ACTA SOCIETATIS
BOTANICORUM POLONIAE
VOL. XXV — Nr 3
1956

Badania nad zjawiskiem fotomorfozy u *Aspergillus giganteus* Wehm. I.

Recherches sur la photomorphose chez Aspergillus giganteus Wehm. I.

A. ZURZYCKA

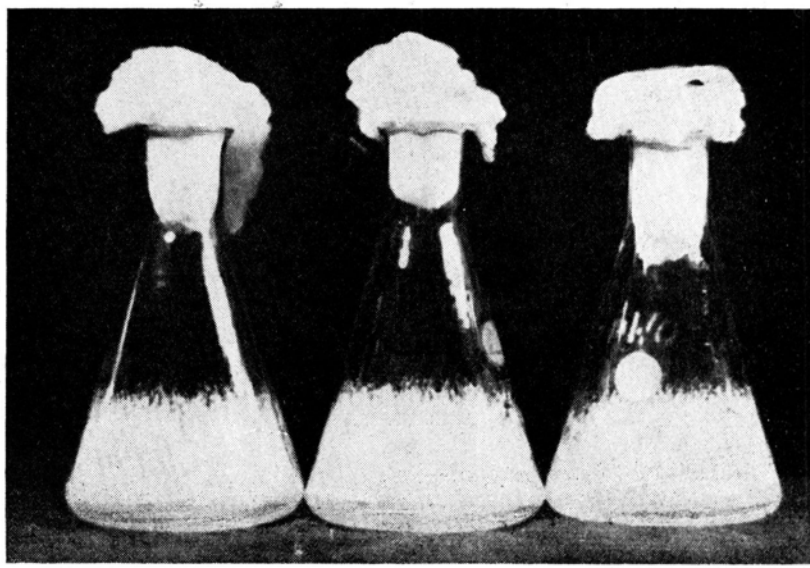
WSTĘP

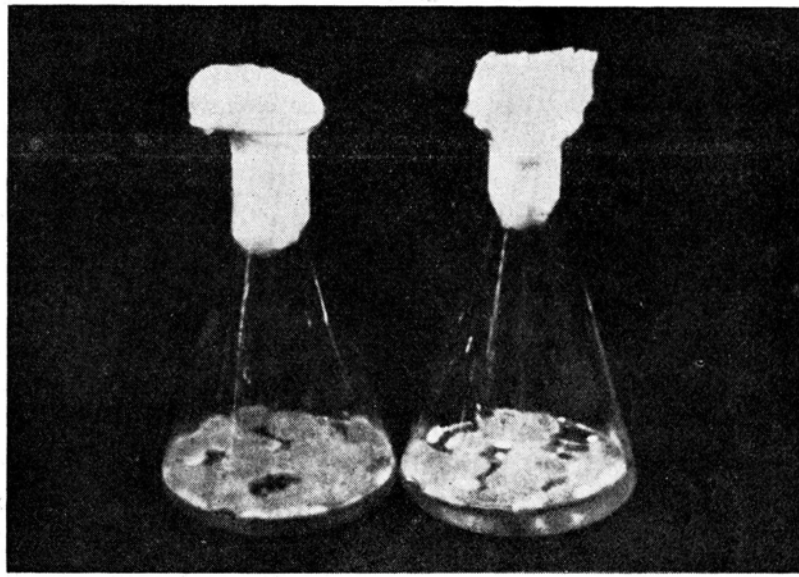
Szereg czynników zewnętrznych — światło, temperatura czy wilgotność — działających w różnoraki sposób w środowiskach, gdzie rozwijają się organizmy roślinne, wywiera głęboki wpływ na ich rozwój i ukształtowanie. Z pojęciem foto-, termo- czy hygromorfoz spotkać się można często w literaturze, brak jednak dokładniejszych badań nie pozwala na sprecyzowanie istoty tych zjawisk.

Z opisywanych zmian morfologicznych, zachodzących pod wpływem czynników zewnętrznych, bez wątpienia najciekawsze pod względem teoretycznym i praktycznym są morfozy powstające pod wpływem światła.

Każdy organizm roślinny w mniejszym lub większym stopniu podlega morfotycznemu działaniu światła, nie każdy jednak w równym stopniu nadaje się do badań fizjologicznych nad tym zagadnieniem. W większości wypadków badania komplikują się bowiem wskutek obecności chlorofilu. Dla uproszczenia zagadnienia w pierwszym etapie badań zajęto się zjawiskiem fotomorfoz u grzybów, gdzie brak jest barwników chlorofilowych, a fotosynteza jest wykluczona.

Badania przeprowadzano zasadniczo na jednym grzybie, wykazującym zjawisko fotomorfozy w sposób niezwykle wyraźny. Organizm badany, *Aspergillus giganteus* Wehmer (Thom i Raper 1945), zachowuje się w bardzo charakterystyczny sposób w zależności od warunków świetlnych otoczenia. Według badań Wolfa (1938, 1948) konidiofory *A. giganteus* mają wysokość 3 — 4 mm, o ile są hodowane w ciemności. Natomiast pod wpływem światła grzyb ten wytwarza konidiofory sięgające często kilku centymetrów wysokości (ryc. 1), silnie żółto zabarwione wskutek obecności barwników, prawdopodobnie z grupy karotenoidów





Ryc. 1. *Aspergillus giganteus* W e h m. U góry — hodowle na świetle, u dołu — hodowle w ciemności.

Fig. 1. *A. giganteus* W e h m. En haut — cultures exposées à la lumière, en bas — cultures maintenues à l'obscurité.

(G a r d n e r 1949). Dotychczas zajmowano się zjawiskiem fotomorfozy u tego grzyba tylko w nielicznych wypadkach. Poza autorami już wymienionymi W e b b (1942 cyt. według T h o m i R a p e r 1945) zbadał wpływ stężenia sacharozy, temperatury i światła na tworzenie się konidioforów u *A. giganteus*. Wstępne badania wykazały jednak niezgodność otrzymywanych wyników z wynikami W e b b a. Dlatego też praca niniejsza, wykonana w latach 1950 — 1953, stanowi dokładniejszą analizę wzrostu i rozwoju *A. giganteus* ze szczególnym uwzględnieniem wymogów pożywkowych.

MATERIAŁ I METODA

Aspergillus giganteus Wehmer używany w badaniach pochodził ze szczepu hodowanego w Centraalbureau voor Schimmelcultures w Baarn. Hodowle wzorcowe przechowywano na skośnym agarze z wyciągiem drożdżowym. Podczas właściwych doświadczeń hodowano *A. giganteus* na pożywce płynnej (25 ml pożywki na kolbę stożkową o pojemności 200 ml).

WARUNKI HODOWLI

A. Światło. Termostat, w którym hodowano grzyb na świetle, oświetlano kompletem czterech świetłówek 25 W 220 V o świetle białym. Na wstępie zbadano wpływ czasu naświetlenia i intensywności światła na rozwój i wzrost grzyba. W tym celu hodowle (pożywka z wodą drożdżową, por. C) naświetlano przez okres 0,1, 6, 12 oraz 24 godziny na dobę. Wyniki zestawiono w tabeli 1.

T a b e l a 1

Wpływ czasu naświetlania światłem o intensywności 1200 luksów na wzrost grzybni *A. giganteus*.

Influence de la durée d'illumination sur la croissance du mycélium de *A. giganteus*; intensité lumineuse 1200 lux

Czas naświetlania w godz. Durée d'illumination heures par jours	0/24	1/24	6/24	12/24	24/24
Średni ciężar suchej masy w mg po 12 dniach doświadczenia Moyenne du poids sec (mg) après 12 jours de croissance	496,2	527,1	483,3	514,2	346,6

W zakresie 0 — 12 godzin światła na dobę sucha masa grzybni utrzymywała się mniej więcej na stałym poziomie, podobnie jak i wysokość konidioforów (z tym, że w ciemności tworzyły się wyłącznie krótkie konidiofory). Przy dwudziestoczterogodzinnym naświetlaniu grzyb osiągał szybko maksimum wzrostu (w 8 dniu hodowli ciężar suchej masy — 484,1 mg), ale następnie wyraźnie zaznaczał się spadek suchej masy (16 dzień hodowli — ciężar suchej masy — 328,8 mg).

Zbadano również wzrost grzyba w świetle o natężeniu 1200, 1000, 600 i 60 luksów. W zbadanym zakresie intensywności nie stwierdzono również żadnego wpływu hamującego czy stymulującego na wzrost grzybni i konidioforów.

Na podstawie otrzymanych wyników przy dalszych badaniach stosowano naświetlanie hodowli światłem o intensywności 1000 luksów przez okres 6 godzin na dobę.

B. Temperatura. Grzyby hodowano w temperaturze $20^0C \pm 1^0C$, zgodnie bowiem z wynikami W e b b a (1942) temperatura ta jest optymalna dla rozwoju *A. giganteus*. (W miesiącach letnich termostat chłodzono wodą bieżącą, mimo tego jednak sporadycznie, w wypadku wysokiej temperatury otoczenia, wahania temperatury były większe i dochodziły do $+3^0$).

C. Pożywka. Hodowle prowadzono na prostej pożywce o składzie: 50 g glukozy, 1 g KH_2PO_4, 1 g NH_4NO_3, 1 g $MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$, 0,002 g $ZnSO_4 \cdot 7\,H_2O$ i 0,0002 g $FeSO_4$ na 1000 ml wody destylowanej. Pożywkę sterylizowano w autoklawie (1 atm. przez 15 — 20 minut). W wypadkach wyjątkowych, przy badaniu wpływu różnych źródeł węgla na wzrost *A. giganteus* używano do sterylizacji sączków Seitza.

W badaniach początkowych hodowano ten mikroorganizm na pożywce o powyższym składzie, z dodatkiem wody drożdżowej (250 g drożdży piekarnianych na 100 ml wody), podawanej zamiast wody destylowanej. Do badań używano odczynników o możliwie wysokiej czystości. Glukoza pozbawiona witamin oraz wszystkie czynniki wzrostowe pochodziły z firmy Hoffmann-La Roche, Bazylea. Czynniki wzrostowe dodawano do pożywek po sterylizacji. Pożywkę szczepiono przez dodanie do niej zawiesiny zarodników w ilości 0,2 ml na kolbkę. Zawiesinę otrzymywano przez dodanie 25 ml wody destylowanej do hodowli standardowej i staranne wytrząśnięcie.

D. pH. Pożywkę buforowano do pH 6,56 za pomocą mieszaniny buforowej M/15 KH_2PO_4 i M/15 Na_2HPO_4. Stwierdzono bowiem w serii doświadczeń wstępnych, że optymalny rozwój badanego grzyba waha się w granicach 5,75 — 7,10 pH. Poniżej i powyżej tego zakresu następuje zahamowanie rozwoju, bardzo znaczne w środowisku kwaśnym, nieco słabsze w zasadowym, co ilustruje tabela 2.

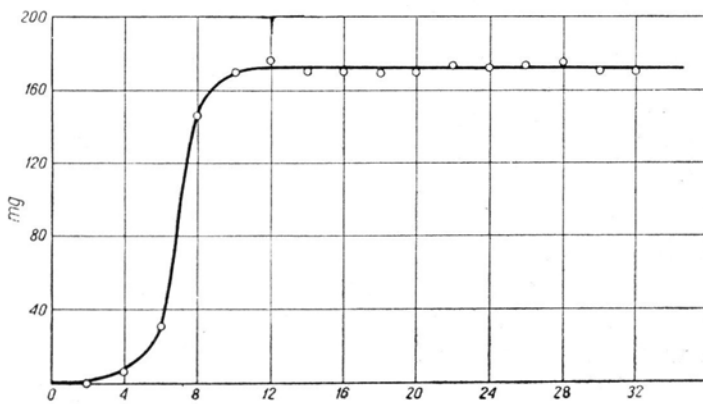
Tabela 2

Wpływ pH pożywki na wzrost grzybni *A. giganteus* w ciemności
Influence du pH des milieux nutritifs sur la croissance à l'obscurité des mycéliums de *A. giganteus*

pH	3,26	3,36	4,28	5,18	5,62	5,75	5,56	6,85	7,10	7,40
sucha masa grzybni w mg poids sec des mycéliums mg	95,6 ±6,54	73,4 ±7,46	147,3 ±7,59	188,9 ±4,54	197,1 ±5,26	205,0 ±4,22	237,4 ±7,60	240,8 ±2,68	235,5 ±5,62	144,9 ±3,62

A. giganteus podobnie jak *A. clavatus* (Thom i Raper 1945) należy do wyjątków wśród kropidlaków, które wymagają na ogół środowiska bardziej kwaśnego. Być może, mamy w obu przypadkach zjawisko przystosowania się do środowiska, gdyż w jednym i drugim wypadku naturalnym podłożem jest nawóz zwierzęcy.

E. Czas hodowli. Dla ustalenia czasu hodowli wykreślono krzywą wzrostu grzyba w czasie na świetle i w ciemności. Z podanej na ryc. 2 krzywej dla wzrostu w ciemności wynika, że w okresie 10 dni od momentu zaszczepienia grzyb osiąga swój maksymalny wzrost. Maksimum to utrzymuje się na tym samym poziomie przez okres pozostałej hodowli, aż do 32 dnia od momentu zaszczepienia. Wzrost na świetle posiada przebieg identyczny.



Ryc. 2. Wzrost *Aspergillus giganteus*, na pożywce syntetycznej w ciemności. Odcięte — dni, rzędne — ciężary suchej masy w mg.

Fig. 2. Croissance de l'*A. gigateus* sur milieu synthétique à l'obscurité; abscisses: jours, ordonnées — poids sec (mg).

F. Określanie wysokości konidioforów. Pomiar wysokości konidioforów, przeprowadzany wyłącznie dla kultur hodowanych na świetle, miał na celu jedynie ogólne zorientowanie się w rozwoju konidioforów na różnego typu pożywkach. Po ukończeniu doświadczenia sporządzano zdjęcia fotograficzne kolbek, a następnie mierzono wysokość konidioforów na negatywie, rzutowanym w stałym powiększeniu (1 : 1,5). Wysokość konidioforów mierzono trzykrotnie w każdej kolbce i obliczano z tego średnią wysokość konidioforów w każdej kolbce, a następnie średnią z danej serii doświadczenia. Pomiar przeprowadzano z dokładnością do 0,7 mm. Stosowanie powyższej metody do kultur wyrosłych w ciemności napotykało na duże trudności, ponieważ brzeżne części grzybni, podniesione nieco do góry, zasłaniały bardzo krótkie (3 — 6 mm) konidiofory. Wysokość konidioforów w ciemności nie ulegała zmianom na różnych typach pożywek, dlatego jej wartości zostały w tablicach pominięte.

G. Określanie wzrostu *A. giganteus*. Wzrost grzyba wyrażano w mg suchej masy grzybni. Doświadczenia przeprowadzano zwykle na 20 — 60 kolbkach dla każdej serii, w 2 — 5 powtórzeniach, zależnie od rozbieżności uzyskanych wyników. Z wartości ciężaru suchej masy, uzyskanych dla danego doświadczenia, obliczano średnią arytmetyczną, a następnie błąd średni według wzoru $F_n = \sqrt{\frac{\Sigma (f)^2}{n(n-1)}}$. Podobnie opracowywano pomiary wysokości konidioforów. Przy hodowlach na wodzie drożdżowej obliczano tylko średnie wartości suchej masy i wysokości konidioforów, a dalszego opracowania z reguły nie stosowano.

ZAGADNIENIE AUKSO-AUTOTROFII *A. GIGANTEUS*

W pierwszej części pracy starano się ustalić, czy badany organizm jest aukso-autotrofem, czy też aukso-heterotrofem (Schopfer 1949), oraz czy dodatek pewnych czynników wzrostowych do pożywki syntetycznej wpływa na jego wzrost i ukształtowanie morfologiczne na świetle i w ciemności. W tym celu równolegle badano:

I. Wzrost i rozwój grzyba w warunkach podanych w części metodycznej, na świetle i w ciemności, na pożywce syntetycznej i pożywce z wodą drożdżową w ciągu czterech, następujących po sobie pokoleń.

II. Wpływ dodawania do pożywki syntetycznej różnych czynników wzrostowych na wzrost i morfologię grzybni.

I

Wyniki porównujące wzrost *A. giganteus* na pożywce syntetycznej na świetle i w ciemności w ciągu 4 pokoleń zestawiono w tabeli 3.

Tabela 3

Porównanie wzrostu i długości konidioforów *A. giganteus* na pożywce syntetycznej i pożywce z wodą drożdżową w ciągu 4 kolejnych pokoleń. (Hodowla wyjściowa na pożywce z wodą drożdżową)

Comparaison des poids secs et des longueurs des conidiophores de 4 générations de *A. giganteus* développées sur un milieu synthétique et sur eau de lévure. (Culture initiale sur eau de levure)

	Pożywka syntetyczna Milieu synthétique			Pożywka z wodą drożdżową Milieu nutritif eau de levure	
	Światło Lumière		Ciemność Obscurité	Światło Lumière	
	ciężar suchej masy w mg poids sec mg	wysokość konidioforów w cm hauteur des conidiophores cm	ciężar suchej masy w mg poids sec mg	ciężar suchej masy w mg poids sec mg	wysokość konidioforów w cm hauteur des conidiophores cm
Pokolenie 1	188,3 ± 5,54 189,0 + 2,73	3,11 ± 0,05 3,22 ± 0,04	176,5 ± 5,44 173,7 ± 5,29	377,5	4,15
Pokolenie 2	—	—	194,3 ± 3,60 177,0 ± 2,60	375,3	4,45
Pokolenie 3	211,5 ± 2,41 204,8 ± 2,39	2,79 ± 0,03 3,34 ± 0,10	180,8 ± 1,35 215,8 ± 2,48	352,5	4,87
Pokolenie 4	183,4 ± 3,19	3,00 ± 0,04	203,4 ± 4,91	344,5	5,15

Z tabeli tej wynika, że w pierwszym pokoleniu na pożywce syntetycznej sucha masa grzybni spada mniej więcej o połowę wartości osiąganych na pożywce z wodą drożdżową. Następnie w ciągu 3 dalszych pokoleń, hodowanych na pożywce syntetycznej, wartość suchej masy grzybni utrzymuje się na stałym poziomie, wynoszącym około 200 mg na 25 ml pożywki. Wysokość konidioforów w odniesieniu do kontroli na wodzie drożdżowej ulega również skróceniu, ale także utrzymuje się później na mniej więcej stałym poziomie. Szybkość wzrostu (wyrażana również za pomocą suchej masy grzybni) badana co dwa dni hodowli jest we wszystkich czterech pokoleniach identyczna. Hodowle na pożywce syntetycznej wykazują niekiedy tendencję do fragmentowania, intensywność zabarwienia grzybni i konidioforów słabsza niż u odpowiednich kultur na wodzie drożdżowej.

Na podstawie otrzymanych wyników stwierdzić można, że organizm badany jest organizmem aukso-autotroficznym, tzn. posiada zdolność do syntezy wszystkich czynników wzrostowych, potrzebnych do jego normalnego wzrostu i rozwoju. Spadek wartości suchej masy grzybni na pożywce syntetycznej należy więc raczej przypisać obecności w wyciągu dodatkowych, względnie lepiej przyswajalnych przez *A. giganteus* substancji plastycznych. Potwierdzenie tego przypuszczenia starano się uzyskać przez:

a) hodowle, w których zmieniano ilość wody drożdżowej, dodawanej do pożywki od 0 do 25 ml pożywki,

b) hodowle na samym wyciągu drożdżowym bez podawania dodatkowego źródła azotu i węgla,

c) oznaczenie cukru i azotu w wyciągu drożdżowym i podanie tych składników w pożywce syntetycznej w ilości występującej rzeczywiście w wodzie drożdżowej.

Na podstawie wyników otrzymanych z powyższych hodowli stwierdzić można, że wzrost suchej masy grzybni *A. giganteus* na pożywce z wodą drożdżową przypisać należy obecności w wodzie drożdżowej dodatkowych ilości azotu, występujących w formie białka. Wyniki te potwierdzają twierdzenie W o l f a (1938), że przedstawiciele grupy *A. Clavatus* posiadają zdolność wykorzystywania substancji białkowych jako podłoża.

Z badań dotychczasowych wynika już jasno, że hodowle *A. giganteus* w krańcowo różnych warunkach świetlnych, mimo iż tak odmienne morfologicznie, posiadają zarówno szybkość wzrostu, jak i ciężar suchej masy mniej więcej identyczny. Należało rozstrzygnąć, czy podobieństwo to jest dostatecznie ugruntowane, czy też w dotychczas sprawdzonych wypadkach wystąpiło przypadkowo. Odpowiedź na to zagadnienie daje tabela 4, w której porównano średnie ciężary suchej masy grzybni *A. giganteus,* hodowanego na świetle i w ciemności, dla 13 kolejnych powtórzeń, reprezentujących 107 kultur (dla światła) i 101 (dla ciemności). W warunkach wyrównanej hodowli rozrzut średnich jest jednak dość duży (37,5 dla światła, 45,8 dla ciemności) w odniesieniu do średniej rzeczywistej, ale zarówno na świetle, jak i w ciemności średnia rzeczywista jest niemal identyczna. Tabela 4 daje więc bezsporny dowód na to, że aczkolwiek wzrost grzyba na świetle i w ciemności jest identyczny, to jednak rozwój biegnie dwoma odrębnymi torami, dając w rezultacie na świetle grzybnię o parocentymetrowych konidioforach. W e b b (1942) stwierdził, że *A. giganteus* rosnący na pożywce z sacharozą tworzył zarówno długie, jak i krótkie konidiofory i na świetle i w ciemności. Tłumaczyć to można tym, że autor ten pracował nad szczepem *A. giganteus* o odmiennych

Tabela 4

Porównanie średnich ciężarów suchej masy grzybni (w mg) *A. giganteus* hodowanej na świetle i w ciemności przez 16 dni, na pożywce syntetycznej

Comparaison des moyennes des poids secs des mycéliums (mg) de *A. giganteus* cultivés à la lumière et à l'obscurité pendant 16 jours sur un milieu synthétique

Powtórzenie	Hodowle na świetle Cultures à la lumière	Hodowle w ciemności Cultures à l'obscurité
1	220,86 ± 4,45	207,45 ± 2,64
2	215,98 ± 3,67	212,94 ± 5,40
3	188,30 ± 5,54	180,80 ± 1,35
4	189,03 ± 2,73	194,26 ± 3,60
5	211,50 ± 2,41	176,45 ± 5,44
6	204,75 ± 2,39	177,50 ± 5,26
7	183,40 ± 3,19	177,00 ± 2,60
8	204,25 ± 1,97	188,49 ± 4,52
9	210,26 ± 3,47	213,26 ± 4,75
10	208,80 ± 2,77	210,90 ± 2,19
11	205,26 ± 4,03	183,10 ± 2,20
12	218,37 ± 2,71	183,83 ± 1,84
13	218,70 ± 1,58	222,20 ± 3,33
M max.	220,86	222,20
M min.	183,40	176,45
Średnia rzeczywista Moyenne réelle	207,94	206,08

właściwościach fizjologicznych, co przy dużej zmienności tego grzyba jest możliwe (Thom i Raper 1945, Zurzycka 1956).

W ostatnim etapie badań zbadano, czy szczepienie zarodnikami kultur wyrosłych na świetle oraz kultur hodowanych następnie w ciemności i odwrotnie, wywiera wpływ na wzrost i rozwój *A. giganteus*. Na podstawie otrzymanych wyników stwierdzić można, że zarodniki kultur wyrosłych na świetle, hodowane następnie w ciemności, dają zawsze konidiofory krótkie, natomiast hodowane naprzód w ciemności i przeniesione w następnym pokoleniu na światło dają zawsze konidiofory wysokie. Rozwój konidioforów jest zatem niezależny od warunków hodowli poprzedzającej.

II

Pożywka syntetyczna o składzie podanym w części metodycznej wystarcza zasadniczo do normalnego wzrostu i rozwoju *A. giganteus*. Nie-

mniej jednak wydawało się celowym użycie pożywek wzbogaconych o szereg mikroelementów bądź o szereg czynników wzrostowych syntetycznych i naturalnych, dla zbadania, czy ich obecność nie wywoła zmian we wzroście grzyba lub też wydłużenia konidioforów w ciemności. Poniżej zestawiono skład używanych pożywek.

1. Pożywka zasadnicza + mikroelementy. Pożywka została zmodyfikowana według składu pożywki używanej do badań nad *Neurospora crassa* (Beadle i Tatum 1945). Oprócz składników wymienionych w części metodycznej zawierała ona: 0,1 g NaCl, 0,1 g $CaCl_2$, 0,01 mg B, 0,1 mg Cu, 0,02 mg Mn i 0,02 mg Mo, była więc wzbogacona o szereg pierwiastków o charakterze mikroelementów.

2. Pożywka zasadnicza + mieszanina witamin. Do pożywki zasadniczej dodawano 10 ml na 1 litr pożywki mieszaniny witamin. Podstawowa mieszanina witamin (Beadle i Tatum 1945) zawierała na 1000 ml wody destylowanej następujące ilości witamin: 100 mg tiaminy, 50 mg riboflawiny, 50 mg pirydoksyny, 200 mg pantotenianu wapnia, 200 mg amidu kwasu nikotynowego, 50 mg kwasu paraaminobenzoesowego, 200 mg choliny, 400 mg mezoinozytolu, 10 mg kwasu folowego i 0,1 mg biotyny.

3. Pożywka zasadnicza + mieszanina witamin + β-karoten była sporządzana jak pożywka 2. Do pożywki dodawano 50 mg β-karotenu rozpuszczonego w acetonie i przeprowadzonego w stałą emulsję metodą Kögla i Schuringi (1944).

4. Pożywka zasadnicza + mieszanina aminokwasów zawierała po 0,8 mg/1000 ml pożywki następujących aminokwasów: glycyny, 1-alaniny, l-leucyny, dl-cystyny, l-cysteiny, dl-fenylalaniny, l-histydyny, kwasu dl-asparaginowego i l-glutaminowego.

5. Pożywka zasadnicza + hemina zawierała 1 mg heminy na 1000 ml pożywki. Hemina jest substancją konieczną do wzrostu *Pilobolus kleinii* (Page 1952).

6. Pożywka zasadnicza + wyciąg z krowiego nawozu zawierała 16 ml/1000 ml pożywki. Wyciąg sporządzono na wodzie w sposób podany przez Page (1952). Wyniki ilustrujące wzrost i rozwój *A. giganteus* na świetle i w ciemności na powyższych pożywkach zestawiono w tabeli 5.

Rubryki podają dane w % w stosunku do hodowli kontrolnych (na pożywce zasadniczej), prowadzonych osobno dla każdego rodzaju pożywki na świetle i w ciemności. Z danych tych wynika, że wzrost i rozwój *A. giganteus* na badanych pożywkach jest identyczny ze wzrostem i rozwojem w ciemności, żadna więc z substancji badanych nie wywiera wpływu stymulującego.

Poza wymienionymi substancjami zbadano wpływ kwasu beta-indolooctowego (w stężeniach 1 mg — 1.10^{-9} mg/25 ml pożywki), kwasu beta

Tabela 5

Porównanie wzrostu grzybni i konidioforów na różnych typach pożywek
Comparaison de la croissance des mycéliums et des conidiophores développés sur différents milieux nutritifs

Rodzaj pożywki Milieu nutritif	Wzrost grzybni w % w odniesieniu do pożywki kontrolnej (zasadniczej) = 100% Poids sec des mycéliums exprimé en pourcents des témoins cultivés sur milieu de base (= 100)		Wysokość konidioforów w % w odniesieniu do pożywki kontrolnej = 100% Hauteur des conidiophores en pourcents des témoins
	Światło Lumière	Ciemność Obscurité	Światło Lumière
Pożywka zasadnicza + Milieu de base+			
1. Mikroelementy Microéléments	99,53	101,5	96,7
2. Mieszanina witamin Mélange de vitamines	99,2	102,0	94,9
3. Mieszanina witamin i β-karoten Mélange de vitamines + β-carotène	101,1	99,7	104,8
4. Mieszanina aminokwasów Mélange d/acides aminés	102,1	103,1	94,9
5. Hemina Hémine	102,9	99,3	108,7
6. Wyciąg krowiego nawozu Extrait d'excréments bovins	108,9	102,6	121,56

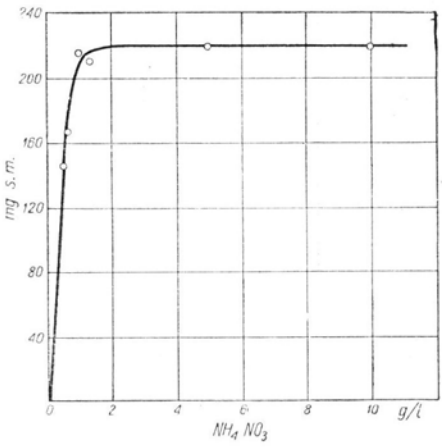
indolopropionowego (1 mg — 1.10^{-9} mg/25 ml pożywki), tiaminy (1 mg — 1.10^{-9} mg/25 ml pożywki), riboflawiny (2.10^{-1} — 2.10^{9} mg/25 ml pożywki) oraz biotyny (1.10^{-1} — 1.10^{-3} μg/25 ml pożywki) na wzrost i rozwój *A. giganteus* w ciemności. Również i w tym wypadku dodatek czynników wzrostowych nie wpływał na wzrost, a konidiofory we wszystkich wypadkach były krótkie. Działania światła nie da się więc zastąpić żadną ze zbadanych substancji.

WPŁYW RÓŻNYCH ŹRÓDEŁ AZOTU I WĘGLA NA WZROST I ROZWÓJ *A. GIGANTEUS*

Przy badaniach nad wpływem różnych źródeł azotu i węgla ograniczono się do użycia niewielkiej ilości związków, przeważnie takich, co do których przypuszczano (na podstawie prac innych autorów na innym materiale), że mogą mieć wpływ albo na wzrost, albo na rozwój *A. giganteus.*

Różne źródła azotu

W dotychczasowych badaniach używano dowolnie wybranego źródła azotu — azotanu amonu — zwykle stosowanego w pożywkach dla pleśniaków, w ilości 1 g na 1000 ml pożywki. Zanim przystąpiono do badań nad różnymi źródłami azotu, starano się stwierdzić, jaka dawka azotanu amonu jest optymalna dla rozwoju grzyba przy zachowaniu stałej ilości glukozy (50 g/1000 ml). Stosowano w tym celu pożywki o zmiennym stosunku glukoza/azotan amonu = 100, 80, 50, 40, 25, 10 i 5 i obserwowano wzrost i rozwój grzyba na świetle i w ciemności. Z otrzymanych wyników okazało się (ryc. 3), że począwszy od stosunku glukoza/azotan amonu = 50 (50 g glukozy i 1 g azotanu amonu) wartość ciężaru suchej masy nie ulega zmianom. Przy dużych dawkach azotanu amonu (glukoza/azotan amonu = 10 i 5) zaobserwowano zahamowanie wzrostu konidioforów na świetle.



Ryc. 3. Wzrost grzybni *Aspergillus giganteus* przy wzrastających dawkach azotanu amonu. Odcięte — ilość g azotanu amonu / 1000 ml pożywki, rzędne — ciężar suchej masy w mg.

Fig. 3. Croissance du mycélium de *A. giganteus* en fonction du dosage du nitrate d'ammonium. Abscisses — g de nitrate d'ammonium par litre du milieu nutritif, ordonnées — poids sec (mg) du mycélium.

Do badań nad przydatnością różnych źródeł azotu wybrano z nieorganicznych soli azotowych, oprócz azotanu amonu, fosforan amonu i azotan potasu, z organicznych szereg aminokwasów (glycyna, 1-alanna, d-leucyna, l-leucyna, l-walina i l-asparagina). Zbadano więc połączenia azotu w grupie amonowej, azotanowej i aminowej. Ilości użytych związków azotowych były tak dobrane, aby odpowiadały ilości azotu zawartej w 1 g azotanu amonu. Wyniki hodowli grzyba na różnych źródłach azotu przedstawia tabela 6. Z tabeli tej można wyczytać fakty następujące:

Tabela 6

Porównanie wzrostu grzybni i konidioforów na różnych źródłach azotu

Comparaison de la croissance des mycéliums et des conidiophores développés sur différentes sources d'azote

Źródło azotu Source d'azote	Wzrost grzybni w mg suchej masy Poids sec des mycéliums mg		Wzrost grzybni w % w odniesieniu do pożywki kontrolnej = 100% Poids sec des mycéliums exprimés en pourcents du poids sec des témoins		Wysokość konidioforów w cm Hauteur des conidiophores cm	Wysokość konidioforów w % w odniesieniu do kontroli = 100% Hauter des conidiophores en pourcents des témoins
	Światło Lumière	Ciemność Obscurité	Światło Lumière	Ciemność Obscurité		
Azotan amonu	220,9 ± 4,43	207,5 ± 2,64	100,0	100,0	3,03 ± 0,05	100,0
Azotan potasu	262,9 ± 2,56	206,7 ± 2,58	119,0	99,7	3,63 ± 0,01	119,8
Fosforan amonu	159,9 ± 3,40	164,0 ± 2,15	72,4	79,1	brak	—
Azotan amonu i azotan potasu	219,8 ± 7,65	196,9 ± 5,66	99,5	94,9	3,08 ± 0,02	101,7
1 — glycyna	217,4 ± 2,42	178,1 ± 1,75	98,4	85,8	3,64 ± 0,01	120,1
1 (+) - alanina	192,6 ± 3,75	176,8 ± 4,79	87,2	85,2	3,68 ± 0,21	121,5
1 (+) - leucyna	143,4 ± 1,68	81,8 ± 2,87	64,9	39,4	brak	—
1 (—) - leucyna	131,8 ± 4,54	89,2 ± 2,73	59,7	43,0	brak	—
1 (—) - walina	210,7 ± 4,32	213,7 ± 3,04	95,4	103,0	brak	—
asparagina	195,4 ± 3,61	182,7 ± 3,06	88,5	88,1	3,57 ± 0,02	114,5

Z nieorganicznych źródeł azotu oprócz azotanu amonu dobrym źródłem azotu jest azotan potasu, natomiast użycie fosforanu amonu odbija się szkodliwie na wzroście i rozwoju grzyba. Na pożywce z fosforanem amonu *A. giganteus* nie tworzy prawie zupełnie zarodników ani na świetle, ani w ciemności. Grzybnia rosnąca na świetle ma barwę jaskrawo pomarańczową, a jej budowa mikroskopowa odbiega od normalnej. Komórki grzybni są bardzo duże, kuliste, luźno ze sobą połączone. Z poczynionych obserwacji wynika, że jon amonowy wpływa stymulująco na biosyntezę barwników u *A. giganteus,* bowiem intensywność zabarwienia grzybni na pożywce z fosforanem amonu i azotanem amonu jest znacznie większa niż na pożywce z azotanem potasu. Podobne wyniki otrzymał Schopfer (1935), który stwierdził, że jakkolwiek azotan amonu nie jest odpowiednim źródłem azotu dla *Phycomyces blakesleeanus,* to jednak wyraźnie stymuluje biosyntezę barwników karotenoidowych u tego organizmu.

Użyte do badań aminokwasy można na podstawie ich wykorzystywania przez *A. giganteus* podzielić na dwie grupy:

Grupa A — glycyna, alanina, asparagina są to dobre źródła azotu dla organizmu badanego. Wzrost grzybni i konidioforów na pożywkach z wymienionymi aminokwasami jest mniej lub bardziej zbliżony do wzrostu na azotanie amonu. W świetle badań Gartona, Goodwina i Lijinsky'ego (1951) produkcja suchej masy *Phycomyces blakesleeanus* jest także na wymienionych aminokwasach w zasadzie taka sama jak na azotanie amonu.

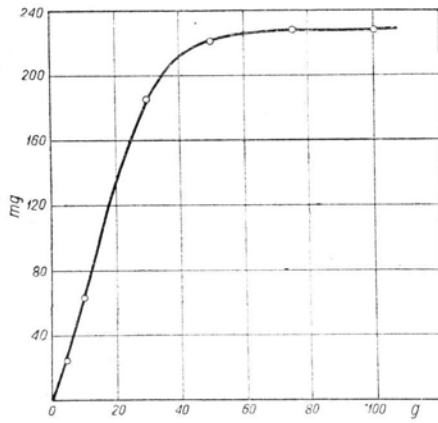
Grupa B — d(+) leucyna, l(—) leucyna i l-walina są nieodpowiednimi źródłami azotu dla *A. giganteus.* Wprawdzie na pożywce z l-waliną sucha masa grzybni nie odbiega od suchej masy grzybni na pożywce kontrolnej, ale zmiany morfologiczne grzybni dyskwalifikują ten aminokwas jako źródło azotu. Na pożywce z waliną grzybnia jest śnieżnobiała lub bardzo lekko kremowa na świetle, całkowicie niemal zanurzona, konidiofory i konidia nie tworzą się w ogóle. W kilku zaledwie wypadkach rozwinęły się pojedyncze płone konidiofory, mające wysokość normalną.

Z tabeli 6 można odczytać jeszcze jeden fakt, a mianowicie, że wzrost grzybni, a więc i prawdopodobnie asymilacja azotu jest w kilku wypadkach lepsza na świetle niż w ciemności. Szczególnie wyraźnie występuje to zjawisko w wypadku stosowania azotanu potasu jako źródła azotu. W tym wypadku różnica wynosi średnio 30%, przekracza więc rozrzut średnich podany w tabeli 6. Szczególnie wyraźnie występuje to w wypadku stosowania nieodpowiednich źródeł azotu. Na pożywkach z d-leucyną i l-leucyną wartość różnicy w ciężarze suchej masy na świetle i w ciemności dochodzi do 50%. O ile chodzi jednak o wzrost i rozwój

konidioforów, to z reguły źle dobrana pożywka hamuje zarodnikowanie lub wywołuje zmiany w morfologii konidioforów, przede wszystkim na świetle.

Różne źródła węgla

Ryc. 4 przedstawia wzrost grzybni *A. giganteus* wyrażony jako funkcja stężenia glukozy w pożywce. Ze zbadanych stosunków glukoza/azotan amonu = 200, 150, 100, 75, 50, 30, 10 i 5 (ilość glukozy zmienna, ilość azotanu stała — 1 g azotanu amonu) wynika, że wzrost grzybni jest proporcjonalny do ilości glukozy aż do stężenia 75 g/1000 ml pożywki. Zwiększenie stężenia do 100 g nie zwiększa już efektu wzrostowego, natomiast stężenia 150 i 200 g na 1000 ml pożywki hamują zarówno wzrost grzybni i konidioforów, co szczególnie wyraźnie zaznacza się na świetle. Na podstawie ryc. 4 uznać można stężenie 50 g/1000 ml pożywki za odpowiednie dla hodowli badanego gatunku.



Ryc. 4. Wzrost grzybni *Aspergillus giganteus* przy wzrastających dawkach glukozy. Odcięte — ilość glukozy (1000 ml. pożywki), rzędne — ciężar suchej masy w mg.

Fig. 4. Croissance du mycélium de *A. giganteus* en fonction du dosage du glucose. Abscisses — g de glucose par litre du milieu nutritif, ordonnées — poids sec (mg) du mycélium.

W stosunku do ilości węgla zawartego w tej dawce obliczano ilości innych źródeł węgla użytych do badań. Zbadano wzrost grzybni i konidioforów na: sacharozie, glicerolu, mannitolu, palmitynianie sodu, olejanie sodu, octanie sodu i cytrynianie sodu. Wyniki hodowli zestawiono w tabeli 7.

Użyte substancje można podzielić na trzy grupy ze względu na ich przydatność do hodowli *A. giganteus.*

Grupa A: sacharoza i glukoza. Oba cukry są doskonałymi źródłami węgla dla *A. giganteus,* powodując szybki wzrost grzybni i konidioforów. Wyniki te potwierdzają częściowo dane uzyskane przez W e b b a (1942), który stwierdził również, że sacharoza jest dobrym źródłem węgla w stężeniach 1 — 10%, z tym zastrzeżeniem jednak, że także i na tym źródle węgla, podobnie jak na glukozie, konidiofory wysokie tworzą się tylko na świetle, nigdy zaś w ciemności.

Grupa B: glicerol, mannitol, octan sodu, palmitynian i olejan sodu. Przy użyciu tych substancji uzyskuje się słaby wzrost grzybni oraz silne

Tabela 7

Porównanie wzrostu grzybni i konidioforów na różnych źródłach węgla.

Comparaison de la croissance des mycéliums et des conidiophores développés sur différentes sources de carbone

Źródło węgla Source de carbone	Wzrost grzybni w mg suchej masy Poids sec des mycéliums mg		Wzrost grzybni w % w odniesieniu do pożywki kontrolnej Poids sec des mycéliums exprimé en pourcents du poids sec des témoins		Wysokość konidioforów w cm Hauteur des conidiophores	Wysokość konidioforów w odniesieniu do pożywki kontrolnej = 100% Hauteur des conidiophores exprimée en pourcents de la hauteur des témoins
	Światło Lumière	Ciemność Obscurité	Światło Lumière	Ciemność Obscurité		
Glukoza	343,7 ± 8,18	300,9 ± 2,18	100,0	100,0	3,14 ± 0,05	100,0
Sacharoza	284,9 ± 4,58	255,7 ± 3,12	83,5	85,0	3,64 ± 0,34	115,9
Glicerol	61,3 ± 15,56	60,5 ± 15,75	17,8	20,1	Konidiofory występują sporadycznie	—
Mannitol	83,0 ± 4,84	99,5 ± 4,79	22,9	33,1	„	—
Octan sodu	118,9 ± 11,49	79,2 ± 7,88	34,6	26,3	„	—
Palmitynian sodu	słaby	słaby	—	—	„	—
Olejan sodu	słaby	słaby	—	—	brak	—
Cytrynian sodu	14,9 ± 1,25	21,2 ± 8,01	4,3	7,5	brak	—

zahamowanie rozwoju, wyrażające się słabym i nietypowym zarodnikowaniem zarówno na świetle, jak i w ciemności. Wymienione w tej grupie substancje są doskonałymi źródłami węgla dla innych mikroorganizmów zdolnych do biosyntezy karotenoidów, a mianowicie glicerol dla *Mycobacterium phlei* (Turian 1950 a i b) i *Rhodotorula sanniei* (Fromageot i Tchang 1938), octan sodu dla *Phycomyces blakesleeanus* (Grob, Poretti, Muralt i Schopfer 1951), wyższe kwasy tłuszczowe dla *Pilobolus kleinii* (Page 1952).

Grupa C — cytrynian sodu. Substancja ta działa wyraźnie hamująco na wzrost *A. giganteus*. Wzrost grzybni ustaje prawie natychmiast po wykiełkowaniu zarodników.

W tabeli 7 nie podano wartości ciężaru suchej masy *A. giganteus* uzyskanych na pożywce z palmitynianem sodu i olejanem sodu, ze względu na trudności przy usuwaniu pożywki. Wzrost na obu tych substancjach był rzędu wartości uzyskanych na pożywce z mannitolem.

W tym wypadku rozwój grzyba na niekorzystnych źródłach węgla był znacznie lepszy w ciemności niż na świetle, co szczególnie wyraźnie wystąpiło w wypadku użycia palmitynianu sodu. Na pożywkach z tą substancją zarodnikowanie wystąpiło jedynie w ciemności. Przeniesienie hodowli ze światła w ciemność na okres 2 — 3 dni wywołało od razu wystąpienie zarodnikowania o typie normalnym dla ciemności. Na pożywce z mannitolem bardzo często na świetle tworzyły się konidiofory płone, normalnej wysokości.

OBSERWACJE NAD TWORZENIEM SIĘ KONIDIOFORÓW U *A. GIGANTEUS*

W rozwoju *A. giganteus* zarówno na świetle, jak i w ciemności można wyróżnić dwie fazy: 1) fazę rozwoju grzybni i 2) fazę zarodnikowania. Poniższy schemat daje porównanie przebiegu obu tych faz na świetle i w ciemności na pożywce zawierającej dobrze wykorzystywane źródła węgla i azotu.

Zarodnik

Ciemność	Światło
Faza 1. Rozwój grzybni (szybki wzrost grzybni)	Faza 1. Rozwój grzybni (szybki wzrost grzybni)
Faza 2. Zarodnikowanie	Faza 2. Zarodnikowanie
a. Pojawienie się krótkich konidioforów.	a. Pojawienie się krótkich konidioforów.
b. Pojawienie się licznych krótkich konidioforów.	b. Pojawienie się licznych długich konidioforów (przyspieszenie wzrostu konidioforów).

W ciemności w fazie pierwszej (0 — 8 dni) organizm badany asymiluje szybko węgiel i azot z pożywki, co wyraża się szybkim wzrostem ciężaru

suchej masy grzybni. Fazę drugą zaczyna pojawienie się wielkiej ilości krótkich (2 — 4 mm) konidioforów. W miarę upływu czasu powstają dalsze liczne, krótkie konidiofory.

W hodowlach trzymanych na świetle faza pierwsza przebiega podobnie jak w ciemności, szybki okres wzrostu grzybni kończy się pojawieniem się mniej lub więcej licznych krótkich konidioforów, podobnie jak w ciemności. W tym okresie grzybnia przybiera lekkie żółtawe zabarwienie i pojawiają się pierwsze długie konidiofory, również żółto zabarwione. Dorastają one wysokości 1 — 2 cm, a następnie pojawiają się konidiofory ostatnie o długości 3 — 5 cm (w zależności od rodzaju pożywki), liczne i gęste, decydujące o tak odmiennym wyglądzie grzyba na świetle. Czasami etap drugi, tj. pojawienie się konidioforów średniej wysokości, wypada z tej fazy rozwoju. Faza druga na świetle kończy się również między 12 a 14 dniem hodowli. Różnice morfologiczne u *A. giganteus* wyrosłego na świetle w odniesieniu do wyrosłego w ciemności sprowadzają się do zmian w szybkości wzrostu konidioforów. Na świetle występuje około 10-krotne zwiększenie wzrostu.

W części pierwszej pracy wspomniano już, że pojawienie się długich konidioforów występuje wyłącznie na świetle. W ciemności tworzą się tylko krótkie konidiofory, pod tym jednak warunkiem, że hodowle w ciemności są starannie chronione przed dostępem nawet bardzo słabego światła. W hodowlach w ciemności istnieje pewnego rodzaju tendencja do przyspieszania wzrostu w drugiej fazie rozwoju, wyrażająca się w dość częstym występowaniu grup strzępek powietrznych, płonych, dochodzących nieraz prawie do 1 cm wysokości. Z obserwacji wynika, że minimalne nawet ilości światła docierające do hodowli w ciemności mogą już wywierać działanie formatywne, powodując powstanie nielicznych długich konidioforów.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Aspergillus giganteus Wehm. hodowany na świetle wykazuje uderzające zmiany morfologiczne, w porównaniu z hodowlami w ciemności, powstające na skutek szybkiego wzrostu konidioforów. Zmiany morfologiczne, występujące u *A. giganteus* na świetle, dają się określić jako zjawisko fotomorfozy, bowiem do ich wywołania potrzebne jest światło, nawet o bardzo niskim natężeniu. Działania światła nie udało się zastąpić żadną ze zbadanych substancji chemicznych.

Do momentu rozpoczęcia się drugiej części fazy zarodnikowania procesy wzrostu grzybni i konidioforów przebiegają co do charakteru i szybkości w sposób identyczny. Powstaje pytanie, z jakim zjawiskiem można związać przyspieszenie wzrostu konidioforów na świetle. Zdaniem autorki, pierwszorzędne znaczenie przy wystąpieniu zjawiska fotomorfozy

u *A. giganteus* należałoby przypisać barwnikowi bądź grupie barwników, o charakterze prawdopodobnie karotenoidów (Gardner 1949), tworzących się na świetle. Na potwierdzenie wyżej postawionej hipotezy można przytoczyć szereg faktów zaobserwowanych w niniejszej pracy.

Przede wszystkim kultury *A. giganteus* hodowane na świetle do momentu wytworzenia barwnika tworzą konidiofory krótkie. Pojawienie się barwnika w grzybni poprzedza lub postępuje równolegle z pojawieniem się długich konidioforów. Wyróżnione w rozwoju dwie fazy — faza rozwoju grzybni i faza rozwoju konidioforów — przypominają fazowość pojawienia się barwników karotenoidowych u *Phycomyces blakesleeanus* (Garton, Goodwin i Lijinsky 1950 i 1951). Mamy tu również pierwszą fazę (0 — 5 dni wzrostu) gdzie występuje szybki wzrost suchej masy, i drugą fazę — fazę syntezy karotenoidów, w której tworzenie substancji plastycznych zostaje ukończone. Podobne zjawisko obserwowali Luteraan i Choay (1947) u *Rhodotorula rubra*.

Hodowle na świetle są zabarwione żółto, podczas gdy hodowle w ciemności są białe. Fakt ten, stosunkowo trudny do stwierdzenia u *A. giganteus* ze względu na silne jego zarodnikowanie w ciemności, występuje wyraźnie u *A. giganteus* mut. *alba* (Zurzycka 1956) o białych konidiach. Kropidlak ten, tworzący podobnie jak forma wyjściowa wysokie konidiofory na świetle, zabarwione żółto, w ciemności tworzy krótkie konidiofory, a grzybnia jego jest śnieżno biała.

Wystawienie z ciemności na światło kultur o wyłącznie krótkich konidioforach, hodowanych przez 16 dni w ciemności, a więc takich, u których procesy rozwojowe i wzrostowe zostały zasadniczo zakończone, powoduje naprzód pojawienie się barwnika w grzybni, a dopiero potem tworzenie się długich konidioforów.

Za udziałem barwników w procesie tworzenia długich konidioforów przemawiają wyniki, uzyskane przez Wolfa (1938, 1948) przy doświadczeniach nad wpływem światła barwnego na tworzenie się konidioforów. Światło czerwone, a więc nie absorbowane przez żółty barwik grzybni, działa jak ciemność, wywołując powstawanie wyłącznie krótkich konidioforów, natomiast światło niebieskie powoduje powstanie długich konidioforów.

Nie należy jednak pomijać milczeniem faktów, które mogą przemawiać przeciw postawionej hipotezie udziału barwników w powstawaniu zjawiska fotomorfozy u *A. giganteus*. Przede wszystkim więc w kulturach na pożywce nieodpowiedniej dla rozwoju grzyba następuje zahamowanie rozwoju konidioforów, natomiast synteza barwników wydaje się przebiegać normalnie, a nawet nieco intensywniej, co najwyraźniej występuje w wypadku zastosowania nieodpowiedniego źródła azotu, jakim jest fosforan amonu. Należy także pamiętać, że ilość karotenoidów wystarczają-

ca do wywołania reakcji fototropicznej jest bardzo mała, mimo to jednak stężenie karotenoidów w normalnie rozwijającym się *Phycomyces blakesleeanus* jest znacznie większe (Goodwin 1952). W wypadku *A. giganteus* stężenie barwników w normalnie rozwijającej się grzybni i konidioforach, wyrażające się różną intensywnością zabarwienia organizmu, jest różne, od kremowego do żółtego, co zdaje się bynajmniej nie wpływać na wysokość konidioforów.

STRESZCZENIE WYNIKÓW

1. *Aspergillus giganteus* jest organizmem aukso-autotroficznym, nie wymaga bowiem do normalnego wzrostu i rozwoju żadnych czynników wzrostowych.

2. Ustalono skład pożywki, najbardziej odpowiedni dla hodowli *A. giganteus*. Ze zbadanych źródeł węgla dobry wzrost otrzymano na glukozie i sacharozie. Ze źródeł azotu oprócz azotanu amonu można stosować azotan potasu oraz szereg aminokwasów (glycyna, alanina, asparagina).

3. Stwierdzono, że zmiany morfologiczne na świetle mają charakter zmian fotomorfotycznych, do ich wywołania konieczne jest światło. Żadnym ze zbadanych czynników wzrostowych, naturalnych czy syntetycznych, nie można zastąpić morfotycznego działania światła.

4. Rozwój *A. giganteus* podzielono na dwie fazy — fazę rozwoju grzybni i fazę rozwoju konidioforów. Pierwsza z tych faz przebiega jednakowo na świetle i w ciemności, co wyraża się identycznym ciężarem suchej masy w obu wypadkach. W fazie drugiej następuje około 10-krotne zwiększenie wymiarów konidioforów w porównaniu z konidioforami w ciemności.

Kierownikowi Zakładu Fizjologii Roślin UJ prof. drowi F. Górskiemu składam serdeczne podziękowanie za udzielenie cennych rad i wskazówek.

Zakład Fizjologii Roślin UJ. (Wpłynęło dn. 9.II.1956 r.)

RESUMÉ

Le changement des conditions lumineuses provoque chez *Aspergillus giganteus* Wehm. une réaction remarquable de photomorphose. Cultivé à l'obscurité, cette aspergille forme des conidiophores très courts (3 — 4 mm), par contre chez les cultures exposées à la lumière les conidiophores atteignent plusieurs cms de hauteur et sont fortement colorés en jaune par des pigments appartenant probablement aux caroténoides (Fig. 1 a et 1 b).

L'insuffisance de nos connaissances sur la photomorphose chez *A. giganteus* détermina l'auteur à entreprendre une étude plus detaillée de ce problème. Le présent mémoire résume les résultats de récherches préli-

minaires sur les besoins nutritifs et les conditions de croissance de l'aspergille étudiée.

I. Les cultures. La culture de *A. giganteus* se faisait dans les thermostats dont la température était maintenue à 20°C. Les cultures exposées à la lumière étaient illuminées pendant 6 heures par jour par des tubes lumineux (25 W, 220 V, lumière blanche), dont l'intensité lumineuse s'élevait à 1000 lux. Il résulte des données du tableau 1 que la durée d'illumination adoptée dans nos recherches était la durée optimale.

L'aspergille se développait sur un milieu nutritif de composition très simple; il contenait 50 g de glucose (privé de vitamines), 1 g KH_2PO_4, 1 g NH_4NO_3, 1 g $MgSO_4$, 0,002 g $ZnSO_4$ et 0,002 g $FeSO_4$ par litre d'eau distillée. Le pH du milieu était maintenu à un niveau constant 6,58, par l'addition de KH_2PO_4 (M/15) et de Na_2HPO_4 (M/15) (Tableau 2).

On procédait aux récoltes des mycéliums après 16 jours de croissance, en effet à ce moment, ainsi qu'il résulte de la Fig. 2, le développement de l'aspergille était terminé. Les poids secs des mycéliums servaient de mésure du développement atteint par l'aspergille. La hauteur des conidiophores des cultures exposées à la lumière était mesurée avec une précision de 0,7 mm. Pour obtenir les résultats statistiquement plus sûrs, toutes les expériences ont été répétées plusieurs fois.

II. L'auxo-autotrophie chez *A. giganteus*. Nous avons constaté que *A. giganteus* cultivé sur un milieu synthétique dont la composition a été donnée plus haut, se développe aussi bien à la lumière qu'à l'obscurité (Tableau 3). L'augmentation de la matière sèche observée sur le milieu nutritif contenant l'eau de lévure au lieu de l'eau distillée, doit être attribuée à la plus grande quantité de matière azotée et carbonnée contenue dans le premier milieu. Il résulte des données du Tableau 4 que les cultures à la lumière et à l'obscurité, malgré leur différences morphologiques frappantes, ont des poids secs identiques ou presque. Il s'ensuit que ces différences doivent être attribuées à une utilisation différente de la même substance plastique et non pas à un contenu d'eau different. On a également constaté que l'élongation des conidiophores à la lumière était indépendante des conditions lumineuses dans lesquelles se développaient les cultures de la génération précédente.

Le milieu synthétique suffit pour assurer le développement normale de l'aspergille. Toutefois, il nous a paru indiqué d'étudier son développement sur des milieux nutritifs additionnés de microélements ou de facteurs de croissance synthétiques ou naturels et d'obsérver si la présence de ces substances provoquerait des modifications dans la croissance du mycélium ou dans l'élongation des conidiophores. Il résulte du Tableau 5 que le développement de *A. giganteus* sur les milieux de composition plus complexe ne différait pas du développement sur le milieu synthétique simple. Plus particulièrement aucune parmi les substances ajoutées au milieu synthétique simple n'a exercé d'action stimulatrice sur l'élongation des conidiophores chez les cultures placées à l'obscurité. Il s'ensuit qu'il est impossible de remplacer l'action de la lumière par les substances mentionnées plus haut.

III. L'influence de diverses sources azotées et carbonnées sur le développement de *A. giganteus*. Sur ce point nous avons limité nos recherches à l'étude de quelques substances; notre attention s'est portée

sur celles pour lesquelles, à juger d'après les résultats de travaux précédents, on pouvait présumer qu'elles seraient capables d'exercer une action sur le développement de *A. giganteus*.

A. Toutes les substances azotées employées étaient en proportion azotée avec 1 g de nitrate d'ammonium. Les sels inorganiques NH_4NO_3 et KNO_3 constituaient une source azotée satisfaisante pour la culture d'*A. giganteus*, par contre le phosphate acide d'ammonium s'est révélé comme une source azotée de qualité inférieure. Sur un milieu contenant cette substance on observe des perturbations dans le développement normal de l'aspergille (abaissement du poids sec, absence de sporulation). Il faut toutefois signaler que l'emploi de ce milieu conduit à une forte production de pigments.

Du point de vue de la valeur nutritive les acides aminés se laissent diviser en deux groupes: le premier comprend la glycine, l'alanine et l'asparagine qui sont d'excellentes sources azotées pour *A. giganteus*. Les poids secs et le développement sont à peine inférieurs à ceux observés sur les milieux avec du nitrate d'ammonium. Les acides du second groupe, à savoir la d(—)-leucine, la l(+)-leucine et la l-valine sont des sources azotées de valeur inférieure pour notre aspergille. It est vrai que sur le milieu contenant la valine, *A. giganteus* produit beaucoup de matière sèche mais les changements morphologiques qui apparaissent au cours de la croissance disqualifient cet acide aminé comme une source azotée.

B. Les diverses sources carbonnées employées étaient en proportion carbonnée avec 50 g de glucose. On peut diviser les substances étudiées en trois groupes: a) le sacharose et le glucose sont d'excellentes sources carbonnées pour *A. giganteus;* b) le glicérol, le mannitol, les sels de sodium des acides acétique, palmitique et oléique conduissent à une diminution de la matière sèche plus ou moins prononcée et provoquent à la lumière ainsi qu'à l'obscurité, des perturbations de la croissance qui se manifestent par une sporulation faible et atypique; c) le citrate de sodium est toxique.

IV. Observations sur élongation des conidiophores. Le schéma ci-dessous resume les principales étapes du développement de *A. giganteus* à la lumière et à l'obscurité. Il en résulte que jusqu'au début de l'étape II b le développement est indépendent des conditions lumineuses et

Spore

Obscurité	Lumière
Etape I. Formation du mycélium accompagnée d'une forte production de matière sèche.	Etape I. Formation du mycélium accompagnée d'une forte production de matière sèche.
Etape II. Sporulation a) formation de conidiophores courts b) les conidiophores deviennent nombreux mais restent courts.	Etape II. Sporulation a) formation de conidiophores courts b) élongation considérable et rapide des conidiophores.

s'accomplit d'une manière identique dans les deux cas. Toutefois chez les cultures privées de lumière le développement se termine par la formation de conidiophores nombreux mais très courts (Fig. 1 a), par contre chez les cultures exposées à l'action des radiations nous assistons à une nouvelle phase de croissance qui se manifeste par une élongation rapide et considérable des conidiophores (Fig. 1 b).

Le problème qui se pose consiste à découvrir la cause immédiate de cette élongation. Nous sommes d'avis que dans ce phenomène de photomorphose un rôle important revient aux pigments qui apparaissent chez les cultures developpées à la lumière. Cette hypothèse est corroborée par les faits suivants:

a) Jusqu'au moment de la formation du pigment, les cultures de *A. giganteus* maintenues à la lumière forment exclusivement de conidiophores courts et leur élongation coincide avec l'apparition de la pigmentation.

b) Les cultures exposées à la lumière sont colorées en jaune, tandis que les cultures maintenues à l'obscurité sont nettement blanches, particularité qui se manifeste très distinctement chez la mutation *(A. giganteus* mut. *alba).*

c) L'exposition à la lumière de cultures qui se développaient à l'obscurité et possédaient par conséquent des conidiophores courts, entraîne d'abord la coloration du mycélium et ensuite l'élongation des conidiophores.

d) Selon les recherches de Wolf les radiations rouges (qui ne sont pas absorbées par les pigments jaunes de cette aspergille) ressemblent dans leur action à l'obscurité et sont incapables de provoquer l'élongation des conidiophores.

LITERATURA

Beadle G. W. and Tatum E. L., 1945, Neurospora II. Methods of producing and detecting mutations concerned with nutritional requirements, Amer. J. Bot., 32: 678—685.

Fromageot C. et Tchang J. L., 1938, Sur la synthèse des pigments caroténoides par *Rhodotorula sanniei,* Archiv f. Mikrobiol., 9: 439—448.

Gardner E. B., 1949, Elongation of the conidiophore of *Aspergillus giganteus* in relation to light quality, Amer. J. Bot. 36: 809.

Garton G. A., Goodwin T. W. and Lijinsky W., 1950, The biogenesis of β-carotene in the fungus *Phycomyces blakesleeanus,* Biochem. J. 46: 35.

Garton G. A., Goodwin T. W. and Lijinsky W., 1951, Studies in carotenogenesis. I. General conditions governing β-carotone synthesis by the fungus *Phycomyces blakesleeanus* Burgeff, Bioch. J. 48: 154—163.

Goodwin T. W., 1952, Fungal carotenoids. Bot. Rev., 18: 291—316.

Goodwin T. W., 1952, The comparative biochemistry of the carotenoids, London.

Grob E. C., Poretti G. G. von Muralt A. et Schopfer W. H., 1951, Recherches sur la biosynthèse des caroténoides chez un microorganisme. Production de caroténoides marqués par *Phycomyces blakesleeanus,* Experientia, 7: 218—219.

Luteraan P. J. et Choay J., 1947, Données expérimentales sur l'origine, la formation et le rôle des pigments caroténoides chez les *Rhodotorula*, Ann. Parasitol., 22: 89—93.

Kögl F. und Schuringa G. J., 1944, Über die Inaktivierung von Auxin a lakton bei verschiedenen Wellenlängen und den Einfluss von Carotinoiden auf die Lichtreaktion, Z. f. physiol. Chemie, 280: 148—161.

Page R. M., 1952, The effect of nutrition on growth and sporulation of *Pilobolus*. Amer. J. Bot., 39: 731—739.

Schopfer W. H., 1935, Etude et l'identification d'un caroténoide de champignon, Comp. Rend. Soc. Biol., Paris, 118: 3—4.

Schopfer W. H., 1949, Plants and vitamins, Chronica Botanica.

Thom Ch. and Raper K. B., 1945, A manual of the Aspergilli, Baltimore.

Turain G., 1950, Recherches sur la biosynthèse des caroténoides chez un bacille paratuberculeux. I. Exaltation de la pigmentation par le fer et par le manganèse, Helv. Chim. Acta, 33: 13—16.

Turain G., 1950, Recherches sur la biosynthèse des caroténoides chez un bacille paratuberculeux. III. Inhibition de la pigmentation par la diphénylamine, Helv. Chim. Acta 33: 1988—93.

Webb P. H. W., 1942, Studies on the elongation of the conidiophores of *Aspergillus giganteus* as affected by temperature, nutrients and light, Thesis. Washington Univ. (cyt. wg Thoma i Rapera).

Wolf F. A., 1938, Fungal flora of Yucatan caves, Carnegie Inst. Wash. Publ. 491: 19—21.

Wolf F. A. and Wolf F. T., 1948, The Fungi, T. I. New York.

Zurzycka A., 1956, *Aspergillus giganteus* mut. *alba* Wehm. Acta Soc.. Bot. Pol. (w druku).