

Grzyby drożdżoidalne występujące na ziarniakach pszenicy

V. Studium taksonomiczne szczepu *Bullera alba* (Hanna) Derx

ZOFIA MACIEJOWSKA-POKACKA

Instytut Ochrony Roślin, Poznań

Maciejowska-Pokacka Z.: (Institute of Plant Protection, 60-318 Poznań, Miczurina 20, Poland); Yeasts occurring on wheat seeds. V. A taxonomic study of a strain of *Bullera alba* (Hanna) Derx. Acta Mycol. 15 (2): 295-302, 1979.

Morphology and physiology of a strain of *Bullera alba* was studied. The fungus could be distinguished from *Cryptococcus laurentii* var. *flavescens* only on the base of ballistospore formation. The isolate studied formed a true septate mycelium.

WSTĘP

Grzyb *Bullera alba* (Hanna) Derx został wyisobniony po raz pierwszy w Kanadzie, ze słomy pszennej i owsianej porażonej rdzą (Bisby i wsp. 1929). Hanna, badając cechy morfologiczne grzyba, stwierdził wytwarzanie balistospor i na tej podstawie zaliczył go do rodzaju *Sporobolomyces* Kluyver et van Niel, proponując nazwę gatunkową *S. albus*. Derx (1930) prowadząc badania nad grzybami z rodziny *Sporobolomycetaceae* wyodrębnił nowy rodzaj, *Bullera* Derx, opisując gatunek *B. grandispora* znaleziony na liściach dębu porażonych przez przedstawiciela *Erysiphales* — mączniakiem prawdziwym. Jednocześnie porównał on swój izolat *B. grandispora* z kanadyjskim izolatem *S. albus* i doszedł do wniosku, że obydwa grzyby powinny być określone jako gatunki *Bullera*, ponieważ ich balistospery różniły się od balistospor znanych dotychczas gatunków *Sporobolomyces* symetrycznym kształtem. Grzyby z rodzaju *Sporobolomyces* wytwarzały natomiast asymetryczne balistospery o kształcie zbliżonym do nerkowatego. Rodzaj *Bullera* Derx jest zaliczany obecnie do rodziny *Sporobolomycetaceae* w rzędzie *Sporobolomycetales* (*Deuteromycotina*). Dotychczas znane gatunki *Bullera* są grzybami

o białawej, kremowej lub żółtawej barwie kolonii, rozmnażającymi się głównie za pomocą pączkowania i wytwarzającymi symetryczne balistospory.

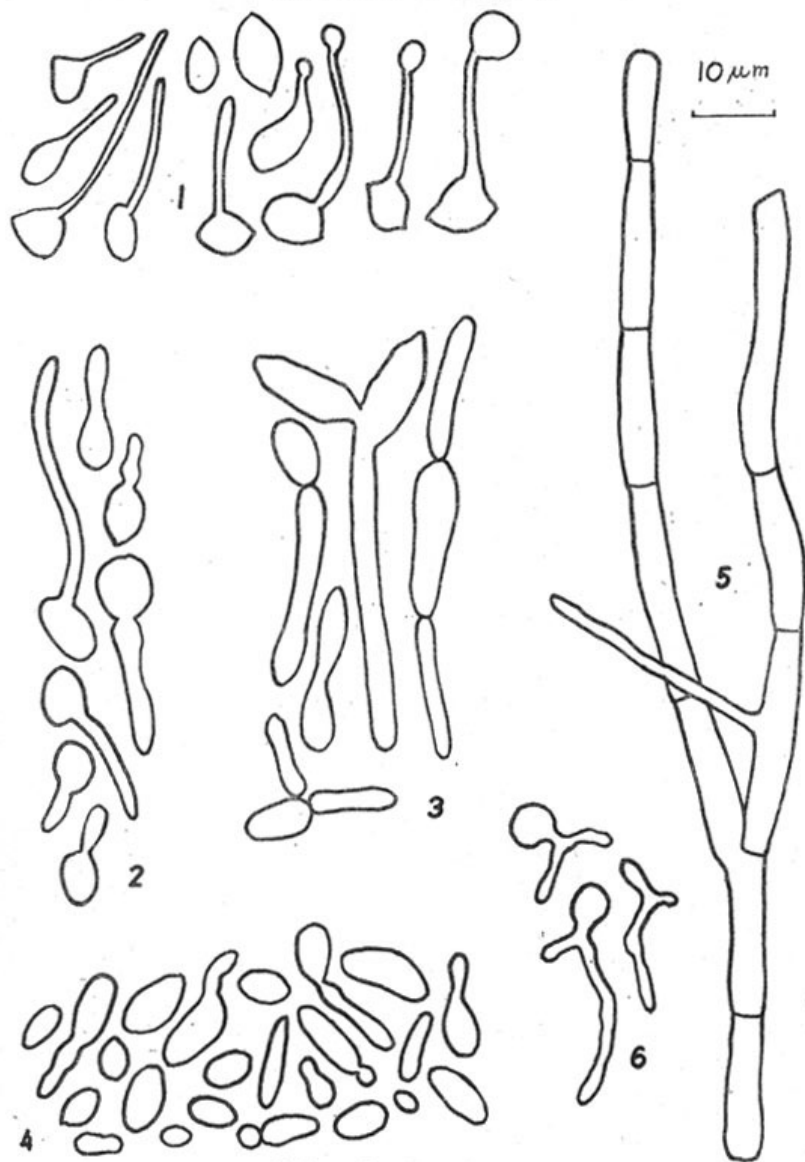
MATERIAŁ I METODY

Metody badań oraz dane dotyczące materiału zostały omówione w poprzedniej publikacji (Maciejowska-Pokacka 1976). Prowadząc badania składu gatunkowego flory grzybów drożdżoidalnych na ziarniakach pszenicy w latach 1971-1974 otrzymano jeden szczep *B. alba*, który jest przedmiotem niniejszej pracy.

DYSKUSJA I WYNIKI

Szczep *B. alba* nr 139 wyosobniono z nie odkażanych ziarniaków pszenicy ozimej odmiany Grama, po 4-miesięcznym okresie przechowywania ziarna w temperaturze pokojowej. Pierwszym etapem badań były testy fizjologiczne, których wyniki przedstawiono w tabeli 1. Na podstawie stwierdzonych cech fizjologicznych oraz niektórych cech morfologicznych szczep nr 139 został początkowo określony jako *Cryptococcus laurentii* (Kuff.) Skinner var. *flavescens* (Saito) Lodder et Kreger-van Rij. Obok niektórych cech fizjologicznych, charakterystycznych dla tej odmiany *C. laurentii* (brak zdolności asymilacji erytrytu i asymilacja melibiozy), obserwowano w kulturach obecność komórek kolankowatych, a także i elementów trójdzielnych (tabl. I, ryc. 3, 4) przybierających niekiedy nieregularne kształty. Podobne utwory stwierdzano w badanych kulturach *C. laurentii* var. *flavescens* (Maciejowska-Pokacka 1977b). Szczep nr 139 wytwarzał na agarze ziemniaczanym z glukozą kolonie gładkie, pastowate, o kremowym zabarwieniu, podobnie jak szczepy określone jako *C. laurentii* var. *flavescens*. Ponieważ w starszych kulturach stwierdzono niejednolity rozwój brzegów kolonii, pozostawiono je do dalszych badań. Badania mikroskopowe wykazały na brzegach tych kolonii obecność komórek ze sterygmami o średniej długości 17 μm (tabl. I, ryc. 1, 13, 14, 18, 19), na których powstawały balistospory o kształcie zbliżonym do kulistego, zakończone małym wyrostkiem w kształcie tępego „zábka” od strony sterygmy. Po wykonaniu testu na odwróconych płytkach Petriego stwierdzono na wieczkach niektórych płytek obraz lustrzany kultur, powstający w wyniku uwalniania balistospor dzięki mechanizmowi kropelkowemu. Balistospory miały kształt charakterystyczny dla gatunków *B. alba* i *B. grandispora* (Derx 1930). Wymiary balistospor szczepu nr 139 na agarze kukurydzianym były nieco większe niż wymiary podawane dotychczas w literaturze dla tego gatunku, mianowicie wynosiły one $3,1-6,0 \times 3,9-9,2 \mu\text{m}$, średnio $4,1 \times 7,2 \mu\text{m}$. Wymiary bali-

Tablica I — Plate I



Bullera alba (Hanna) Derx

Szczep nr 139, fragmenty kultur na agarze kukurydzianym po 5 dniach: 1 — ballistospori wytwarzające strzępki rostkowe i sterygmy; 2, 4, 6 — komórki pączkujące i komórki kielkujące w krótkie strzępki; fragmenty kultur po 14 dniach: 3 — elementy prymitywnej nibygrzybni; 5 — grzybnia typowa

Strain No. 139, fragments of cultures on cornmeal agar after 5 days: 1 — ballistospores forming germination hyphae and sterigmata; 2, 4, 6 — budding cells and cells forming short hyphae; fragments of cultures after 14 days: 3 — elements of a primitive pseudomycelium; 5 — septate mycelium

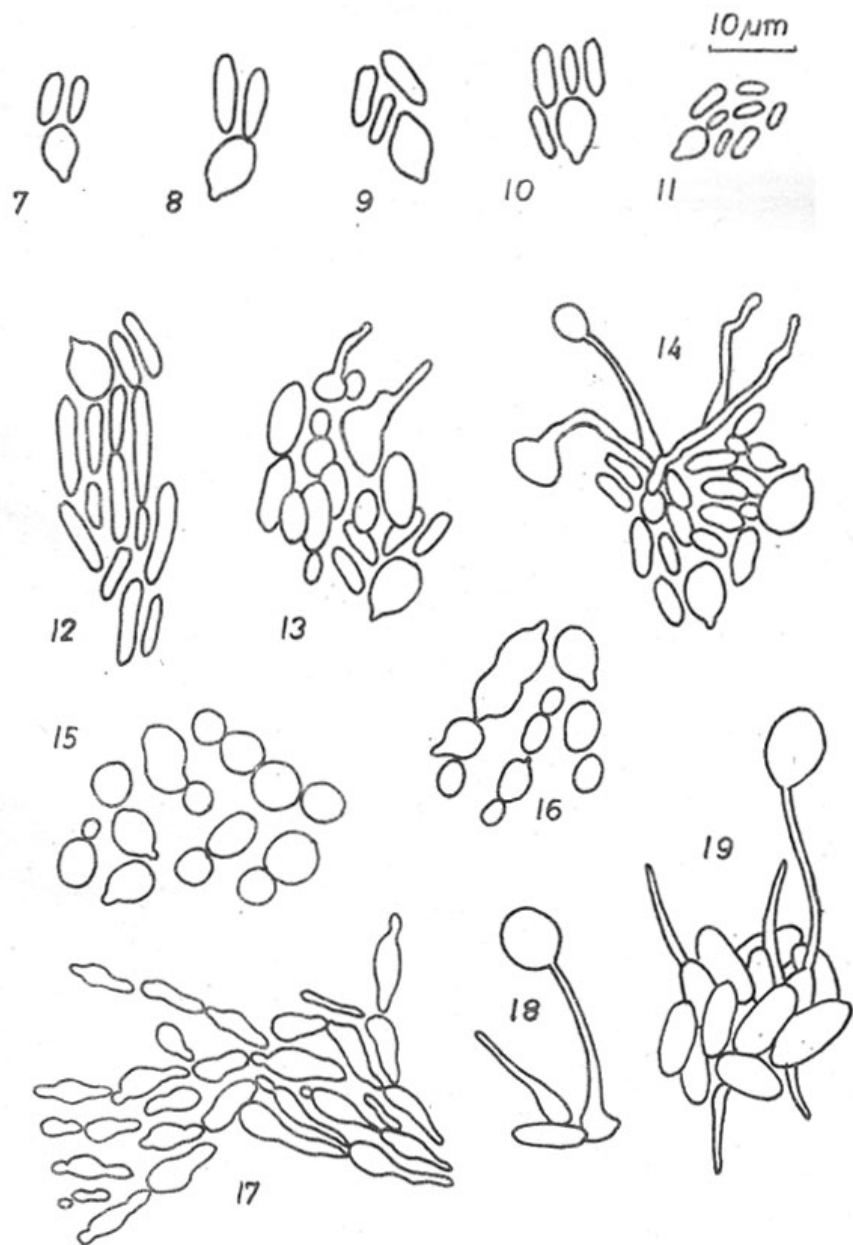
stospor oryginalnego szczepu *B. alba* są nieco mniejsze, mianowicie według H a n n a wynosiły one $4,3-4,8 \times 4,3-6,0 \mu\text{m}$. P h a f f (1970) z kolei podaje, że średnia wielkość balistospor wytwarzanych na agarze kukurydzianym przez 4 badane przez niego szczepy wahała się w granicach $3,0-5,0 \times 3,5-5,8 \mu\text{m}$. Różnice te są jednak zbyt małe, aby upoważniały do wyróżnienia nowego gatunku lub odmiany grzyba.

Balistospory wykazywały dużą żywotność, ponieważ większość z nich pączkowała wkrótce po uwolnieniu z sterygm (tabl. II, ryc. 7-11). Pączki powstawały z reguły na biegunie przeciwległym do miejsca przyczepu balistospory do macierzystej sterygmy. Komórki powstające z pączkujących balistospor miały wydłużony kształt i ziarnistą protoplazmę. Wymiary komórek były zróżnicowane i wynosiły $1,3-3,2 \times 2,4-9,8 \mu\text{m}$. Komórki te mogły wydłużać się i pączkować na obu biegunach, tworząc niekiedy prymitywną nibygrzybnię (tabl. II, ryc. 12). Niektóre balistospory kiełkowały w krótkie strzępki, powstające przeważnie w pozycji bocznej w stosunku do podłużnej osi zarodnika (tabl. I, ryc. 1). Inne wytwarzały sterygmy, powstające w tej samej pozycji co strzępki (tabl. I, ryc. 1). W kulturach na agarze ziemniaczanym z glukozą i na agarze kukurydzianym można było wyróżnić ponadto inną generację komórek pączkujących (tabl. I, ryc. 2, 4, 6), różniącą się bardziej jednolitą protoplazmą i większymi wymiarami od komórek powstających w drodze pączkowania z balistospor. Wymiary tych komórek wynosiły $1,5-8,0 \times 2,1-12,5 \mu\text{m}$. Generacja większych komórek pączkujących stanowiła prawdopodobnie dalszy etap rozwoju komórek powstających z balistospor. Na komórkach tych powstawały również strzępki rostkowe (tabl. I, ryc. 2, 6), utwory podobne do niewykształconych sterygm (tabl. I, ryc. 4, tabl. II, ryc. 13, 14), albo dobrze wykształcone sterygmy, zdolne do wytwarzania balistospor (tabl. II, ryc. 19). W kulturach szczepu nr 139 na agarowych podłożach obserwowano zarówno elementy pseudogrzybni

Tablica II — Plate II

Szczep nr 139, fragmenty kultur na agarze kukurydzianym po 7 dniach: 7-12 — kolonie powstające z pączkujących balistospor; 13 — komórki pączkujące i wytwarzające niedokształcone sterygmy; 14, 18, 19 — powstawanie sterygm i balistospor; 15 — fragment kultury w wodzie drożdżowej z dodatkiem peptonu po 4 dniach; 16 — fragment kultury w mineralnej pożywce płynnej z dodatkiem glukozy po 6 dniach; 17 — prymitywna nibygrzybnia w kulturze na agarze ziemniaczanym z glukozą po 7 dniach

Strain No. 139, fragments of cultures on cornmeal agar after 7 days; 7-12 — colonies from budding ballistospor; 13 — budding cells and cells forming underdeveloped sterigmata; 14, 18, 19 — formation of sterigmata and ballistospor; 15 — fragment of a culture in yeast-extract peptone water after 4 days; 16 — fragment of a culture in a liquid mineral medium with glucose after 6 days; 17 — a primitive pseudomycelium in culture on PDA after 7 days



(tabl. II, ryc. 12, 17), jak i grzybnię typową z przegrodami (tabl. I, ryc. 5), która jednak powstawała rzadko. Rozwój kultur na podłożach agarowych był dobry, w przeciwieństwie do rozwoju grzyba w kulturach płynnych, w których wzrost był powolny i ograniczony.

Jedną z cech diagnostycznych przyjętych dla rodzaju *Bullera* był do niedawna brak zdolności tworzenia grzybni (Phaff 1970). To kryterium okazało się niesłuszne, ponieważ już Stadelmann (1975) doniósł o występowaniu grzybni u opisanego przez niego gatunku *B. piricola*. Z niniejszej pracy wynika natomiast, że tę samą cechę ma *B. alba*, co dotychczas nie było stwierdzone przez innych badaczy. Literatura podaje, że gatunek *B. alba* i odmiany gatunku *Cryptococcus laurentii* mają jednakowe cechy fizjologiczne (Kreger-van Rij 1955; Phaff 1970) i morfologiczne. Jedyną cechą pozwalającą na odróżnienie tych dwóch gatunków jest wytwarzanie przez *B. alba* balistospor. Panuje więc powszechnie opinia, że szczepy *Cryptococcus laurentii* mogą być szczepami *B. alba*, u których nastąpił zanik mechanizmu kropelkowego służącego do uwalniania tego typu zarodników. Badania przeprowadzone poprzednio na szczepach 3 odmian *C. laurentii* (Maciejowska-Pokacka 1977a, b) wykazały obecność prymitywnych sterygm na komórkach, w koloniach tych szczepów. Takie same niedokształcone sterygmy występowały u szczepu nr 139, co jest jednym z dowodów świadczących o prawdziwości tych przypuszczeń.

Dodatkowego omówienia wymagają niektóre aspekty cech fizjologicznych szczepu nr 139. Cztery szczepy *B. alba* badane przez Phaff'a (1970) wykazywały zdolność pobierania α -metyl-D-glukozydu. Szczep *B. alba* nr 139 nie używał tego składnika, co wskazywało by na to, że jego cechy fizjologiczne są najbardziej zbliżone do cech *C. laurentii* var. *flavescens*. Inną różnicą, mającą prawdopodobnie niewielkie znaczenie taksonomiczne, jest niezdolność asymilacji kwasu cytrynowego przez szczep nr 139. Tu należy podkreślić, że wszystkie badane szczepy *Cryptococcus* wyosobnione przeze mnie z ziarniaków pszenicy asymilowały bardzo słabo ten składnik, albo nie używały go wcale. Cecha ta więc mogła być uwarunkowana ekologicznie i uzależniona od cech substratu, z którym były związane badane grzyby.

Małą częstotliwość występowania *B. alba* na ziarniakach pszenicy można było wytłumaczyć tym, że grzyb ten występuje w naturze głównie wiosną i jesienią z powodu niskiego optimum temperatury wynoszącego około 16°C. Ponadto liczba grzybów z rodzaju *Bullera* izolowanych w warunkach naturalnych jest zwykle o wiele niższa, niż ogólna liczba innych grzybów drożdżoidalnych (Fokkema i wsp.; 1976, Pady 1974). Szczep *B. alba* nr 139 również rozwijał się najlepiej w temperaturze 15-16°C, natomiast wzrost jego uległ całkowitemu zahamowaniu

Tabela 1 — Table 1

Charakterystyka fizjologiczna szczepu *Bullera alba* (Hanna) Derx
wysobnionego z ziarniaków pszenicy
Physiological characteristics of a strain of *Bullera alba* (Hanna) Derx
isolated from wheat seeds

Właściwości fizjologiczne — Physiological characteristics			
Asymilacja — Assimilation			
Glukoza	+	Glicerol	+
Glucose		Glycerol	
Galaktoza	+	Erytryt	—
Galactose		Erythritol	
L-sorboza	—	Ribitol	+
L-sorbose		Ribitol	
Sacharoza	+	Dulecyt	+
Saccharose		Galactitol	
Maltoza	+	Mannit	+
Maltose		Mannitol	
Celobioza	+	Glucitol	+
Cellobiose		Glucitol	
Trehaloza	+	α -metyl-D-glukozyd	—
Trehalose		α -methyl-D-glucoside	
Laktoza	+	Salicyna	\pm
Lactose		Salicin	
Melibioza	+	DL-kwas mlekowy	\pm
Melibiose		DL-lactic acid	
Rafinoza	+	Kwas bursztynowy	+
Raffinose		Succinic acid	
Melezytoza	+	Kwas cytrynowy	—
Melezitose		Citric acid	
Inulina	—	Inozyt	+
Inulin		Inositol	
Skrobia rozpuszczalna	+	Wzrost na pożywce bez witamin	—
Soluble starch		Growth in vitamin-free medium	
D-ksyloza	+	Azotan potasu	—
D-Xylose		Potassium nitrate	
L-arabinoza	+	Azotyn potasu	—
L-arabinose		Potassium nitrite	
D-arabinoza	+	Wytwarzanie związków skrobiopodobnych	+
D-arabinose		Formation of starch-like compounds	
D-riboza	+	Rozpuszczanie żelatyny	—
D-ribose		Gelatin liquefaction	
L-ramnoza	\pm		
L-rhamnose			
Etanol	—		
Ethanol			

w 29°C. W literaturze brakuje doniesień o występowaniu *B. alba* na ziarnie pszenicy. Gatunek ten był najczęściej stwierdzany w uprawach zbóż (na roślinach lub w powietrzu), a niekiedy także na innych gatunkach roślin (Phaff 1970; Fokkema i wsp. 1976; Pady 1974). Większość izolatów pochodziła z roślin porażonych rdzą (Derx 1930; Pady 1974; Phaff 1970), co wskazywałoby na ewentualne powiązania, które nie są dotychczas wyjaśnione.

Na podstawie prowadzonych badań wyciągnięto następujące wnioski: 1 — *Bullera alba* może występować na ziarniakach pszenicy stanowiąc jeden z elementów składowych flory grzybów w okresie przechowywania ziarna, 2 — odznacza się zdolnością tworzenia grzybni typowej, co powinno być uwzględnione w kryteriach taksonomicznych, 3 — wytwarzanie przez jego szczep nr 139 ballistospor było jedyną różnicą zasadniczą pomiędzy nim a badanymi poprzednio szczepami *Cryptococcus laurentii* var. *flavescens*.

SUMMARY

The paper is concerned with the morphology and physiology of a strain of *Bullera alba* (Hanna) Derx isolated from winter wheat seeds. It was possible to distinguish the strain studied from *Cryptococcus laurentii* (Kuff.) Skinner var. *flavescens* (Saito) Lodder et Kreger-van Rij only on the base of the presence of ballistospor, but not on the base of other morphological characters. In cultures on agar media formation of septate mycelium was observed.

LITERATURA

- Bisby G. R., Buller A. H. R., Dearness J., 1929, The fungi of Manitoba. London.
- Derx H. G., 1930, Étude sur Sporobolomycetes. Ann. Mycol. 28: 1-23.
- Fokkema N. J., Meulen F., 1976, Antagonism of yeastlike phylloplane fungi against *Septoria nodorum* on wheat leaves. Neth. J. Plant Path. 82: 13-16.
- Kreger-van Rij N. J. W., 1955, Lab Practice. 4: 53.
- Maciejowska-Pokacka Z., 1976, Grzyby drożdżoidalne występujące na ziarniakach pszenicy. I, Acta Mycol. 12: 113-122. — 1977 a. II, ibid. 12: 195-202. — 1977 b. IV, ibid. 13: 3-9.
- Pady S. M., 1974, *Sporobolomycetaceae* in Kansas, Mycol. 66: 333-368.
- Phaff H. J., 1970, *Bullera* Derx. [in:] Lodder J. ed. The yeasts, Amsterdam-London.
- Stadelmann F., 1975, A new species of the genus *Bullera* Derx. Antonie van Leeuwenhoek. 41: 575-582.