

Wpływ dwunitro-orto-krezolu (DNOC) na fizjologię i morfologię grzybów glebowych. III.

Oddziaływanie różnych stężeń DNOC na aktywność kiełkowania zarodników i morfologię strzępek rostkowych

TERESA KORNIŁOWICZ

Instytut Gleboznawstwa i Chemii Rolnej Akademii Rolniczej w Lublinie

K o r n i ł o w i c z T.: (Institute of Soil Science and Agricultural Chemistry Faculty of Agriculture, Agricultural Academy in Lublin St. Leszczyńskiego 7, 20-069 Lublin, Poland). *Influence of dinitroorthocresol (DNOC) on physiology and morphology of soil fungi. III. The effect of various concentrations of DNOC on spore germination activity and morphology of germ tubes.* Acta Mycol. 20(1): 45-61, 1984.

In the present paper low concentrations (1 - 10 mcg/ml) of DNOC, in general, were not found to restrain germination of fungal spores. High concentrations (25 - 200 mcg/ml) were sporostatic and sporocidal. Disturbances of fungal spore germination in the presence of DNOC were often accompanied by morphological changes of spores and germ tubes, *Mucor mucedo* under the influence of DNOC developed budding cells besides hyphae.

WSTĘP

Pestycydy nitrofenolowe należą do związków o złożonym mechanizmie działania. Obok obserwowanych zmian w metabolizmie grzybów glebowych (K o r n i ł o w i c z 1982a,b) do wskaźników fizjologicznego typu reakcji na pestycydy nitrofenolowe należą zmiany w cyklu rozwojowym tych drobno-ustrojów. W przypadku grzybów wrażliwych na te preparaty obserwowane jest ograniczenie wzrostu grzybni i wytwarzania ciał owocowych (D u d a, P ę d z i w i ł k 1952; B a t e s i n. 1962; P a n d e y R a i 1975; K o r n i ł o w i c z i n. 1979; K o r n i ł o w i c z 1982a). W przeciwieństwie do wymienionych procesów kiełkowanie zarodników jest słabiej hamowane w obecności połączeń fenolowych. Świadczy o tym m. in. fakt, że w obecności takich podstawionych fenoli jak pięciochlorofenol (PCP) do uzyskania efektu sporostatycznego wymagane są znacznie wyższe stężenia tego fungicydu, niż do wywołania działania mikostatycznego (Y a n a g i t a, Y a m a g i s h i

1958). Uważa się, że większa odporność na pestycydy zarodników niż strzępek grzybów związana jest z zagęszczeniem ich cytoplazmy oraz obecnością grubych, wysyconych substancjami lipidowymi ścian komórkowych.

Jakkolwiek nitrozwiązki oddziałują głównie na fizjologię mikrogrzybów, B e n t i M o o r w 1966 (L u k e n s 1971) zaobserwowali również ich wpływ na morfologię tych drobnoustrojów. Nieliczne są dotychczasowe informacje na temat wpływu preparatów nitrofenolowych (takich jak DNP, DNOC, DNBP) na morfologię i morfogenezę mikrogrzybów; znajdują się w pracach V e r d c o u r t a z 1952 roku, B e n t a i M o o r a z 1966 i S c h u l z a z 1974 (L u k e n s 1971).

Kontynuując badania nad oddziaływaniem pestycydu nitrofenolowego (DNOC) na fizjologię i morfologię grzybów glebowych – wrażliwych we wzroście na ten preparat – prześledzono wpływ różnych koncentracji DNOC na aktywność kiełkowania zarodników. Ponadto starano się stwierdzić czy zaburzeniom w aktywności kiełkowania zarodników grzybów w obecności wymienionych pestycydów towarzyszą zmiany w ich morfologii oraz morfologii wyrastających strzępek rostkowych.

MATERIAŁ I METODY

Do badań użyto 18 szczepów grzybów glebowych wybranych spośród 50 izolatów cechujących się redukcją biomasy w obecności dwunitro-orto-krezolu (K o r n i ł ł o w i c z 1982a). Jako kryterium selekcji materiału szczepowego przyjęto silne zahamowanie (co najmniej 40%) przyrostu biomasy pod wpływem 5 mcg DNOC/ml podłoża. Na tej podstawie wybrane szczepy grzybów uznano za wrażliwe na stężenia DNOC zbliżone do ilości połowych tego pestycydu. Reprezentowały one następujące gatunki: *Rhizopus nigricans* Ehrenb. (3 szczepy), *Penicillium purpurogenum* Stoll (8 szczepów), *Aspergillus niger* van Tiegh. (3 szczepy) oraz *Mucor mucedo* L. ex Fr., *Mucor griseo-cyanus* (Hagem) Schipper f. *Mucor* sp. i *Penicillium* sp. – po 1 szczepie. Ponadto wybrano 1 szczep (*Rhizopus nigricans* nr 1) stymulowany przez wspomnianą dawkę preparatu (K o r n i ł ł o w i c z 1982a).

Do doświadczeń, podobnie jak poprzednio (K o r n i ł ł o w i c z 1982a), użyto 4,6-dwunitro-orto-krezol w roztworze 0,1 n NaOH. Badania prowadzono z użyciem szerokiego spektrum stężeń DNOC w celu poznania wpływu zarówno niskich jak i wielokrotnie wyższych koncentracji tego biocydu na zachowanie żywotności grzybów (występujących w postaci zarodników). Zastosowano następujące dawki doświadczalne DNOC (w mcg/ml): 1; 5; 10; 25; 50; 75; 100; 150 i 200.

Hodowle grzybów prowadzono na zmodyfikowanych pożywkach (K o r n i ł ł o w i c z 1982a): *Mucoraceae* na pożywce Saundersa (S z a j e r i n. 1969), a pozostałe grzyby – na pożywce Czapek-Doxa (L i t w i n o w 1969).

W badaniach stosowano 10 ml pożywki zawierającej odpowiednią ilość DNOC. Celem uniknięcia alkalizacji stosowanego podłoża (mała objętość) z roztworów macierzystych tego preparatu w ługu (0,1 n NaOH) sporządzono rozcieńczenia wyjściowe – w wodzie. Następnie 1-mililitrowe porcje tych roztworów zawierające 10-krotnie wyższe stężenia od stosowanych dawek doświadczalnych mieszano z 9 ml pożywki, uzyskując w ten sposób podane wyżej, końcowe stężenia preparatu. Kontrolne podłoża uzyskiwano przez zmieszanie 1 ml jałowej wody destylowanej i 9 ml pożywki.

Do hodowli grzybów zastosowano metodę mikrokultur na krążkach agarowych (A. B. S t r z e l c z y k 1968). Inokulum do szczepień sporządzano następująco: z 7-dniowych hodowli grzybów na skosach z pożywką glukozowoziemniaczaną splukiwano zarodniki 5 mililitrami 0,02% wodnego roztworu Tween 80 i rozcieńczono wodą tak, by ostateczne ich zagęszczenie nie było wyższe niż 20-25 komórek w 1 polu widzenia mikroskopu przy powiększeniu $200\times$. Krążki posiewano pobierając z ww. zawiesiny 1 oczko ezy. Mikrohodowle kontrolne oraz zawierające DNOC inkubowano w 26°C przez 7 dni. Zastosowana metoda hodowli grzybów była dogodna przy określaniu zdolności kiełkowania zarodników, a ponadto umożliwiła śledzenie zmian morfologicznych z jednoczesną przyżyciową obserwacją struktur anatomicznych komórek grzybów.

Aktywność kiełkowania zarodników w obecności DNOC

Zdolność kiełkowania zarodników określano na podstawie metody B o r e c k i e g o i B u r k i e w i c z a (1962). W każdej mikrokulturze analizowano po 50 zarodników dokonując obserwacji w odstępach 24-godzinnych przez 1-3 dni. Ogółem dla każdej serii doświadczalnej badano po 300 zarodników (przy 6-krotnym powtórzeniu). Krążki z niewykiełkowanymi zarodnikami poddawano obserwacji wydłużając czas inkubacji do 7 dni.

Wyniki podawano jako procent hamowania lub stymulacji kiełkowania w obecności użytych dawek DNOC. Na podstawie krzywych aktywności kiełkowania zarodników wyznaczano następnie wartości ED_{50} tj. stężenia powodujące zahamowanie ich kiełkowania w 50% (K o o p m a n s 1956).

Przeżywalności zarodników w obecności DNOC

Test przeżywalności zarodników przeprowadzono stosując takie dawki DNOC (różne w zależności od wrażliwości szczepów), które odpowiadały najniższemu stężeniu preparatu powodującemu 100% (ED_{100}) lub prawie całkowite (ED_{95}) zahamowanie kiełkowania zarodników. Przeżywalność zarodników grzybów oznaczano w następujący sposób: w trakcie 7-dniowej hodowli krążki zawierające niewykiełkowane zarodniki przenoszono co-

dziennie do kolbek z płynną pożywką glukozowo-ziemniaczaną bez preparatu i po wypłukaniu zarodników krążki usuwano. Dla każdego szczepu stosowano 3-krotne powtórzenia. Hodowle inkubowano w temp. 26°C aż do uzyskania pełnego rozwoju grzybni, tj. do wytworzenia grzybni powietrznej i ciał owocowych. Kolbki z pożywką inkubowano 4 dni w celu ustalenia czy użyte dawki DNOC (przy stosowanym czasie kontaktu) wywierają działanie zarodnikobójcze (A. B. S t r z e l c z y k 1968).

Wpływ DNOC na morfologię zarodników i strzępek rostkowych

Obserwacje obejmowały niektóre cechy komórek grzybów, jak grubość ściany komórkowej i strukturę cytoplazmy. Wszystkie charakterystyczne zmiany morfologiczne i anatomiczne zarodników i rostków badanych grzybów zarejestrowano na fotografiach wykonywanych przy stałym powiększeniu (200 ×).

WYNIKI BADAŃ

Oddziaływanie DNOC na kiełkowanie zarodników

Obserwacje wykazały, że niektóre spośród badanych 19 szczepów reagowały nieznacznym przyspieszeniem kiełkowania zarodników w środowisku zawiera-

T a b e l a 1 – T a b l e 1

Wpływ niskich stężeń DNOC na aktywność kiełkowania zarodników niektórych grzybów (% hamowania lub stymulacji w stosunku do kontroli)

The effect of low concentrations of DNOC on activity of spore germination of some fungi (percentage of inhibition or stimulation as compared with control)

Gatunek Species	Nr szczepu No. of strains	DNOC (mcg/ml)		
		1	5	10
czas inkubacji: 1 → 3 dni time of incubation: 1 → 3 days				
<i>Rhizopus nigricans</i>	1	0	(+) 24 → (+) 5	85 → 50
	3	18 → 9	22 → 10	28 → 14
	4	(+) 18 → 0	(+) 6 → 0	(+) 16 → (+) 7
	5	0	0	23 → 12
<i>Mucor mucedo</i>	1	0	24 → 17	35 → 15
<i>Mucor</i> sp.	1	0	11 → 6	30 → 23
<i>Penicillium purpurogenum</i>	6	0	0	33 → 14
<i>Penicillium</i> sp.	1	0	0	30 → 13
<i>Aspergillus niger</i>	1	14 → 7	12 → 10	14 → 7

(+) stymulacja (stimulation)

jącym niskie dawki DNOC (1 - 10 mcg/ml). Obserwowana stymulacja zanikała w miarę przedłużania czasu inkubacji (tab. 1, 2).

Jak wynika z tabeli 1 w obrębie badanego zespołu grzybów wystąpiły również takie szczepy, które reagowały obniżeniem (na ogół niezbyt wysokim) aktywności kiełkowania zarodników po wprowadzeniu do pożywki małych ilości nitrofenolu. Wśród nich szczególnie interesującą reakcję wykazywał szczep *Rhizopus nigricans* nr 1. Mimo stymulacji kiełkowania zarodników tego grzyba przez 5 mcg DNOC/ml stwierdzono silne hamowanie tego procesu w obecności dwukrotnie wyższej dawki. Pozostałe szczepy – reprezentujące *Mucor griseo-cyanus*, *Penicillium purpurogenum* i *Aspergillus niger* nie wykazywały na ogół wrażliwości na niskie dawki DNOC.

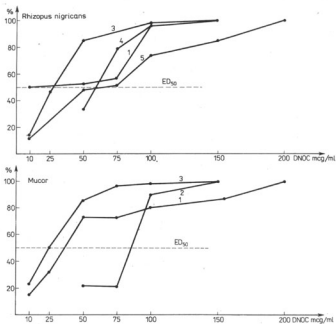
Wraz ze wzrostem zawartości DNOC w podłożu (powyżej 10 mcg/ml) procent nie wykiełkowanych zarodników ulegał zwiększeniu (ryc. 1).

Wysoką wrażliwością na wyższe dawki tego pestycydu charakteryzowały się szczepy *Rhizopus nigricans* oraz *Mucor* sp., *Mucor mucedo* i *Penicillium* sp. reagujące również i na niższe stężenia DNOC. Wskazywały na to otrzymane wartości ED_{50} (10 - 50 mcg DNOC/ml) dla tych grzybów. Szczepy pozostałych gatunków, tj. *Mucor griseo-cyanus*, *Penicillium purpurogenum* i *Aspergillus niger*, reagowały również zmniejszeniem liczby wykiełkowanych zarodników pod wpływem wyższych dawek DNOC. Przejawiały one jednak znacznie większą oporność na ten preparat, niż wymienione wcześniej gatunki. Stwierdzono bowiem, że do 50% zahamowania (ED_{50}) kiełkowania zarodników tych grzybów wymagane były w większości przypadków wyższe stężenia DNOC, rzędu 65 - 100 mcg/ml.

Przedstawione wyniki wskazują, że niskie dawki DNOC na ogół nie wywierały znacznego wpływu na kiełkowanie zarodników, natomiast wyższe stężenia DNOC były sporostatyczne. Wrażliwość zarodników na DNOC świadczy o wyraźnym zróżnicowaniu gatunkowym grzybów. Ponadto w obrębie gatunków reprezentowanych przez większą liczbę szczepów dały się zauważyć różnice szczepowe (tab. 1; ryc. 1). Interesująca wydaje się zróżnicowana reakcja szczepów *Rhizopus nigricans* – wśród których jeden (nr 4) przejawiał stymulację kiełkowania w obecności 10 mcg DNOC/ml, podczas gdy inny (nr 1) był silnie hamowany przez tą ilość nitrofenolu.

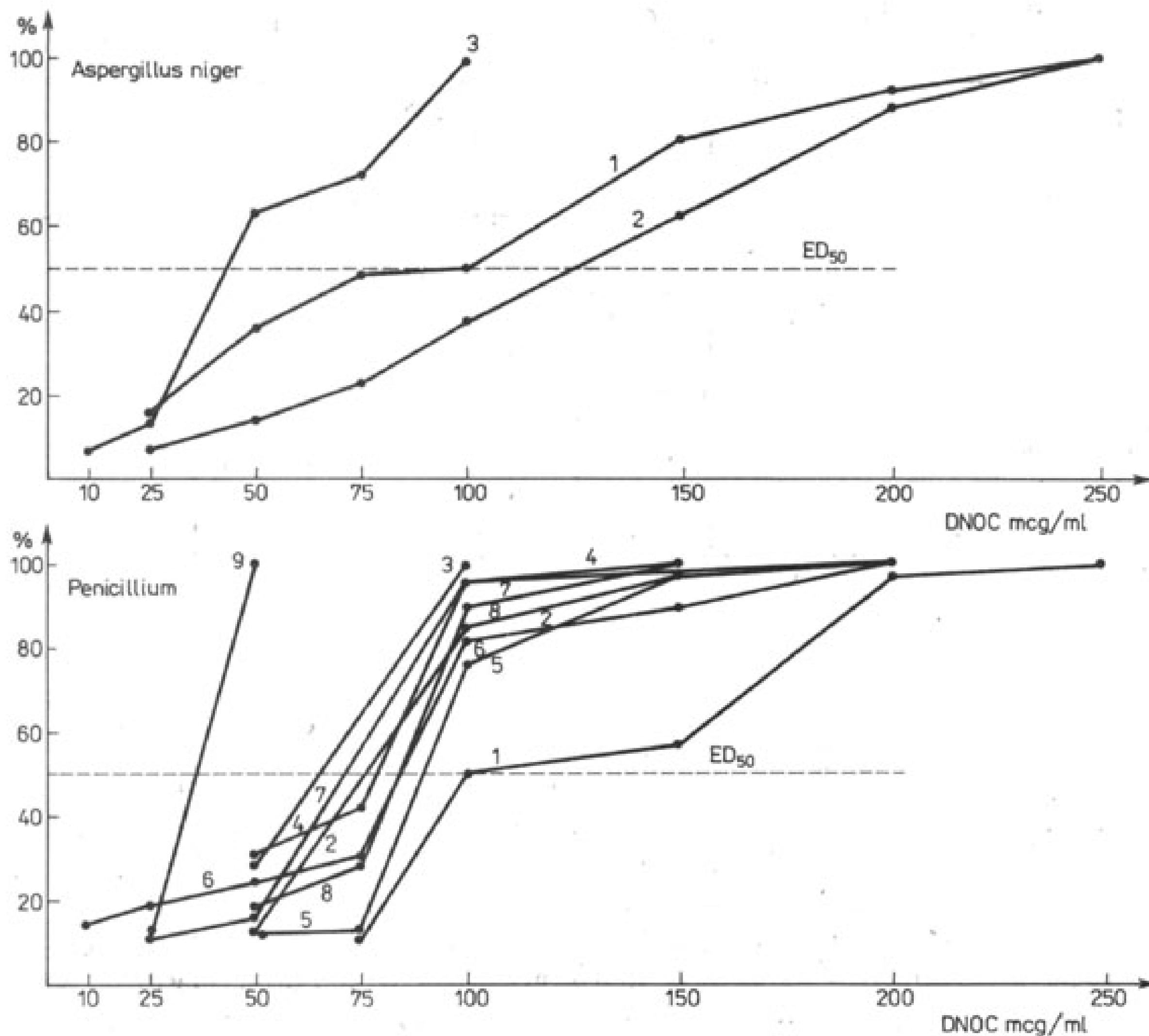
Przeprowadzone badania wykazały, że wraz z przedłużaniem czasu inkubacji zarodników w obecności DNOC zwiększał się procent wykiełkowanych zarodników (tab. 2). Fakt, że zjawisko to obserwowano na ogół w obecności sporostatycznych dawek DNOC nie przekraczających wartości ED_{50} , wskazuje na możliwość dostosowywania się zarodników do niższych, aczkolwiek hamujących kiełkowanie, stężeń DNOC.

W hodowli zawierającej DNOC w stężeniach rzędu 100 - 200 mcg/ml (ryc. 1) większość badanych grzybów wykazywało 100% zahamowanie kiełkowania spor (ED_{100}).



Ryc. 1. Zahamowanie kiełkowania zarodników wybranych gatunków grzybów w obecności DNOC w stosunku do kontroli (%)

Inhibition of spore germination of selected species of fungi in the presence of DNOC with control (%)



Ryc. 1 - c.d.

Rhizopus nigricans: 1, 3, 4, 5 - numery szczepów (number of strains); *Mucor*: 1 - *M. mucedo* szcz. nr 1 (strain No. 1), 2 - *M. griseo-cyanus* szcz. nr 1 (strain No. 1), 3 - *Mucor* sp. szcz. nr 1 (strain No. 1); *Aspergillus niger*: 1-3 - numery szczepów (numbers of strains); *Penicillium*: 1-8 - numery szczepów *P. purpurogenum* (1-8 - number of *P. purpurogenum* strains); 9 - *Penicillium* sp.

T a b e l a 2 – T a b l e 2

Wpływ wysokich stężeń DNOC na zdolność kiełkowania zarodników niektórych grzybów po różnym czasie inkubacji (% wykiełkowanych zarodników w stosunku do kontroli)

The effect of high concentrations of DNOC on activity of spore germination of some fungi after various periods of incubation (in percentage of germinated spores as compared with control)

Gatunek Species	Nr szczepu No. of strains	DNOC (mcg/ml)				
		25	50	75	100	150
czas kontaktu z preparatem od 1 do 3 dni time of treatment of DNOC: 1-3 days						
<i>Rhizopus</i>	3	46 → 54	15 → 15	5 → 5	0	0
<i>nigricans</i>	5	84 → 88	39 → 52	47 → 49	21 → 26	16 → 15
<i>Mucor mucedo</i>	1	60 → 68	13 → 27	18 → 29	14 → 14	10 → 20
<i>Penicillium</i>	4	92 → 95	42 → 70	54 → 58	6 → 4	2 → 2
<i>purpurogenum</i>	6	60 → 84	–	48 → 70	4 → 18	10 → 10
	7	74 → 88	73 → 85	–	2 → 4	2 → 5
<i>Aspergillus niger</i>	1	64 → 85	47 → 64	41 → 51	26 → 50	10 → 20

– nie badano (no studied)

Oddziaływanie DNOC na przeżywalność zarodników

Wykonane testy przeżywalności zarodników grzybów dowiodły, że już najniższe stężenia DNOC nie dopuszczające do kiełkowania były sporobójcze.

Letalny wpływ DNOC na zarodniki był zależny od czasu ich kontaktu z pestycydem. I tak po 1-3 dniach inkubacji w obecności dawek powodujących 100% lub prawie całkowite (ED_{95}) zahamowanie kiełkowania zarodników działanie DNOC miało charakter sporostatyczny (ryc. 2). Po przeniesieniu do środowiska bez preparatu zarodniki kiełkowały tworząc grzybnię. Aktywność sporobójczą DNOC wobec badanych grzybów obserwowano po przedłużeniu ich kontaktu z pestycydem do 4-5 dni.

Wpływ DNOC na morfologię zarodników i strzępek rostkowych

Oddziaływanie badanego pestycydu na morfologię kiełkujących zarodników objawiało się zazwyczaj silniejszym niż w kontroli pęcznieniem zarodników oraz nabrzmiwaniem i skróceniem rostków.

Nasilenie tych zmian było jednak zależne od gatunku grzyba. W obrębie 19 przebadanych grzybów szczepy *Penicillium purpurogenum* i *Aspergillus niger* reagowały słabiej na wprowadzenie DNOC niż izolaty *Rhizopus nigricans* oraz

Gatunek Species	Nr szczepu Number of strain	DNOC mcg/ml	Czas kontaktu z preparatem(dni) Time of treatment of DNOC (days)				
			3	4	5	6	7
<i>Rhizopus nigricans</i>	1	100	■	□	□	□	□
	3	100	■	■	□	□	□
	4	100	■	■	□	□	□
	5	200	■	□	□	□	□
<i>Mucor griseo-cyanus</i>	1	200	■	□	□	□	□
<i>Mucor mucedo</i>	1	200	■	□	□	□	□
<i>Mucor sp.</i>	1	75	■	□	□	□	□
<i>Penicillium purpurogenum</i>	1	200	■	■	■	□	□
	2	150	■	■	□	□	□
	3	100	■	■	■	□	□
	4	100	■	■	■	□	□
	5	150	■	□	□	□	□
	6	200	■	□	□	□	□
	7	100	■	■	□	□	□
	8	200	■	□	□	□	□
<i>Penicillium sp.</i>	1	50	■	■	■	□	□
<i>Aspergillus niger</i>	1	250	■	□	□	□	□
	2	250	■	□	□	□	□
	3	100	■	□	□	□	□

■ wzrost (growth)
□ brak wzrostu (no growth)

Ryc. 2. Przeżywalność zarodników niektórych grzybów w obecności najniższych dawek DNOC całkowicie hamujących ich kiełkowanie
Spore survival of some fungi in the presence of the smallest doses of DNOC completely inhibiting their germination

szczep *Mucor sp.* nr 1 i *Mucor mucedo* nr 1. Natomiast *Mucor griseo-cyanus* nr 1 oraz *Penicillium sp.* nr 1 nie wykazywały wyraźnych zmian morfologicznych w obecności wszystkich zastosowanych dawek DNOC.

Zanotowano ponadto zależność pomiędzy hamowaniem kiełkowania grzybów przez DNOC a indukcją zmian morfologicznych zarodników i rostków pod wpływem tego preparatu. Szczepy *Rhizopus nigricans* (z wyjątkiem nr 4), *Mucor sp.* i *Mucor mucedo* – reagujące pewnym obniżeniem aktywności kiełkowania w obecności niższych dawek DNOC – już w koncentracji 10, a nawet 5 mcg DNOC/ml, charakteryzowały się deformacją komórek (ryc. 1 - 3). Pod wpływem takich dawek DNOC opóźnione było także wytwarzanie pierwszych strzępek vegetatywnych, które ponadto często wyrastały pęczkami na szczycie rostków (ryc. 5). Interesujące było, że *Mucor mucedo* – obok zgrubiałych i skróconych odgałęzień w formie strzępek – wytwarzał kuliste komórki pączkujące (ryc. 5). Natomiast w przypadku szczepów *Penicillium purpurogenum* i *Aspergillus*

niger niskie koncentracje DNOC, tj. 1 - 10 mcg/ml, a często jeszcze i stężenia 25 mcg/ml, nie hamując na ogół kiełkowania zarodników, nie wpływały również na morfologię i wzrost zarodników i rostków (ryc. 4, 5 a-d).

Zmiany morfologiczne badanych przedstawicieli *Mucoraceae* ulegały pogłębieniu w miarę wzrostu koncentracji DNOC powyżej 10 mcg/ml. Zarodniki tych grzybów pęczniąc osiągały często olbrzymie rozmiary (np. u *Mucor mucedo* od 65 do 82 μm przy średnicy zarodników w kontroli od 16 do 22 μm), a zdegenerowane rostkę cechowały się silnie ograniczoną lub zahamowaną zdolnością do tworzenia odgałęzień bocznych (ryc. 1 - 3).

Przy dawkach DNOC (zazwyczaj począwszy od 50 mcg/ml) wywołujących sporostazę szczepów *Penicillium purpurogenum* i *Aspergillus niger* pojawiały się również zaburzenia w morfologii kiełkujących zarodników tych grzybów. W obecności niższych dawek sporostatycznych DNOC (ED_{50}) nie obserwowano zjawiska nadmiernego pęcznienia komórek tych grzybów. Natomiast wystające w tych warunkach wielokomórkowe strzępki rostkowe *Aspergillus niger* cechowało silniejsze niż w kontroli rozgałęzienie i pofragmentowanie (ryc. 6a, 6d). Wskazywało to na hamowanie wydłużania komórek. Rostki szczepów *Penicillium purpurogenum* w obecności niższych dawek sporostatycznych rozgałęziały się na ogół słabiej, rosnąc często zygzakowato w porównaniu z prostoliniowym wzrostem strzępek kontrolnych. Najwyższe stężenia subletalne DNOC wywoływały nie tylko bardzo silne skrócenie rostków, lecz również przyczyniały się do ich nadmiernego nabrzmiwania, indukując także rozcięcie zarodników (ryc. 6f, 7d).

Zanotowano ponadto, że w obecności stężeń sporostatycznych (dawki rzędu ED_{50} – ED_{95}) badane szczepy grzybów wytwarzały zwielokrotnioną liczbę rostków wyrastających z jednego, a nawet kilku miejsc zarodnika (ryc. 5 - 7). Efekt ten był wyraźnie widoczny w *Mucor mucedo*, a rzadziej u szczepów *Aspergillus niger* i *Penicillium purpurogenum*. Natomiast u izolatów *Rhizopus nigricans* i grzyba *Mucor* sp. nr 1 obserwowano na ogół redukcję liczby rostków do jednej zgrubiałej i skróconej strzępki, której średnica często była równa średnicy nabrzmiętego zarodnika (ryc. 3d). W obecności najwyższych dawek sporostatycznych DNOC pojawiały się „formy olbrzymie” również u innych badanych grzybów (ryc. 5g, 6f, 7d), chociaż z mniejszą częstotliwością. Struktury te przy tym zazwyczaj traciły zdolność wytwarzania strzępek potomnych.

W obrębie badanych grzybów na oddzielne omówienie zasługuje zachowanie się *Mucor mucedo*. Jak już wspomniano wcześniej szczep ten w środowisku zawierającym niskie stężenia DNOC (10 mcg/ml) obok wzrostu w formie grzybni (M) był zdolny do rozwoju w formie drożdżopodobnej (Y). Wraz ze wzrostem koncentracji DNOC *Mucor mucedo* przejawiał silniejszą tendencję do rozwoju w formie Y, niż w postaci M (ryc. 5). W obecności 50 mcg DNOC/ml (ponad 70% zahamowanie kiełkowania) licznie występowały formy mieszane. Zarodniki pęczniąc wytwarzały zarówno wyrostki grzybni jak i komórki pączkujące.

Wyrastały one pęczkami z jednego miejsca zarodnika (ryc. 5d, e). Często obserwowano powstawanie form wielobiegunowych (ryc. 5f). Niekiedy z jednego miejsca spory wyrastało równocześnie aż 9 krótkich wyrostków (w formie strzępek lub pączków), a inne zarodniki tworzyły liczne (nawet do 15) pojedyncze odgałęzienia. Natomiast w obecności najwyższych dawek subletalnych zarodniki *Mucor mucedo* tworzyły jedynie liczne wyrostki w formie pączków (ryc. 5h).

Przeżyciowe zmiany cytologiczne w zarodnikach i rostkach w obecności DNOC

Obserwacje cytologiczne, prowadzone równoległe z obserwacjami morfologicznymi komórek grzybów, wykazały, że w porównaniu z kontrolą strzępki rostkowe rosnące w obecności DNOC charakteryzowały się silnym nagromadzeniem ziarnistości w cytoplazmie. Uwidocznilo się to szczególnie w obrazie mikroskopowym badanych przedstawicieli *Mucoraceae*.

Zwrócono również uwagę na zgrubienie ścian komórkowych u niektórych spośród badanych grzybów rosnących z DNOC (ryc. 5), co mogłoby wskazywać na próbę obrony organizmów przed toksycznym oddziaływaniem tego preparatu. Natomiast często ujawniającą się zmianą cytologiczną szczepów *Rhizopus nigricans* hodowanych z DNOC było powstawanie błon poprzecznych w strzępkach rostkowych (ryc. 3).

Znaczna część badanych grzybów, wśród nich szczepy *Aspergillus niger* i *Mucor mucedo*, w obecności DNOC odznaczały się nagromadzeniem większej liczby wakuoli w porównaniu z kontrolą (ryc. 5, 6).

Obydwa opisane wyżej zjawiska mogłyby wskazywać na przedwczesne starzenie się komórek grzybów pozostających w kontakcie z DNOC.

W wielu przypadkach po dłuższej hodowli grzybów z dwunitro-orto-krezolem widoczna była plazmoliza komórek. Efekt ten szczególnie wyraźnie zaznaczył się w strzępkach *Rhizopus nigricans*, *Mucor mucedo* i *Mucor* sp. W obecności subletalnych dawek DNOC (ryc. 5e) po 3-5 dniach hodowli następowało całkowite odrywanie kurczącego się protoplastu od ściany komórkowej. Pod wpływem DNOC – zwłaszcza użytego w dawkach sporostatycznych – obserwowano niekiedy pękanie zgrubiałych komórek i wydobywanie się treści komórkowej na zewnątrz (ryc. 5f).

DYSKUSJA

Z przeprowadzonych badań wynika, że niskie dawki dwunitro-orto-krezolu (1-10 mcg/ml), zbliżone do ilości połowych tego pestycydu, na ogół nie hamowały, a niekiedy nawet stymulowały kiełkowanie zarodników grzybów. Obserwacje te częściowo potwierdzają dane A. B. S t r z e l c z y k (1968, 1975) zajmującej się wpływem na grzyby pestycydów z grupy chlorofenoli, tj. preparatów o zbliżonym mechanizmie działania do nitrofenoli. Zacytowana

autorka obserwowała stymulację kiełkowania zarodników przez minimalne dawki pięciochlorofenolu (PCP). Jako przyczynę tego zjawiska wymienia ona zmiany w przepuszczalności błony cytoplazmatycznej, a w konsekwencji szybsze kiełkowanie zarodników.

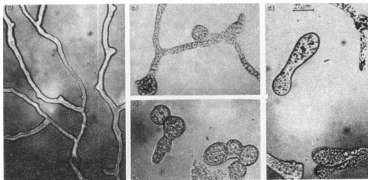
Sądzymy, że pobudzający wpływ niskich dawek DNOC na rozwój grzybów (K o r n i ł ł o w i c z 1982a) był spowodowany nie tylko jego bezpośrednim działaniem na struktury powierzchniowe komórek, lecz również przyspieszeniem syntezy składników komórkowych, co wywoływało szybsze kiełkowanie i przyrost biomasy grzybni.

Jak wynika z badań A. B. S t r z e l c z y k (1968, 1975), wysokie stężenia pestycydów fenolowych takich jak pięciochlorofenol wywołują hamowanie kiełkowania zarodników. Również z badań własnych wynika, że efekt sporostaticznego działania nitropochodnej fenolu (DNOC) ujawnił się na ogół dopiero przy zastosowaniu dawek preparatu rzędu 25-200 mcg/ml, tj. wielokrotnie większych od polowych. Przeciwnie do kiełkowania zarodników, przyrost biomasy wielu grzybów był hamowany już w obecności niskich dawek DNOC (5-10 mcg/ml) – co opisano wcześniej (K o r n i ł ł o w i c z 1982c).

Z przedstawionych obserwacji wynika, że stężenia DNOC hamujące kiełkowanie zarodników grzybów były wielokrotnie wyższe niż dawki hamujące przyrost biomasy. Powyższe spostrzeżenia potwierdzają również obserwacje Y a n a g i t a i Y a m a g i s h i z 1958 r. oraz B o m a r 1966, którzy zwracają uwagę na to, że sporostaticzne działanie chloropochodnych fenolu zaznacza się słabiej, niż mikostaticzne działanie tych związków.

Należy sądzić, że w warunkach naturalnych, w których stężenie nitrofenoli rzadko osiąga tak wysoki poziom jak ww. (25-200 mcg/ml), zachowanie zdolności kiełkowania zarodników umożliwiłoby szybką regenerację populacji grzybów, pod warunkiem jednak, że stężenia glebowe tego biocydu nie hamowałyby wzrostu i reprodukcji grzybni.

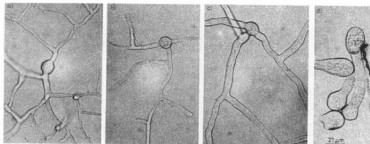
Jakkolwiek niektórzy autorzy (V e r d c o u r t 1952) donoszą o braku wpływu preparatów nitrofenolowych (nitrofenol i dwunitrofenol) na morfologię kiełkujących zarodników, w prezentowanej pracy zauważono deformację zarodników i strzępek rostkowych rosnących z dwunitro-metylo-fenolem (DNOC). Zanotowano przy tym korelację pomiędzy hamowaniem kiełkowania zarodników a indukcją zmian morfologicznych komórek wegetatywnych (rostki) i zarodników. Z przeprowadzonych na obszernym materiale szczepowym (19 izolatów) obserwacji wynika, że efekt ten występował często już w obecności niewielkich, ale sporostaticznych, koncentracji DNOC, (5 i 10 mcg/ml). Zmiany morfologiczne najczęściej objawiały się skróceniem oraz rozgałęzieniem strzępek rostkowych. Poza wymienionymi zmianami w morfologii grzybów, u niektórych z nich (zwłaszcza *Rhizopus* i *Mucor*) już niskie ww. stężenia DNOC wywoływały silne nabrzmienie komórek wegetatywnych i zarodników (ryc. 1-3). Wskazywałoby to na zakłócenie gospodarki wodnej w komórkach



Ryc. 3. Wpływ DNOC na morfologię zarodników i strzępek rostkowych *Rhizopus nigricans* nr 1

The effect of DNOC on morphology of spores and germ tubes of *Rhizopus nigricans* No. 1

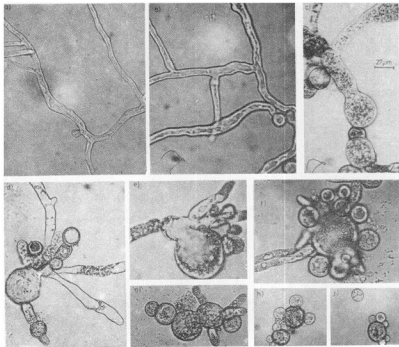
a – kontrola, hodowla 24 h (control, 24-hours old culture); b – 5 mcg DNOC/ml, hodowla 24 h (5 mcg of DNOC/ml, 24-hours old culture); c – 10 mcg DNOC/ml, hodowla 48 h (10 mcg of DNOC/ml, 48-hours old culture); d – 50 mcg DNOC/ml, hodowla 72 h; (50 mcg of DNOC/ml, 72-hours old culture)



Ryc. 4. Wpływ DNOC na morfologię zarodników i strzępek rostkowych *Rhizopus nigricans* nr 4

The effect of DNOC on morphology of spores and germ tubes of *Rhizopus nigricans* No. 4

a – kontrola, hodowla 24 h (control, 24-hours old culture); b – 10 mcg DNOC/ml, hodowla 24 h (10 mcg of DNOC/ml, 24-hours old culture); c – 50 mcg DNOC/ml, hodowla 24 h (50 mcg of DNOC/ml, 24-hours old culture); d – 75 mcg DNOC/ml, hodowla 48 h (75 mcg of DNOC/ml, 48-hours old culture)

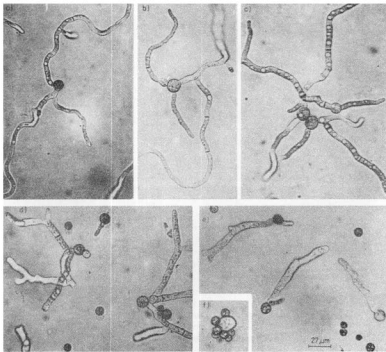


Ryc. 5. Wpływ DNOC na morfologię zarodników i strzępek rostkowych *Mucor mucedo* (szcz. nr 1)

The effect of DNOC on morphology of spores and germ tubes of *Mucor mucedo* (strain No. 1)

a – kontrola, hodowla 24 h (control, 24-hours old culture); b – 5 mcg DNOC/ml, hodowla 24 h (5 mcg of DNOC/ml, 24-hours old culture); c – 10 mcg DNOC/ml, hodowla 48 h (10 mcg of DNOC/ml, 48-hours old culture); d, e, f – 50 mcg DNOC/ml, hodowla 72 h (50 mcg of DNOC/ml, 72-hours old culture); g – 100 mcg DNOC/ml, hodowla 72 h (100 mcg of DNOC/ml, 72-hours old culture)

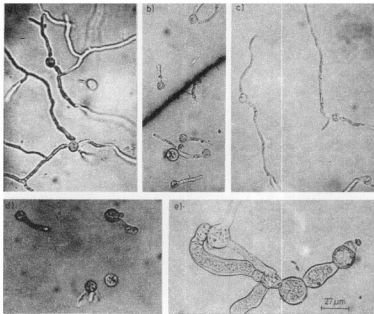
A, j – 150 mcg DNOC/ml, hodowla 72 h (150 mcg of DNOC/ml, 72-hours old culture)



Ryc. 6. Wpływ DNOC na morfologię zarodników i strzępek rostkowych *Aspergillus niger* (szcz. nr 1)

The effect of DNOC on morphology of spores and germ tubes of *Aspergillus niger* (strain No. 1)

a - kontrola, hodowla 24 h (control, 24-hours old culture); b - 10 mcg DNOC/ml, hodowla 24 h (10 mcg of DNOC/ml, 24-hours old culture); c - 25 mcg DNOC/ml, hodowla 48 h (25 mcg of DNOC/ml, 48-hours old culture); d - 50 mcg DNOC/ml, hodowla 48 h (50 mcg of DNOC/ml, 48-hours old culture); e - 100 mcg DNOC/ml, hodowla 48 h (100 mcg of DNOC/ml, 48-hours old culture); f - 200 mcg DNOC/ml, hodowla 72 h (200 mcg of DNOC/ml, 72-hours old culture)



Ryc. 7. Wpływ DNOC na morfologię zarodników i strzępek rostkowych *Penicillium purpurogenum* (szcz. nr 6)

The effect of DNOC on morphology of spores and germ tubes of *Penicillium purpurogenum* (strain No. 6)

a – kontrola, hodowla 24 h (control, 24-hours old culture); b – 50 mcg DNOC/ml, hodowla 24 h (50 mcg of DNOC/ml, 24-hours old culture); c – 100 mcg DNOC/ml, hodowla 48 h (100 mcg of DNOC/ml, 48-hours old culture); d – 150 mcg DNOC/ml, hodowla 72 h (150 mcg of DNOC/ml, 72-hours old culture); e – plazmoliza strzępek *Mucor mucedo* (nr 1) pod wpływem 100 mcg DNOC/ml pożywki, hodowla 5-dniowa (plasmolysis of *Mucor mucedo* (No. 1) hyphas under influence of 100 mcg/ml, 5-day old culture)

grzybów. Zbliżone zaburzenia w morfologii kielkujących zarodników obserwowali Verdcourt (1952) i A. B. Strzelczyk (1968, 1975) w hodowlach grzybów z chloropochodnymi fenolu.

Jakkolwiek dwunitro-orto-krezol oddziaływa głównie na przemiany energetyczne (Simon 1953, Kornilłowicz 1982a), preparat ten, tak jak i inne biocydy z grupy podstawionych fenoli (Rich 1960; Corden 1969), może wpływać na przepuszczalność błony cytoplazmatycznej oraz wywoływać rozluźnienie struktury ściany komórkowej grzybów (Corden 1969). To ostatnie przypuszczenie potwierdzałyby obserwowana w badaniach własnych stymulacja wzrostu w formie drożdżopodobnej *Mucor mucedo* w obecności DNOC. Bartnicki-Garcia i Nickerson (1962a) podają, że zmiana formy wzrostu dimorficznych przedstawicieli *Mucorales* z grzybniowej na drożdżopodobną świadczy o zmianach w strukturze ściany komórkowej.

Ze względu na szereg zmian morfologicznych zaobserwowanych u przedstawicieli *Mucorales* w hodowlach z DNOC, dużo uwagi poświęcono morfogenezie tych grzybów w obecności wymienionego pestycydu. Wydawało się to szczególnie interesujące w świetle innych badań (Schulz i in. 1974) wskazujących na brak aktywności morfogenetycznej związków nitrofenolowych (DNP). Obserwacje własne wykazały wyraźnie, że w obecności DNOC zmniejszała się ilość strzępek *Mucor mucedo* na korzyść komórek pączkujących. Wynikałoby stąd, że DNOC podobnie jak inne związki rozprzegające fosforylację oksydacyjną (Barathova i in. 1969, Terenzi, Stork 1969; Friedenthal i in. 1974; Hall i Kolankaya 1974; Schulz i in. 1974) jest preparatem indukującym wzrost *Mucorales* w formie drożdżopodobnej.

W licznych pracach, m.in. u Bartnickiego-Garcia i Nickersona 1962a,b,c, oraz cyt. za Romano 1966 stwierdzono, że istotnym czynnikiem powodującym wzrost grzybów nitkowatych w formie drożdżopodobnej jest wysoki poziom CO₂ lub glukozy – substratu ulegającego szybkiemu utlenieniu komórkowemu. Według Inderlied i Sypherd (1976) zmiany katabolicznego szlaku glukozy mogą powodować zakłócenia w tworzeniu produktów ważnych w regulacji morfogenezy grzybów. Wśród nich właśnie dwutlenek węgla jest uważany przez wielu autorów (Bartnicki-Garcia, Nickerson 1962b, Romano 1969; Schulz i in. 1974; Inderlied, Sypherd 1976) za sygnał morfogenetyczny do rozwoju dimorficznych grzybów nitkowatych w formie drożdżopodobnej. Jak wiadomo dwunitrofenole pobudzając katabolizm glukozy w komórkach mikroorganizmów stymulują wydzielanie CO₂ (Simon 1953; Stoppani i in. 1960). Tłumaczyłoby to indukcję przez dwunitro-orto-krezol pączkowania grzybów uzdolnionych do wzrostu w dwojakiej formie morfologicznej.

W pracy zaobserwowano, że zmianom morfologicznym komórek grzybów pod wpływem DNOC towarzyszyły zmiany w ich anatomii. Przeprowadzone

obserwacje cytologiczne wykazały, że komórki grzybów rosnące z DNOC wytwarzają grubszą ścianę komórkową niż komórki grzybów w hodowlach kontrolnych (ryc. 5).

Według B e n t i M o o r (1966) zgrubienie ściany komórkowej u grzybów hodowanych z dwunitrofenolem (DNP) było związane ze wzrostem zawartości heksozaminy w ścianach komórkowych. Oznaczając zawartość heksozaminy w dodatkowych badaniach własnych (wyniki nie prezentowane) korelacji takiej nie stwierdzono; być może z tego względu, że związki te analizowano w przemytej biomacie grzybni a nie w ścianach komórkowych. Wydaje się, że w przypadku badanych grzybów, pogrubienie ścian nie zabezpieczało komórek przed przenikaniem DNOC – aczkolwiek możliwe jest, że zmiana ta była próbą biernej obrony grzybów w środowisku zawierającym nitrofenol.

Liczni autorzy (G r u e n h a g e n 1951; V e r d c o u r t 1952; S i m o n 1953; Y a n a g i t a i Y a m a g i s h i 1958; A. B. S t r z e l c z y k 1968, 1975) donoszą, że subletalne stężenia różnych pochodnych fenolu wywołują drastyczne zaburzenia w fizjologii i morfologii grzybów. Wskazują na to również obserwacje własne, z których wynika, że subletalne dawki dwunitro-orto-krezolu wywołują hamowanie procesów syntezy i oddychania grzybów (K o r n i ł ł o w i c z 1982a), jak również zahamowanie kiełkowania zarodników z równoczesnym powstawaniem szeregu wynaturzeń morfologicznych spor i strzępek rostkowych (ryc. 1 - 7).

Jak sądzi A. B. S t r z e l c z y k (1975), formy kiełkujące grzybów zdegenerowane pod wpływem wysokich dawek chloropochodnych fenolu mają cechy podobne do cech protoplastów grzybów. Również dwunitro-orto-krezol (w koncentracjach sporostatycznych rzędu ED_{50} - ED_{95}) wywoływał zbliżone deformacje, zwłaszcza u przedstawicieli *Mucor* i *Rhizopus* (ryc. 1 - 5). Pojawiające się u tych grzybów „formy olbrzymie” kiełkujących zarodników przypominały „giant cells” *Aspergillus niger* i *Penicillium chrysogenum* opisane przez V e r d c o u r t (1952).

Przedstawione obserwacje wskazują na daleko posunięte zaburzenia w komórkach grzybów pod wpływem wysokich dawek DNOC. Wskutek zakłóceń w gospodarce wodnej kiełkujących zarodników dała się zauważyć widoczna ich plazmoliza, a w konsekwencji tego obumieranie komórek. Testy przeżywalności zarodników potwierdziły sporobójcze działanie DNOC, co wykazał również B o m a r (1966). Ponadto wykonane doświadczenia wykazały, że DNOC miał niższą aktywność sporobójczą niż inne pochodne fenolu np. PCP, na co wskazują badania Y a n a g i t a i Y a m a g i s h i (1958) oraz A. B. S t r z e l c z y k (1968, 1975).

W niniejszej pracy potwierdzono obserwowane już wcześniej (K o r n i ł ł o w i c z 1982a) zróżnicowanie w reakcji grzybów na DNOC zależnie od gatunku, a nawet szczepu grzyba. Wykorzystując zmiany w aktywności kiełkowania zarodników oraz w cechach morfologicznych komórek, jako kryterium

reakcji grzybów na DNOC, stwierdzono, że podatność badanych szczepów na ten preparat była różna. Podobne spostrzeżenia poczyniono na podstawie zmian w aktywności metabolicznej grzybów hodowanych z DNOC (K o r n i ł ł o w i c z 1982a). Obserwowane zmiany w morfologii kielkujących zarodników najsilniej zaznaczyły się u przedstawicieli *Rhizopus nigricans*, *Mucor mucedo* i *Mucor* sp., słabiej u izolatów *Aspergillus niger* i *Penicillium purpurogenum*, *Mucor grisea-cyanus* i *Penicillium* sp.

Wyniki badań wielu autorów (B r i a n 1960; A q u i r r e, V i l l a n u e v a 1962; C h u, A l e x a n d e r 1972; R a m i r e z - L e o n, R u i z - H e r r e a 1972; P ę d z i w i ł k 1974) wskazują na różną, zależną od przynależności gatunkowej podatność grzybów na działanie czynników litycznych i antybiotyków. Odmienna wrażliwość grzybów na czynniki naruszające struktury powierzchniowe komórek związana jest z różną budową ścian komórkowych tych drobnoustrojów (V i l l a n u e v a 1966; C h u i A l e x a n d e r 1972; R a m i r e z - L e o n i R u i z - H e r r e a 1972; P ę d z i w i ł k 1974). Na podstawie otrzymanych wyników można przypuszczać, że odmiennie zachowanie się w obecności DNOC szczepów reprezentujących różne rodzaje i gatunki mogło być, obok różnic fizjologicznych grzybów (K o r n i ł ł o w i c z 1982a), częściowo uwarunkowane również niejednakową budową ich ścian komórkowych. Wiadomo jest bowiem, że grzyby należące do odległych jednostek systematycznych wykazują znaczne zróżnicowanie jakościowe tych struktur komórkowych, podczas gdy grzyby bliżej spokrewnione różnią się na ogół tylko ilościowym składem ściany komórkowej (B a r t n i c k i - G a r c i a 1968). Stąd też zbliżoną reakcję szczepów tego samego gatunku (jak to zauważono np. w przypadku izolatów *Penicillium purpurogenum*) można by częściowo tłumaczyć podobną budową struktur powierzchniowych ich komórek.

Wydaje się, że badany pestycyd można by więc wykorzystać, tak jak niektóre antybiotyki i enzymy lityczne, w badaniach nad strukturą ściany komórkowej grzybów.

LITERATURA

- A q u i r r e M. J. R., V i l l a n u e v a I. R., 1962, Production of protoplastlike structures from various species of fungi. *Nature* 196:693.
- B a r a t h o v a H., B e t i n a V., N e m e c P., 1969, Morphological changes induced in fungi by antibiotics. *Folia Microbiol.* 14:478.
- B a r t n i c k i - G a r c i a S., N i c k e r s o n W. J., 1962a, Isolation, composition and structure of cells walls of filamentous and yeast - like forms of *Mucor rouxii*. *Biochim. et Biophys. Acta* 58:102.
- B a r t n i c k i - G a r c i a S., N i c k e r s o n W. J., 1962b, Introduction of yeast - like development in *Mucor* by carbon dioxide. *J. Bacteriol.* 84:829.
- B a r t n i c k i - G a r c i a S., N i c k e r s o n W. J., 1962c; Nutrition, growth and morphogenesis of *Mucor rouxii*. *J. Bacteriol.* 84:841.

- Bartnicki - Garcia S., 1968, Cell wall chemistry, morphogenesis and taxonomy of fungi. *Ann. Rev. Microbiol.* 22:1504.
- Bates A. N., Spencer B. M., Wain R. L., 1962, Investigations on fungicides. V. The fungicidal properties of 2-methyl-4,6-dinitrophenol (DNC) and some its esters. *Ann. Appl. Biol.* 50:21.
- Bent K. J., Moor R. H., 1966, The mode action of griseofulvin. Symposium of Soc. Gen. Microbiol., University Press, London, Cambridge 16:82.
- Bomar M., 1966, Inhibitory effect of the vapours antifungal compounds on *Aspergillus niger*. *Folia Microbiol.* 11:51.
- Borecki Z., Burkowicz A., 1962, Badania biologiczne nad fungicydem Rodatox i jego zastosowaniem w ochronie sadów. *Acta Agrobot.* 12:149.
- Brian P. W., 1960, Griseofulvin. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 43:1.
- Chu S. B., Alexander M., 1972, Resistance and susceptibility of fungal spores to lysis. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 58:489.
- Corden M. E., 1969, Aromatic compounds. W: *Fungicides – an Advanced Treatise*. vol. II:477. Chemistry and Physiology, Torgerson D. G., Academic Press. New York, London.
- Duda J., Pędziwilk F., 1952, Wpływ preparatu 2,4-D i dwunitroortokrezolu na mikroflorę gleb. *Acta Microbiol. Polon.* 1:193.
- Friedenthal M., Epstein A., Passeron S., 1974, Effect of potassium cyanide, glucose and anaerobiosis on morphogenesis of *Mucor rouxii*. *J. Gen. Microbiol.* 82:15.
- Gruenhagen R. H., Wolf P. A., Dunn E. E., 1951, Phenolic fungicides in agriculture and industry. *Contrib. Boyce Thompson Inst.* 16:349.
- Hall M. L., Kolankaya N., 1974, The physiology of mould-yeast dimorphism in the genus *Mycotypha (Mucorales)*. *J. Gen. Microbiol.* 83:25.
- Inderlied C. B., Sypherd P. S., 1978, Glucose metabolism and dimorphism in *Mucor*. *J. Bacteriol.* 133:1282.
- Koopmans M. I., 1956, Fungicide research. *Philips Technical Rev.* 17:222.
- Kornilłowicz T., Gostkowska K., Szember A., 1979, Obserwacje nad wpływem DNOC na wzrost i morfologię kolonii mikrogrzybów. *Ann. UMCS. sec. E.* 34:233.
- Kornilłowicz T., 1982a, Wpływ dwunitro-orto-krezolu (DNOC) na fizjologię i morfologię grzybów glebowych. I. Oddziaływanie różnych stężeń DNOC na zużycie glukozy, biomasę grzybnii i zawartość w niej N-organicznego. *Ann. UMCS. sec. E.* 37 (w druku).
- Kornilłowicz T., 1982b, Wpływ dwunitro-orto-krezolu (DNOC) na fizjologię i morfologię grzybów glebowych. II. Oddziaływanie DNOC na pobieranie substratu azotowego (N-NO₃) i zawartość niektórych frakcji N-organicznego w grzybni wybranych szczepów grzybów. *Acta Mycol.* (praca złożona do druku).
- Litwinow M. A., 1969, *Metody Izuczenija Poczwiennych Mikroskopических Gribow.* Akademia Nauk SSSR. Leningrad.
- Lukens R. J., 1971, *Chemistry of Fungicidal Action.* Springer Verlag. Berlin-Heidelberg-New York.
- Pandey K. K., Rai O. P., 1975, Effect of 2,4-dinitrophenol on growth performance of some *Penicillia*. *Sci. and Cult.* 41:180.
- Pędziwilk Z., 1974, Wytwarzanie substancji mikolitycznych przez promieniowce wyodrębnione z gleby. *Roczniki AR w Poznaniu (prace habilitacyjne)*, z. 47.
- Ramirez - León I. F., Ruiz - Herrera I., 1972, Hydrolysis of walls and formation of sphaeroplasts in *Mucor rouxii*. *J. Gen. Microbiol.* 72:281.
- Rich S., 1960, Fungicidal chemistry. W: *Plant Pathology*, vol. 2:553 Horsfall I. G., Dimond A. E., Academic Press. New York, London.
- Romano A. H., 1966, Dimorphism. W: *The Fungi – an Advanced Treatise* vol. 11:181, Ainsworth G. C., Sussman A. S., Academic Press. New York, London.

- Schulz B. E., Kraepelin G., Hinkelman W., 1974, Factors affecting dimorphism in *Mycotrypha* (*Mucorales*) a correlation with the fermentation (respiration equilibrium). *J. Gen. Microbiol.* 82:1.
- Simon E. W., 1953, Mechanism of dinitrophenol toxicity. *Biol. Rev. Cambridge Phil. Soc.* 28:453.
- Stoppani A. O., Ramos E. H., Widuczyński J.; 1960, Different action of 2,4-dinitrophenol on the oxidation of exogenous and endogenous substrates by baker's yeast. *Nature* 188:1188.
- Strzelczyk A. B., 1968, Metody badania grzybów glebowych. *Rocz. Glebozn.* 19:404.
- Strzelczyk A. B., 1968, Influence of an antifungal vapours on spore germination of fungi isolated from deteriorated old books. *Can. J. Microbiol.* 14:981.
- Strzelczyk A. B., 1975, Wpływ fungicydów dodanych do podłoża na grzyby niszczące zabytkowy papier. *Acta Mycol.* 11:3-16.
- Szajer Cz., Strzelczyk A., Strzelczyk E., 1969, Metody badania aktywności celulozytycznej grzybów. *Wyd. PTG.*
- Terenzi H. F., Storck R., 1969, The effect of phenethyl alcohol on the morphology and metabolism of some *Mucorales*. *Mycologia* 61:894.
- Verdcourt B., 1952, The effect of certain phenolic compounds on the germination and growth of microfungi. *Mycologia* 44:377.
- Villanueva J. R., 1966, Protoplasts of fungi. *W: The Fungi - an Advanced Treatise.* vol. II:3 Ainsworth G. C., Sussman A. S., Academic Press, New York, London.
- Yanagita T., Yamagishi S., 1958, Comparative and quantitative studies of fungitoxicity against fungal spores and mycelia. *Appl. Microbiol.* 6:375.

SUMMARY

The present paper concerns the influence of nitrophenol pesticide (DNOC) on spore germination. In the experiments the influence of various concentrations of DNOC on spore germination activity, spore morphology and germ tubes of fungi was determined.

The following fungi were used (19 strains): *Rhizopus nigricans*, *Penicillium purpurogenum*; *Aspergillus niger*, *Mucor mucedo* L. ex Fr., *Mucor griseo-cyanus*, *Mucor* sp. and *Penicillium* sp.

Modified media Czapek-Dox and Saunders were used in fungal cultures. The following doses of DNOC in mcg/ml were used: 1, 5, 10, 25, 50, 75, 100, 150, 200, 250. The microculture method on agar discs developed by Strzelczyk was used in the experiments.

It was shown that low concentrations of DNOC (1 - 10 mcg/ml) do not restrain, in general, and in some cases even stimulate, fungal spore germination. Sporostatic and sporocidal effects of the pesticide activity normally were observed at dosage of 25 - 200 mcg/ml.

Disturbances in spore germination of fungi in the presence of DNOC were often accompanied by morphological changes of spores and germ tubes. The noted morphological changes were most often swelling of spores and swelling and shortening of germ tubes. DNOC was also found to have morphogenetic activity causing development of a yeast-like form of dimorphic filamentous fungus *Mucor mucedo*.