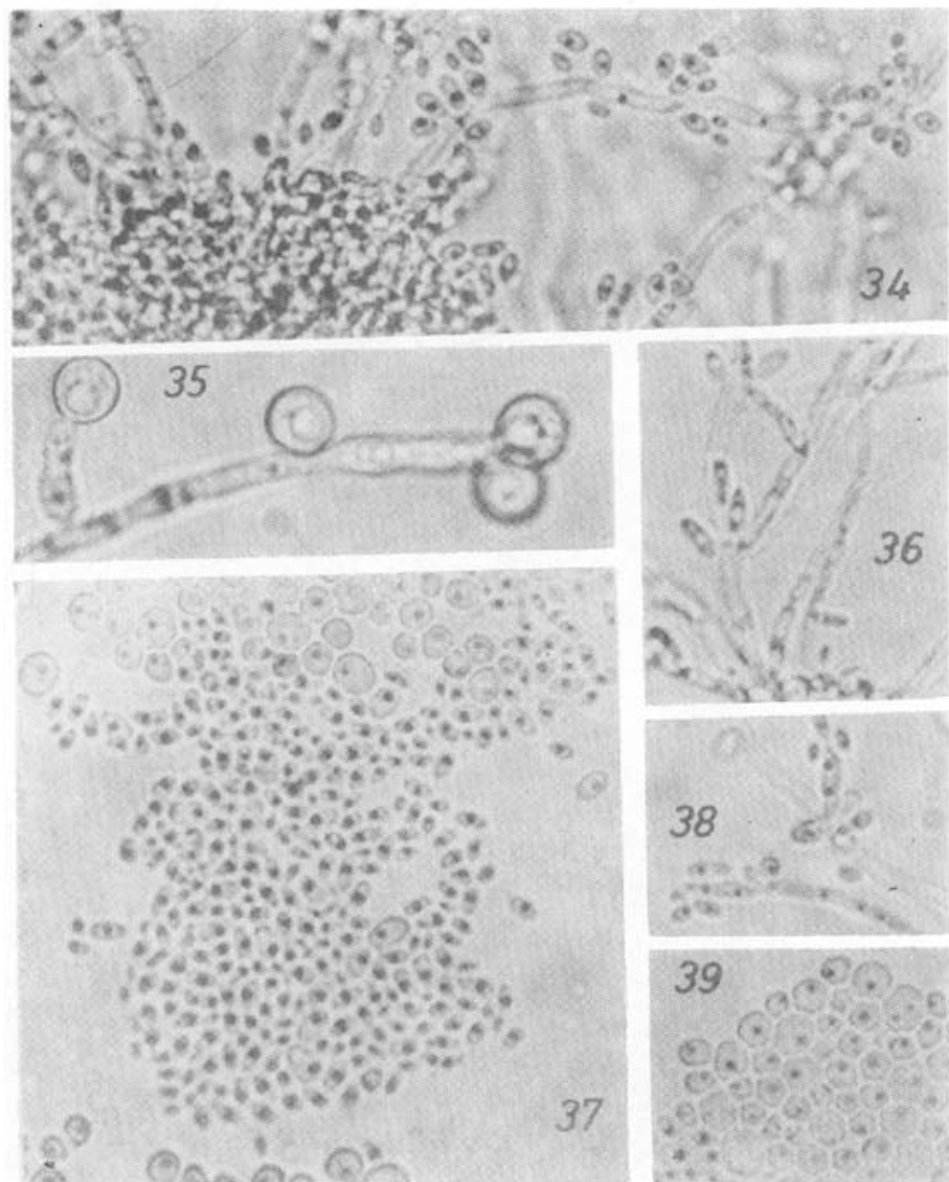
(strain No. 106 from group III): 25 — blastospores in heads on PDA; 26 — chlamydospore; 27, 29 — cells from a young culture in a liquid mineral medium with maltose; 28 — generation of large cells on cornmeal agar ( $\times 1000$ )



Ryc. 30-33. *Candida albicans* (Robin) Berkh.

(szczep nr 106 z III grupy): 30-32 — fragment 5-dniowej kultury na agarze kukurydzianym; 33 — pączkujące komórki w mineralnej pożywce płynnej z maltozą  
(× 1000)

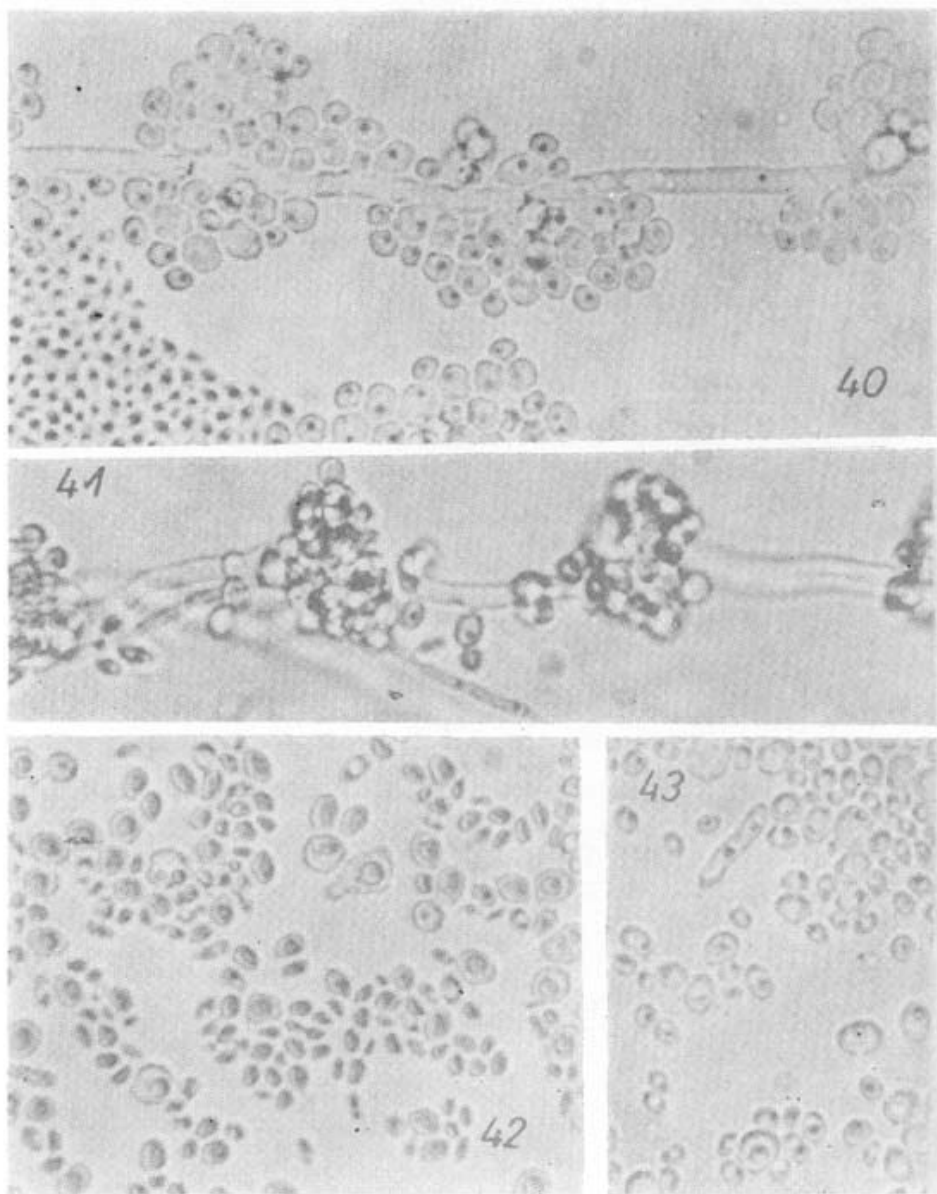
(strain No. 106 from group III): 30-32 — fragment of a 5-day-old culture on cornmeal agar; 33 — budding cells in a liquid mineral medium with maltose (× 1000)



Ryc. 34-39. *Candida tropicalis* (Cast.) Berkh.

(szczep nr 32): 34, 36, 38 — powstawanie blastospor na nibystrzępkach; 35 — 4 chlamydospory; 37, 39 — fragment kultury na agarze glukozowo-ziemniaczanym ( $\times 1000$ )

(strain No. 32): 34, 36, 38 — formation of blastospores on pseudohyphae; 36 — four chlamydospores; 37, 39 — fragment of a culture on PDA ( $\times 1000$ )



Ryc. 40-43. *Candida tropicalis* (Cast.) Berkh.

(szczep nr 32): 40, 41 — blastospory w główkach, 42 — fragment 5-dniowej kultury na agarze kukurydzianym; 43 — fragment 7-dniowej kultury na pożywce agarowo-peptonowo-giukozowej z ekstraktem drożdżowym ( $\times 1000$ )

(strain No. 32): 40, 41 — blastospores in heads; 42 — fragment of a 5-day-old culture on cornmeal agar; 43 — fragment of a 7-day-old culture on glucose-yeast extract peptone agar ( $\times 1000$ )

Tabela 2—Table 2

Charakterystyka fizjologiczna szczepów *Candida albicans* (grupy I-III) i *C. tropicalis* wyosobnionych z ziarniaków pszenicy  
 Physiological properties of strains of *Candida albicans* (groups I-III) and *C. tropicalis* isolated from wheat seeds

Właściwości fizjologiczne Physiological properties	<i>Candida albicans</i>			<i>Candida tropicalis</i>	Właściwości fizjologiczne Physiological properties	<i>Candida albicans</i>			<i>Candida tropicalis</i>
	I	II	III			I	II	III	
Fermentacja Fermentation					Skrobia rozpuszczalna Soluble starch	+	+	+	+
Glukoza Glucose	+	+	+	+	D-Ksyloza D-Xylose	+	+	+	+
Galaktoza Galactose	+	+	+	+	L-Arabinoza L-Arabinose	+	+	+	+
Sacharoza Saccharose	+	+	+	±	D-Arabinoza D-Arabinose	-	±	-	-
Maltoza Maltose	+	+	+	+	D-Riboza D-Ribose	-	-	-	-
Celobioza Cellobiose	-	-	-	-	L-Ramnoza L-Rhamnose	-	-	-	+
Trehaloza Trehalose	±	±	±	±	Etanol Ethanol	+	+	+	+
Laktoza Lactose	-	-	-	-	Glicerol Glycerol	±	±	+	+
Melibioza Melibiose	-	-	-	-	Erytryt Erythritol	-	±	-	-
Rafinoza Raffinose	-	-	-	-	Ribitol Ribitol	+	+	+	+
Melezytoza Melezitose	-	-	-	±	Dulcyt Dulcitol	-	-	-	-
Inulina Inulin	-	-	-	-	Galactitol Galactitol	-	-	-	-
Asymilacja Assimilation					Mannit Mannitol	+	+	+	+
Glukoza Glucose	+	+	+	+	Glucitol Glucitol	+	+	+	+
Galaktoza Galactose	+	+	+	+	$\alpha$ -Metyl-D-glukozyd $\alpha$ -Methyl-D-glucoside	-	-	-	+
L-Sorboza L-Sorbosc	+	+	+	-	Salicyna Salicin	-	-	-	+
Sacharoza Saccharose	+	+	+	+	DL-Kwas mlekowy DL-Lactic acid	±	±	±	±
Maltoza Maltose	+	+	+	+	Kwas bursztynowy Succinic acid	+	±	±	±
Celobioza Cellobiose	-	-	-	+	Kwas cytrynowy Citric acid	±	±	±	±
Trehaloza Trehalose	+	+	+	+	Inozyt Inositol	-	-	-	-
Laktoza Lactose	-	-	-	-	Wzrost w pożywce bez witamin Growth in vitamin- free medium	±	±	±	±
Melibioza Melibiose	-	-	-	-	Asymilacja KNO <sub>3</sub> Assimilation of KNO <sub>3</sub>	-	-	-	-
Rafinoza Raffinose	-	-	-	-	Rozkład arbutyny Splitting of arbutin	-	-	-	+
Melezytoza Melezitose	-	-	±	+	Wytwarzanie związków skrobiopodobnych Formation of starch- like compounds	-	-	-	-
Inulina Inulin	-	-	-	-					

stało zwykle kilka cienkich strzępek (ryc. 23, 24). U szczepów grupy I i III obserwowano mniejsze i znacznie rzadziej występujące komórki podobne do komórek stalagmoidalnych (ryc. 12, 27, 29). Nie było to więc cechą obcą dla badanych szczepów *C. albicans*. Ponadto szczepy grupy III wytwarzały w niektórych pożywkach płynnych nieliczne kolankowate komórki spotykane u przedstawicieli rodzaju *Trichosporon* Behrend (ryc. 29). Pewna zdolność asymilacji melezytozy i D-arabinozy oraz falisty charakter wzrostu strzępek u szczepów grupy II wskazują na ich pokrewieństwo z gatunkiem *Candida claussenii* Lodder et van Rij. Pokrewieństwo tych dwóch grzybów jest podkreślane również w literaturze (Lodder 1970 b; van Uden, Buckley 1970).

Na uwagę zasługują jeszcze inne cechy morfologiczne, rzadziej omawiane w pracach taksonomicznych. Chodzi tu o występowanie w badanych kulturach *C. albicans* komórek wegetatywnych o zróżnicowanych wymiarach: małych komórek haploidalnych powstających jako rezultat podziału redukcyjnego (ryc. 9, 11, 23, 33), oraz komórek dużych, które podobnie jak chlamydospory, endospory, nibygrzybnia i grzybnia typowa — są zwykle uważane za znajdujące się w fazie diploidalnej. Istota tego zróżnicowania została wyjaśniona w badaniach biochemicznych przeprowadzonych przez van der Walta (1967) i van der Walta i Pitout (1969), którzy stwierdzili charakterystyczne różnice w zawartości DNA u tych typów komórek.

Ponadto niemal u wszystkich badanych szczepów *C. albicans* stwierdzono obecność specyficznych, zdolnych do pączkowania komórek o wymiarach  $5,0-9,1 \times 5,2-11,0 \mu\text{m}$ , posiadających na powierzchni charakterystycznie zawiniętą resztkę ściany komórkowej często przerwana (ryc. 6, 8, 9, 13, 16, (?) 17, 31, 32), albo nie przerwana (ryc. 7, 14, (?) 17). Podobny obraz morfologiczny obserwuje się pod mikroskopem świetlnym u niektórych drożdży, np. u *Debaryanomyces hansenii* (Zoph) Lodder et van Rij; uważa się taką resztkę ściany komórkowej za pozostałość po innej komórce, względnie po pączku, które połączyły się z komórką macierzystą worka. Te resztki ściany mogą być więc dowodem procesu płciowego go typu koniugacji. Wewnątrz komórek badanych szczepów *C. albicans* z widoczną resztką ściany i w innych komórkach bez takich resztek powstawały zarodniki (ryc. 7, 8, 13, 14, 17, 22, 30, 31). Zarodniki te nie barwiły się jednak barwnikami specyficznymi dla askospor i dlatego określono je jako endospory. Zarodniki te powstawały najliczniej na pożywce agarowo-kukurydzianej, po 5-7 dniach inkubacji w temperaturze  $24^{\circ}\text{C}$  i w miarę trwania hodowli nie ulegały zasadniczym zmianom na żadnej ze stosowanych pożywek. Windisch i Roberts podali opis podobnych utworów znalezionych w kulturach *Candida pulcherrima* (Lindner) Windisch, sugerując że mogą one reprezentować stadium workowe, co nie zostało jednak potwierdzone przez innych badaczy (Lodder, Kre-

ger-van Rij 1967). Podobne, lecz mniejsze kuliste utwory znajdujące się wewnątrz komórek *C. albicans*, są ciałkami lipidowymi (Balish, Svihla 1966). Wykryte u badanych szczepów endospory pod mikroskopem świetlnym załamywały światło nieco inaczej niż ciałka lipidowe, oraz pod wpływem Sudanu III przybierały różowe zabarwienie o średniej intensywności, co wskazuje na obecność lipidów. Jednak ich środek, widoczny zwykle jako punkt, nie zabarwiał się. Akumulacja lipidów w zarodnikach typu endospor i askospor jest procesem mało poznanym, o którym w literaturze są jedynie nieliczne doniesienia.

Pozycja systematyczna *C. albicans* jest zagadnieniem kontrowersyjnym. W 1969 r. van der Walt zaproponował zmianę nazwy na *Syringospora albicans* (Robin) C. W. Dodge zaliczaną obecnie do synonimów *C. albicans*, oraz przeniesienie rodzaju *Syringospora* Quinquad do rodziny *Tulasnellaceae* (*Basidiomycetes*). Jego zdaniem większe wielojądrowe komórki, których obecność stwierdzono też w trakcie badań przeprowadzonych przez mnie (ryc. 9, 11), mogą powstawać z diploidalnych chlamydospor i być odpowiednikiem teliospor. Van der Walt uważa, że małe, kuliste bazydiospory powstają na krótkich sterygmach lub — bezpośrednio na teliosporach — w drodze pączkowania. Takie komórki z powstającymi na nich zarodnikami obserwowano wprawdzie w badanych tu starszych kulturach na różnych pożywkach (ryc. 9, 11, 12, 23, (?) 31, 33). Zaliczenie jednak *C. albicans* do podstawczaków budzi wątpliwości. Badania biochemiczne wskazują bowiem, że zawartość guaniny i cytozyny (G + C) w kwasach dezoksyrybonukleinowych uważana dzisiaj za wskaźnik bliskiego pokrewieństwa u grzybów wynosi dla workowców około 50 mol% lub mniej, a dla podstawczaków ponad 50 mol% (Storck 1966; Uryson, Bieloziński 1966; Vanuszin, Bieloziński, Bogdanova 1960). Dla przykładu u pokrewnych gatunków *C. albicans*, *C. clausenii*, *C. stellatoidea* (Jones et Martin) Langeron et Guerra i *C. tropicalis* stwierdzono zawartość (G + C) w granicach 35,1-35,7 mol% (Stenderup, Bak 1968). Zwraca na to uwagę także Lodder (1970 b) uważając, że *C. albicans* może być workowcem, u którego nie wykryto jednak stadium workowego.

Bliskie pokrewieństwo *C. albicans* i *C. tropicalis* dostrzegł również Sukroongreung i Miranda (1973). Stwierdzili oni u *C. tropicalis* obecność wszystkich stadiów rozwojowych opisanych przez van der Walta (1969) i uznali, że powstawanie drobnych komórek haploidalnych na dużych komórkach diploidalnych jest procesem znanym pod nazwą pączkowania mejotycznego (buddingmeiosis), a komórki macierzyste nie są teliosporami.

Szczepy opisane w niniejszej pracy jako *Candida tropicalis* (Cast.) Berkhout wytwarzały nibygrzybnie, na której powstawały położone okółkowo lub nieregularnie blastospory (ryc. 34, 36, 38), oraz — niekiedy



—grzybnię typową. Obydwie te formy bywały dobrze rozgałęzione w starszych kulturach. Szczepy te różniły się jednak od standardowego opisu podanego przez van Udena i Buckley'a (1970): wykazywały bowiem tylko bardzo słabą fermentację sacharozy, asymilowały L-ramnozę (tab. 2), miały na standardowych pożywkach nieco mniejsze wymiary komórek i wytwarzały sporadycznie chlamydospory (ryc. 35). Mimo tych różnic i dużego podobieństwa do *Candida sake* (Saito et Ota) van Uden et Buckley, nie można było zaliczyć badanych szczepów do innego gatunku.

Z pracy Lodder i Kreger-van Rij (1967) wynika, że szczepy *C. tropicalis* opisane przez Castelaniego odznaczały się także słabą fermentacją galaktozy i sacharozy. Słabą fermentacją sacharozy u 2 szczepów *C. tropicalis* (spośród 41 zbadanych) stwierdziły również Lodder i Kreger-van Rij (1967) i uznały je za przejściowe pomiędzy *C. tropicalis* i *C. albicans*. O pokrewieństwie badanych przez mnie szczepów *C. tropicalis* ze szczepami *C. albicans* świadczyć może nie tylko słaba fermentacja sacharozy, ale także obecność chlamydospor i powstawanie blastospor w główkach (ryc. 40, 41), o ich odrębności natomiast świadczy przede wszystkim zdolność rozkładu wiązań  $\beta$ -glikozydowych (tab. 2).

W kulturach badanych szczepów *C. tropicalis* wyróżniono generację komórek o wymiarach  $0,9-2,2 \times 3,0-4,0 \mu\text{m}$ , przypuszczalnie w stadium haplofazy, oraz generację komórek większych o wymiarach  $3,0-3,2 \times 4,8-5,3 \mu\text{m}$ , przypuszczalnie w stadium diplofazy (ryc. 37, 39, 40). Pod mikroskopem świetlnym nie było można jednak zaobserwować koniugacji komórek. Zaobserwowano natomiast jak małe, wydłużone komórki powiększały się i przybierały w końcu kształt zbliżony do kulistego (ryc. 37, 39, 40). U większości szczepów obserwowano również powstawanie lekko spłaszczonych endospor (ryc. 42, 43) podobnych do endospor *C. albicans*. Endospory te nie barwiły się w barwnikach stosowanych do rozpoznawania askospor. Komórki zawierające endospory wytwarzały często pojedyncze, wydłużone pączki (ryc. 42) lub uwypuklenia przypominające krótkie strzępki rostkowe.

Damm (1930) opisał w 3-miesięcznych kulturach *C. tropicalis* utwory przypominające worki, a znajdujące się wewnątrz i występujące przeważnie pojedynczo zarodniki uważał za askospory, pomimo braku zabarwienia pod wpływem specyficznych barwników. Przypuszczenie jego nie znalazło jednak potwierdzenia w późniejszych badaniach (Lodder, Kreger-van Rij (1967). Bardziej szczegółowe studia nad formami zarodnikowania mogłyby wyjaśnić w przyszłości te mało poznane zagadnienia.

Dziękuję dr N. J. W. Kreger-van Rij za potwierdzenie diagnozy szczepów nr 26 i 30.

## LITERATURA

- Balish E., Svihla G., 1966, Ultraviolet microscopy of *Candida albicans*, J. Bact. 92: 1812-1820.
- Carmo-Sousa L., 1969, Distribution of yeasts in nature, w: Rose A. H., Harrison J. S., eds., The yeasts. t. 1. Biology of yeasts, 78-105. London-New York.
- Christensen C. M., 1957, Deterioration of stored grain by fungi. Bot. Rev. 58: 108-134.
- Christensen C. M., Gordon D. R., 1948, The mold flora of stored wheat and corn and its relation to heating of moist grain, Cereal Chem. 25: 40-51.
- Chrzanowska H., 1963, Kształtowanie się mikroflory bakteryjnej i grzybowej ziarna żyta w zależności od warunków zbioru i przechowywania, Warszawa-Poznań; (maszynopis).
- Damm H., 1930, Hefen und hefenähnliche Pilze im Säuglingsdram, Beitrag zur Kenntnis der Gärungsmonilien. Diss., Kiel.
- Gentles J. C., La Touche C. J., 1969, Yeasts as human and animal pathogens, w: Rose A. H., Harrison J. S., eds., The yeasts. t. 1. Biology of yeasts, 107-182. London-New York.
- Holland M. L., Kuntz L. J., 1961, Evaluation of molybdate agar as a selective, differential medium for yeasts, J. Bact. 81: 869-874.
- Ingram M., 1969, Yeast science today and tomorrow, Antonie Van Leeuwenhoek. Yeast Symposium, Suppl., 35: 7-29.
- Last F. T., Price D., 1969, Yeasts associated with living plants and their environments, w: Rose A. H., Harrison J. S., eds., The yeasts. t. 1. Biology of yeasts, 183-218. London-New York.
- Lodder J., ed., 1970 a, The yeasts. Amsterdam-London.
- Lodder J., 1970b, General classification of the yeasts, w: Lodder J., ed., The yeasts, 1-33. Amsterdam-London.
- Lodder J., Kreger-van Rij N. W., 1967, The yeasts. 2<sup>d</sup> ed. Amsterdam.
- Maciejowska Z., 1967, Z badań nad mikroflorą gleby torfowej i jej wpływem na zdrowość korzeni niektórych roślin kapustnych, Prace Naukowe IOR. 9: 117-144.
- Podjapolska O. P., Mirzojeva V. A., 1955, Mikroflora pszenicznego ziarna i jego izmienienia v zavisnosti ot uslovij chranienia, WNIIZ. 30: 14-41.
- Rose A. H., Harrison J. S., eds., 1969, The yeasts. t. 1. Biology of yeasts. London-New York.
- Stawicki S., 1967, Przechowywanie i wgłębne zakażenie ziarna pszenicy jako mikrobiologiczny wskaźnik jego jakości i trwałości. Roczniki WSR w Poznaniu, z. 13: 1-61.
- Stenderup A., Bak L. A., 1968, Deoxyribonucleic acid base composition of some species within the genus *Candida*, J. gen. Microbiol. 52: 231-236.
- Storck R., 1966, Nucleotide composition of nucleic acids of fungi. II. Deoxyribonucleic acids, J. Bact. 91: 227-230.
- Sukroengreung S., Miranda L. R., de, 1973, A new aspect of the life cycle of *Candida tropicalis*, Antonie Van Leeuwenhoek. 39: 65-80.
- Uden N. van, Buckley H., 1970, *Candida* Berkhout, w: Lodder J., ed., The yeasts, 893-1087. Amsterdam-London.
- Uryson S. O., Biełozierski A. N., 1960, Nukleotidnyj sostav dezoksyribonukleinowych i ribonukleinowych kislot niekotorych gribov. Doklady Akad. Nauk SSRR. 132: 708-711.

- Vaniuszin B. F., Bielozierski A. N., Bogdanova S. L., 1960, Srovnatelnoje izučenje nukleotidnogo sostava ribonukleinovych i dezoksiribonukleinovych kislot u niekotorych gribov i miksomicetov, Doklady Akad. Nauk SSRR. 134: 1222-1225.
- Walt P. J. van der, 1967, Sexually active strains of *Candida albicans* and *Cryptococcus albidus*, Antonie Van Leeuwenhoek. 33: 246-256.
- Walt P. J. van der, 1969, The genus *Syringospora* Quinquad emend. Mycopath. Mycol. Applicata. 40: 231-243.
- Walt P. J. van der, 1970, Criteria and methods used in classification, w: Lodder J., ed., The yeasts, 34-113. Amsterdam-London.
- Walt P. J. van der, Pitout M. J., 1969, Ploidy differences in *Sporobolomyces salmonicolor* and *Candida albicans*, Antonie Van Leeuwenhoek. 35: 227-231.

#### SUMMARY

The paper is concerned with the morphology and physiology of strains of *Candida albicans* (Robin) Berkhout and *C. tropicalis* (Cast.) Berkhout isolated in the years 1971-73 from 5 varieties of winter wheat seeds from 4 regions of Poland. Among strains of *C. albicans* groups I, II, III were differentiated. Some morphological and physiological differences between these groups were found. In group II the presence of stalagmoid cells was observed, moreover a slight waving of hyphae and a weak assimilation of melezitose and D-arabinose was observed. On this basis a relation of these strains to *C. clausenii* is suggested. All strains of *C. tropicalis* exhibited a weak fermentation of saccharose and they differed from typical strains of this species by the assimilation of L-rhamnose. Because of a weak fermentation of saccharose and formation of terminal chlamydospores and blastospores in heads, a relation of these strains to *C. albicans* is suggested. In strains of *C. albicans* the presence of cells similar to asci of *Debaryanomyces*, containing usually one endospore, was observed. These endospores did not stain with ascospore stains. Similar endospores were found in strains of *C. tropicalis*.