

37. A. CARILLI e A. TONOLO — Osservazioni sulla morfologia del *Penicillium chrysogenum* Thom in coltura sommersa - V. (*)
a) b) c) d). Sul modo di formazione dei conidi di *Penicillium chrysogenum* Thom in coltura sommersa. (**)

Riassunto. — E' descritta la formazione di conidi di *Penicillium chrysogenum* THOM in coltura sommersa.

Diversi ceppi e diversi terreni sono stati saggiati.

Le osservazioni eseguite su questo materiale hanno messo in evidenza che non tutti i ceppi di *Penicillium* esaminati producono conidi in coltura sommersa. Oltre che dal ceppo, la produzione di conidi dipende anche dalla natura del terreno di coltura. Per alcuni ceppi, inoltre, la formazione di conidi avviene contemporaneamente in due modi ben distinti tra loro: a mezzo di ife differenziate in veri conidiofori, sia pure ridotti, e a mezzo di ife non differenziate.

In entrambi i casi il meccanismo di formazione dei conidi è riferibile a quanto si riscontra per la formazione di conidi da conidiofori in coltura superficiale.

Osservazioni citologiche hanno tuttavia rivelato che, mentre i conidi formati da conidiofori sono sempre uninucleati, quelli formati da ife indifferenziate sono binucleati e qualche volta plurinucleati. Anche il contenuto nucleare della cellula che produce questi conidi differisce da quello dello sterigma del conidioforo, per essere provvisto di un numero di nuclei variabile da 1 a 4.

Gli AA. fanno infine alcune considerazioni sul contenuto nucleare e sulla natura di tali formazioni, per le quali forse il termine di conidio è improprio.

Summary. — The formation of conidia in submerged culture by *Penicillium chrysogenum* Thom is described. Different strains and media were tested.

It was clear from the observations made with these cultures that

(*) a) Prima parte in questa serie: L. Camici, G. Sermonti e E. B. Chain, Mycelial Growth and Autolysis. « Bull. Org. Mond. Santé » 6: 263 (1952).

b) Seconda parte: A. Tonolo e E. Urbani, Citological and Cytochemical Investigations. « Bull. Org. Mond. Santé » 6: 277 (1952).

c) Terza parte: W. M. Dion, A. Carilli, G. Sermonti e E. B. Chain, The effect of Mechanical Agitation on the Morphology of *Penicillium chrysogenum* Thom in Stirred Fermenters. « Rend. Ist. Sup. Sanità » English Edition, 17: 187 (1953).

d) Quarta parte: M. J. Thirumalachar e K. S. Gopalkrishnan, Osservazioni sulla morfologia del *Penicillium chrysogenum* Thom in coltura sommersa. IV. Sviluppo di palette scleroziali in *P. chrysogenum* Thom in coltura sommersa. « Rend. Accad. Naz. Lincei » Cls. Sci. Fis. Nat., 16: 691 (1953).

(**) Questo lavoro è apparso nei Selected Scientific Papers from the Istituto Superiore di Sanità, 2: 370 (1959).

not all the *Penicillium* strains tested produce conidia in submerged culture. Conidium production was also affected by the nature of the culture medium. Furthermore, conidium formation in some strains occurred simultaneously in two quite distinct ways: through hyphae differentiated into true conidiophores though of stunted form, and through undifferentiated hyphae. In both cases the mechanism of conidium formation is comparable with that of surface culture conidiophores. Cytological observations showed, however, that whereas conidia from conidiophores were always uninucleate, those from undifferentiated hyphae were binucleate or in some cases multinucleate. The number of nuclei in the cells producing these conidia was different from that in the sterigmata of conidiophores, and varied between one and four nuclei.

Finally, the nuclear content and the nature of such formations (for which the term « conidia » may perhaps be improper) are briefly discussed.

PREMESSA

Le osservazioni che formano l'oggetto della presente nota rientrano nel quadro generale dello studio svolto in varie riprese in questo laboratorio sulla morfologia del *Penicillium chrysogenum* Thom in coltura sommersa.

In particolare, riguardano la formazione di conidi in coltura sommersa, argomento su cui la letteratura risulta particolarmente povera. Per questa ragione, e per il fatto che la coltura sommersa rappresenta un mezzo di sviluppo diverso da quello più generalmente usato nella micologia classica, è sembrato anche interessante studiare il meccanismo di formazione dei conidi in tali condizioni di coltura, riferendolo a quello della formazione in coltura superficiale, argomento di cui la letteratura, al contrario, risulta particolarmente ricca e controversa, soprattutto per il passato.

Qualche osservazione a carattere generale era già stata fatta al riguardo in questo laboratorio per colture in fermentatori con particolari condizioni di agitazione e aerazione, senza tuttavia approfondire l'argomento (DION et al., 1955).

MATERIALI E METODI

CEPPI, TECNICA DI CONSERVAZIONE ED INOCULO. — Sono stati usati i seguenti ceppi di *Penicillium chrysogenum* Thom: 49.133 Wis. e due suoi mutanti (49.133/1/2 a conidi verdi, 49.133/1/2/3 a conidi gialli) otte-

nuti in questo laboratorio per trattamento con raggi U.V.; il 51.20 Wis.; il PR8, un *Penicillium* sp. del quale è in corso la classificazione.

I ceppi sono mantenuti in terra e per ogni esperienza si trasferiscono i conidi dalla terra su terreno agarizzato di MOYER e COGHILL (1947) ⁽¹⁾; le colture vengono tenute in termostato a temperatura di 24-25°C per 10 giorni, cioè fino a completa conidificazione. Successivamente vengono trasferite in beute da 350 cm³ contenenti g 30 circa di orzo brillato umettato con 10 cm³ della seguente soluzione sporulante di WHIFFEN e SAVAGE (1947) ⁽²⁾: acqua distillata 100, glicerina 3%, asparagina 0,1%.

Le colture sono fatte sviluppare in termostato a 24°C; dopo 8 giorni, quando tutta la superficie dei grani di orzo è ricoperta di conidi, si pongono in frigorifero a 5°C, dal quale vengono prelevate quando occorra preparare la sospensione di conidi per l'inoculo. Le colture rimangono in frigorifero per un periodo che non supera mai 15 giorni, trascorsi i quali vengono scartate e rinnovate.

L'inoculo consiste di una sospensione di conidi ottenuta dalle beute di orzo; il suo volume è tale da dare nelle beute di sviluppo una concentrazione di circa 100.000 conidi per cm³.

TERRENI. — Per lo sviluppo in coltura sommersa sono adoperate beute in vetro Pyrex da 500 cm³ con tappo di cotone, contenenti 100 cm³ dei seguenti terreni di coltura:

Terreno A (FOSTER, 1945) ⁽³⁾:

Saccarosio	g	20
NaNO ₃	»	6
KH ₂ PO ₄	»	1,5
MgSO ₄ .7H ₂ O	»	0,5
CaCl ₂	»	25
H ₂ O distillata	cm ³	1000

Terreno B (Czapek-Dox modificato da CLUTTERBUCK, 1932) ⁽⁴⁾:

NaNO ₃	g	3
KCl	»	0,5
MgSO ₄ .7H ₂ O	»	0,01
KH ₂ PO ₄	»	1
glucosio	»	40
H ₂ O distillata	cm ³	1000



Fig. 1. - Ife di *Penicillium chrysogenum* Thom ceppo 49.133¹/₂ in coltura sommersa. ($\times 1400$).
Formazione di conidi da conidiofori e da ife indifferenziate.
E' visibile il doppio alone che circonda i conidi più vecchi.

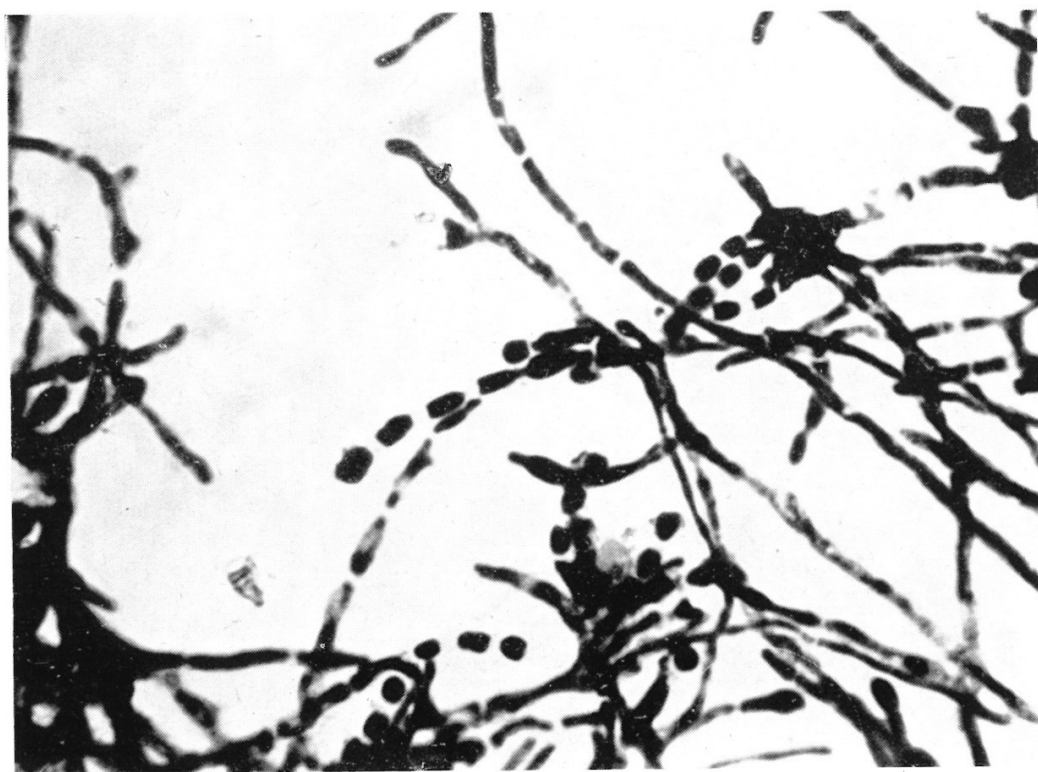


Fig. 2. - Ife di *Penicillium chrysogenum* Thom ceppo 49.133 Wis. in coltura sommersa ($\times 1400$).
Produzione di conidi da conidiofori e da ife non differenziate.
E' visibile chiaramente il connettivo tra conidio e conidio.

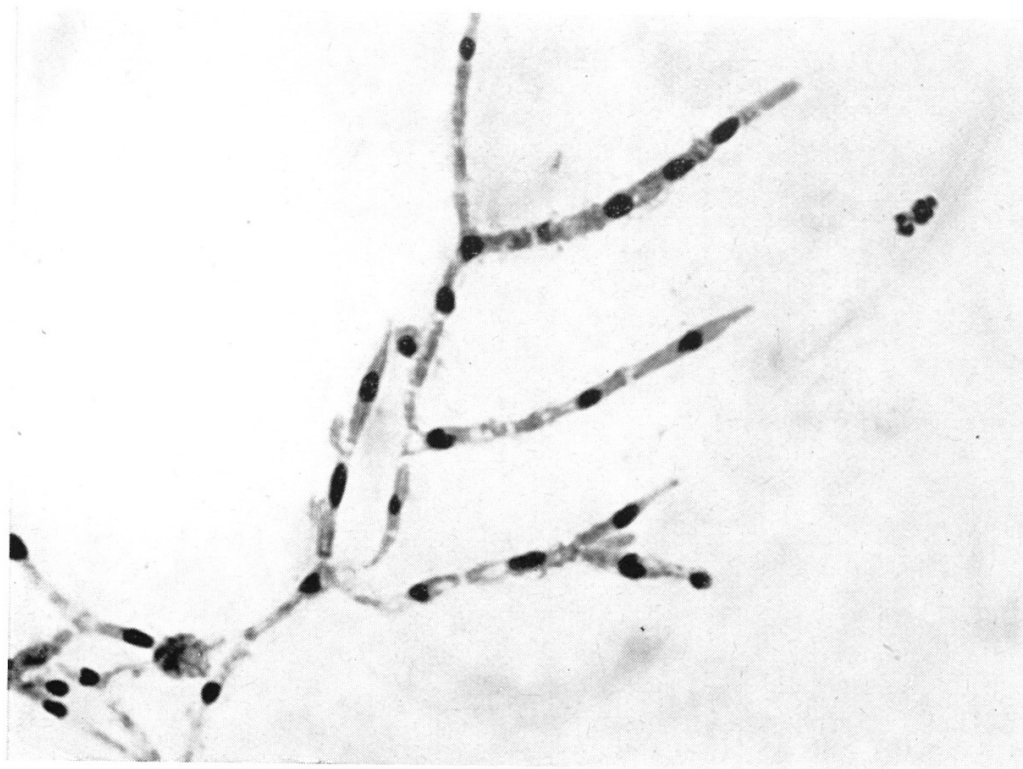


Fig. 3. - *Penicillium*, sp., ceppo PR8 in coltura sommersa.

La porzione distale dello sterigma si va allungando mentre il nucleo centrale inizia la divisione ($\times 1600$).



Fig. 4. - *Penicillium chrysogenum* Thom ceppo 49.133 Wis. in coltura sommersa ($\times 1400$).

Formazione di conidi da ife non differenziate; la cellula apicale di tali ife nelle figg. 4, 5 e 6 ha dimensioni notevolmente diverse.



Fig. 5. - *Penicillium chrysogenum* Thom ceppo 49.133 Wis. in coltura sommersa ($\times 1400$).
Formazione di conidi da ife non differenziate.

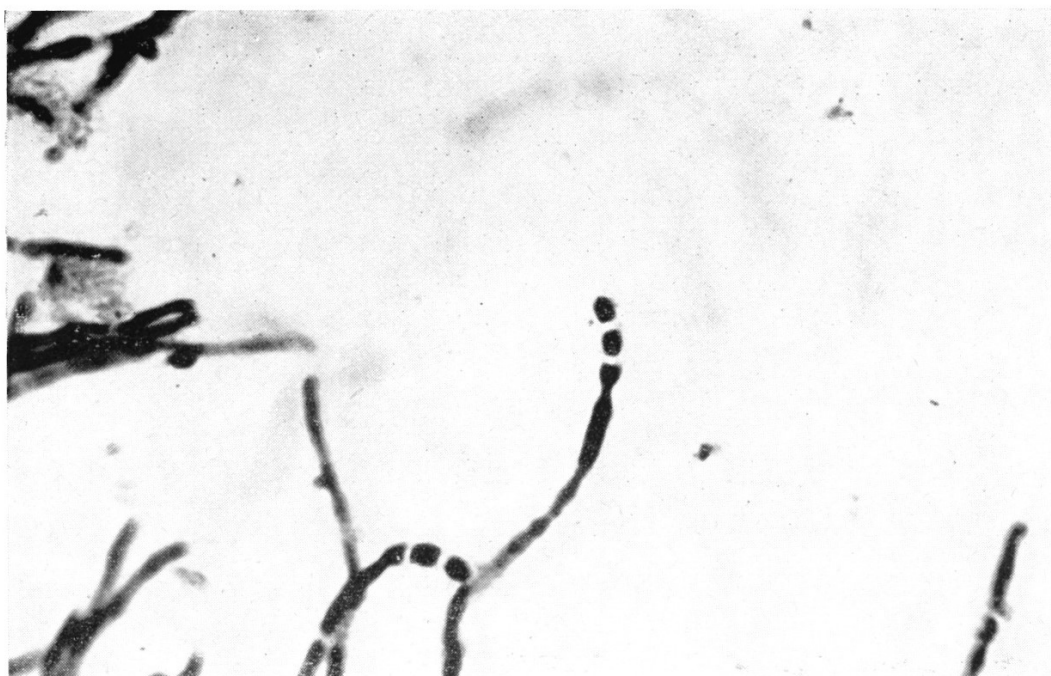


Fig. 6. - *Penicillium chrysogenum* Thom ceppo 49.133 Wis. in coltura sommersa ($\times 1400$).
Formazione di conidi da ife non differenziate.

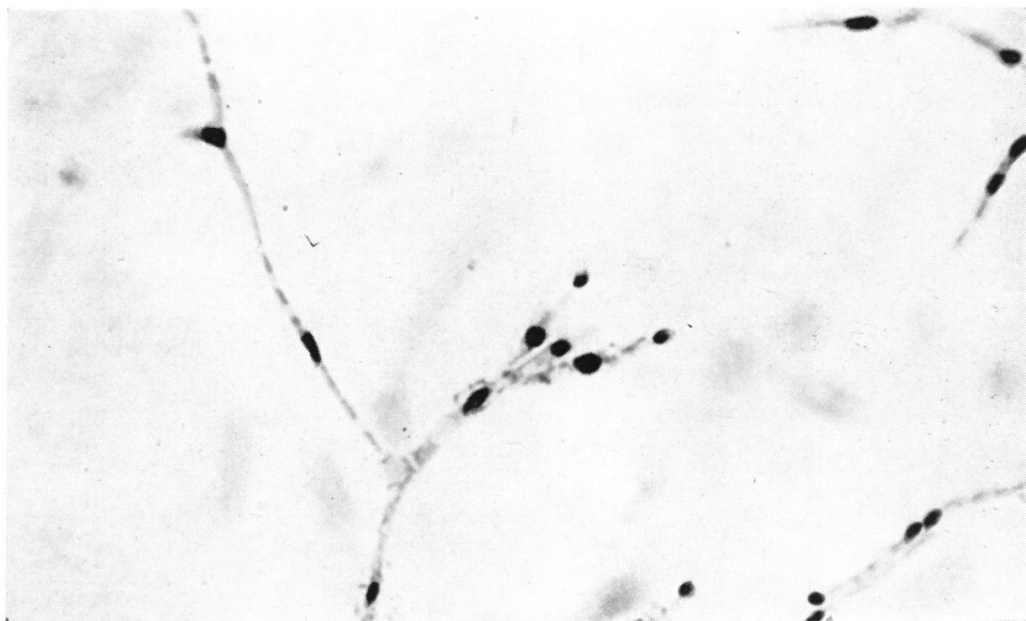


Fig. 7. - *Penicillium* sp., ceppo PR8 in coltura sommersa.
Formazione di conidi da conidiofori: ciascuno sterigma ha un solo grosso nucleo centrale ($\times 1400$).

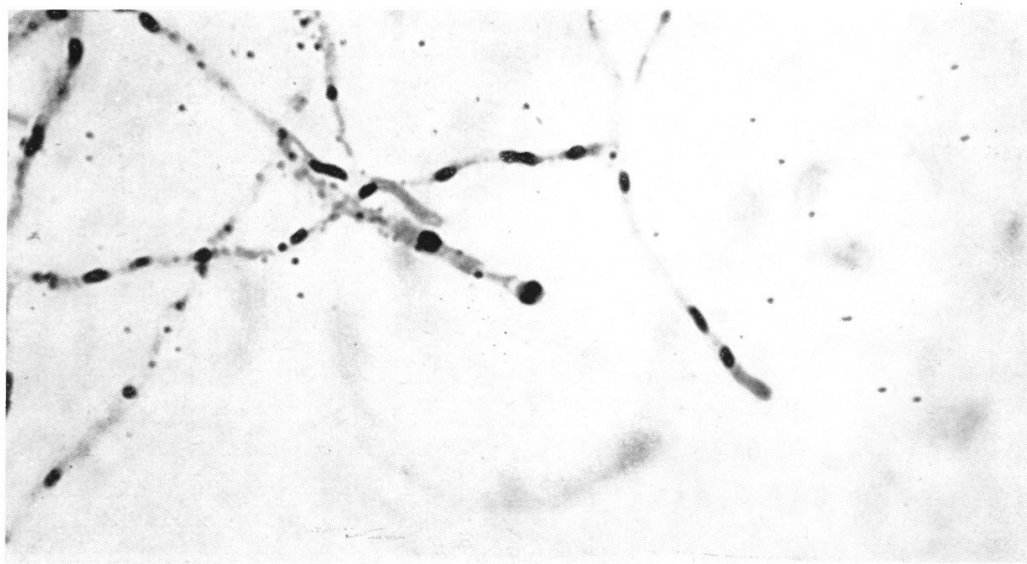


Fig. 8. - *Penicillium chrysogenum* Thom, ceppo 49.133 Wis. in coltura sommersa ($\times 1400$).
Conidio binucleato prodotto da ifa indifferenziata, la cui cellula apicale ha un solo grosso nucleo.

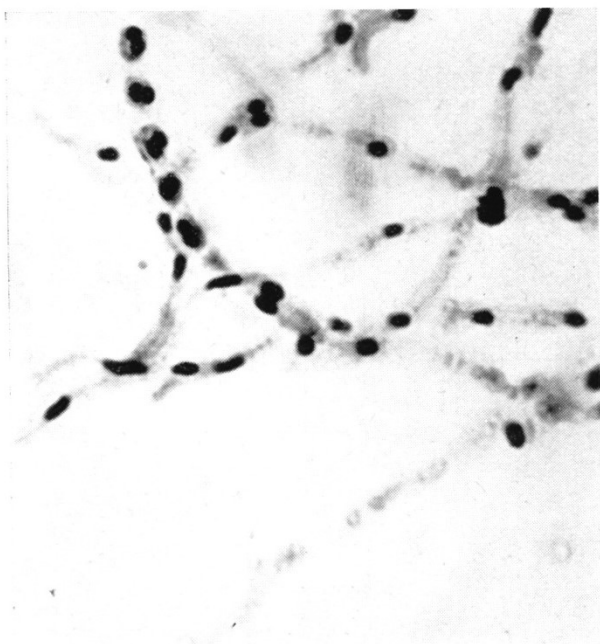


Fig. 9

Fig. 9. - *Penicillium chrysogenum* Thom, ceppo 49.133 Wis. in coltura sommersa ($\times 1400$).

Catena di conidi binucleati prodotta da ifa indifferenziata.

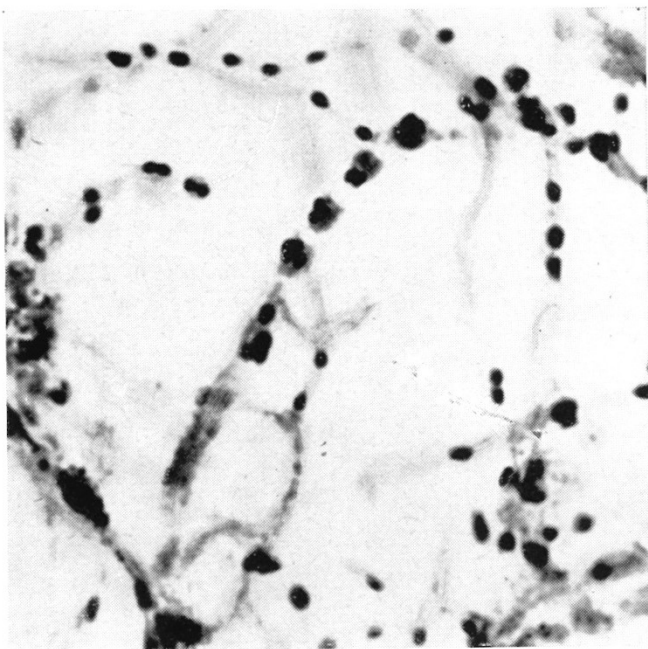


Fig. 10

Fig. 10. - *Penicillium chrysogenum* Thom, ceppo 49.133 Wis. in coltura sommersa ($\times 1400$).

Catene di conidi con due nuclei prodotti da ife indifferenziate.

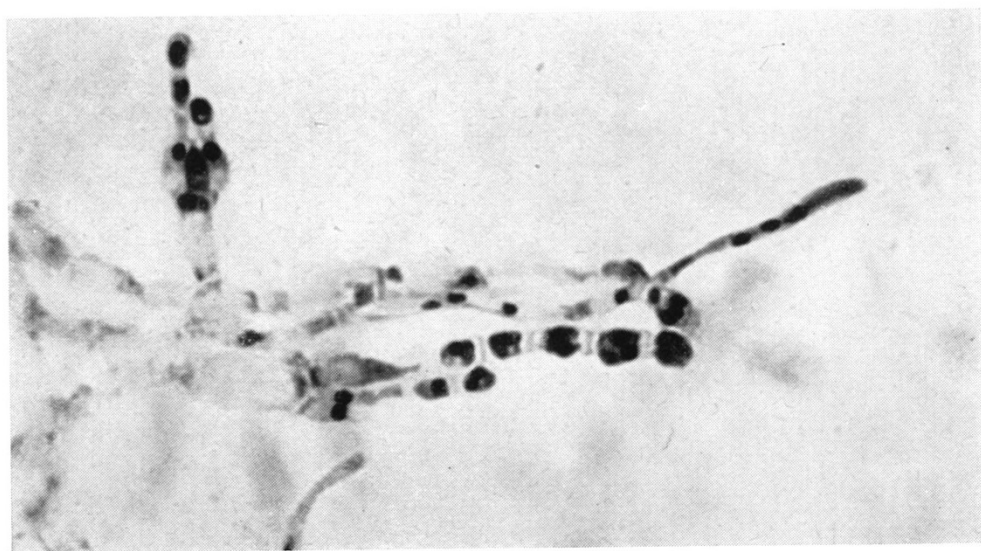


Fig. 11. - *Penicillium chrysogenum* Thom, ceppo 49.133 Wis. in coltura sommersa ($\times 1400$).

I conidi prodotti dal conidioforo sono provvisti di un solo nucleo; quelli prodotti da ife non differenziate presentano due nuclei.

Terreno C (JARVIS-JOHNSON, 1947) ⁽⁵⁾:

glucosio	g	40
ammonio solfato	»	13
CaCO ₃	»	13
KH ₂ PO ₄	»	3
MgSO ₄ .7H ₂ O	»	0,25
FeSO ₄ .7H ₂ O	»	0,10
CuSO ₄ .5H ₂ O	»	0,003
ZnSO ₄ .7H ₂ O	»	0,02
NaSO ₄	»	0,50
MnSO ₄ .H ₂ O	»	0,02
CaCl ₂ .7H ₂ O	»	0,03
H ₂ O distillata	cm ³	1000

Terreno D (MOYER-COGHILL, 1947):

K ₂ HPO ₄	g	1
MgSO ₄	»	0,5
KCl	»	0,5
FeSO ₄	»	0,01
saccarosio	»	30
corn steep liquor		1% del volume
H ₂ O distillata	cm ³	1000

La sterilizzazione di tutti i terreni adoperati è eseguita in autoclave per 20' a 100°C e 20' a 120°C.

Le beute di sviluppo sono poste su agitatore rotatorio (200 giri al minuto ed eccentrico di cm 10). L'agitatore è posto in cella termostatica a 25°C.

TECNICA DI COLORAZIONE. — Per l'osservazione microscopica i preparati sono colorati con bleu cotton, verde malachite e, previa fissazione per 5' in alcool a 95°, con fucsina fenicata di Ziehl a caldo per 1'.

Per la colorazione dei nuclei è seguito il metodo di ROBINOW (1942) ⁽⁶⁾ che consiste: 1) fissazione in goccia del preparato con vapori di acido osmico all'1% per 2'. 2) idrolisi in HCl normale a 60°C per un tempo variabile da 2 a 12'. 3) colorazione in una soluzione tampone M/15 secondo Sørensen a pH 7,2, contenente in rapporto 1 : 40 il colorante azzurro eosina bleu di metilene, soluzione sec. Giemsa, per 1 ora.

L'osservazione è eseguita al microscopio Galileo con obiettivo ad immersione 1''/18 semiapocromatico 130 x; oculari 4H 10 x, 2H 6 x e, in qualche caso, 12C 16,6 x.

RISULTATI

Culture di *Penicillium chrysogenum* Thom ceppo 49.133 Wis. in terreno A iniziano la produzione di conidi già a 48 ore dall'inoculo. Tale produzione va gradatamente aumentando e a 72-96 ore dalla semina il terreno di coltura assume la colorazione verde tipica dei conidi di *Penicillium*.

Lo studio di questo materiale è grandemente facilitato dalle condizioni di coltura sommersa, non presentando alcuna difficoltà per quanto riguarda il prelievo; inoltre, in genere, un solo preparato dà la possibilità di individuare tutte le fasi successive della formazione dei conidi.

L'osservazione microscopica di tali preparati mette in evidenza come, in coltura sommersa, la produzione di conidi avvenga in due modi distinti (fig. 1 e 2):

a) mediante conidiofori rudimentali, che differiscono da quelli prodotti in coltura superficiale per essere ridotti essenzialmente ad un corto ramulo conidioforo portante direttamente gli sterigmi, che non sono mai più di 3 o 4;

b) mediante ife che morfologicamente sono simili in tutto a quelle del micelio vegetativo, tranne che per il loro apice.

FORMAZIONE DI CONIDI DA CONIDIOFORI DIFFERENZIATI

STERIGMA. — Nel caso della produzione di conidi da conidiofori differenziati l'organo produttore dei conidi è un vero sterigma, simile nell'aspetto agli sterigmi dei conidiofori di colture superficiali: si presenta cioè come una cellula leggermente rigonfiata al centro ed assottigliata nella sua estremità distale ove il diametro è circa la metà di quello del tratto centrale.

La parte assottigliata è la porzione dello sterigma che si allunga continuamente dando origine alla catena di conidi.

L'allungamento dell'apice conidiogeno si produce prima che nel-

l'apice stesso migri uno dei due nuclei risultanti dalla divisione dell'unico nucleo centrale dello sterigma.

E' noto infatti che, per una data specie di *Penicillium*, coltivata su agar, la lunghezza degli sterigmi varia entro limiti abbastanza ristretti; tale variazione è dovuta, secondo THOM (1914) (⁷), all'affollamento degli sterigmi stessi sulle metule. Nelle condizioni di coltura sommersa invece, come si è detto in precedenza, gli sterigmi portati direttamente dal ramo conidioforo sono in genere soltanto 3, raramente 4. L'affollamento viene quindi a mancare e ne risulta una lunghezza più uniforme che, nel caso del ceppo in esame, è di circa μ 5-5,5. Ora, mentre le dimensioni medie dei conidi maturi si aggirano intorno a μ 3-4, lo sterigma raggiunge la misura di circa μ 7 di lunghezza, senza che la colorazione metta in evidenza la presenza del nucleo nella sua porzione distale assottigliata.

Nel ceppo PR8, a sterigmi sensibilmente più lunghi (μ 8-9), è particolarmente evidente che l'allungamento iniziale della porzione distale del conidiogeno si produce quando il suo nucleo centrale inizia a dividersi in due (fig. 3).

Una volta migrato uno dei due nuclei figli, ha inizio attorno ad esso l'ingrossamento di tale porzione che, continuando ad allungarsi, va acquistando le dimensioni e la forma definitive del conidio. Quando il conidio si è quasi completamente formato si produce un setto che lo separa dalla porzione apicale dello sterigma.

MEMBRANA. — Fino a questo stadio della sua formazione il conidio ha una sola membrana, che è la stessa parete dello sterigma con la quale essa si continua; in seguito, raggiunte la forma e la grandezza definitive, esso presenta anche una seconda membrana all'interno che, con la prima, si mette a volte in evidenza con i comuni mezzi di colorazione come un doppio alone intorno al conidio.

Dopo la formazione del primo conidio, la porzione dello sterigma sottostante al setto continua ad allungarsi spingendo avanti il conidio già formato: un nuovo nucleo — per una nuova divisione del nucleo centrale dello sterigma — vi si sposta, ed attorno ad esso si producono l'ingrossamento e l'ulteriore allungamento che sono l'abbozzo del secondo conidio.

CONNETTIVO. — Fra il primo ed il secondo conidio si osserva una specie di ponte o connettivo che, nelle condizioni di coltura sommersa, può presentarsi più o meno lungo ma è sempre molto ben evidente (figg. 1 e 2). Esso si origina dal fatto che la parete primaria del conidio si continua con quella dello sterigma e, di conseguenza, con quella del conidio che si va formando successivamente.

Continuando l'allungamento del tratto apicale dello sterigma e la divisione del nucleo, si produce tutta una catena di conidi — ciascuno separato dall'altro a mezzo del connettivo — catena che, per le condizioni della coltura sommersa, ovviamente non si presenta mai con più di 3 o 4 conidi.

FORMAZIONE DI CONIDI DA IFE NON DIFFERENZIALTE

CELLULA BASALE. — Si è detto più avanti che i conidi, nelle condizioni di coltura sommersa, possono essere prodotti anche da ife non differenziate, cioè simili morfologicamente a quelle vegetative tranne che per il loro apice, costituito da una cellula leggermente rigonfiata al centro e con la parte distale più sottile. Questo tratto assottigliato si allunga e si ingrossa alla stessa maniera già descritta per gli sterigmi dei conidiofori, producendo a sua volta i conidi separati dal connettivo (figg. 4, 5, 6).

Per la sua forma e per la sua funzione questa cellula potrebbe essere paragonata allo sterigma, tuttavia si differenzia da questo per avere dimensioni notevolmente variabili — da un minimo di μ 7 ad un massimo di μ 14 — e soprattutto per avere un diverso contenuto nucleare. Mentre infatti nello sterigma si rinviene sempre un grosso nucleo centrale (figg. 3, 7, 11), qui se ne possono contare da 1 a 4 (figg. 8, 9, 10) e cioè darebbe forse ragione della variabilità riscontrata nelle dimensioni di queste cellule particolari.

NUCLEI. — Il contenuto nucleare dei conidi prodotti in questo modo è diverso da quello che si riscontra nei conidi portati da conidiofori. Infatti, mentre in questi ultimi si mette in evidenza sempre un solo nucleo, in quelli portati da ife non differenziate se ne trovano sempre 2 (figg. 8, 9, 10). E frequentemente la catena di conidi con due nuclei è preceduta da formazioni cellulari che, pur avendo le stesse dimensioni e la stessa forma dei normali conidi, presentano tuttavia 3 o 4 nuclei (fig. 10). A loro volta i nuclei delle ife che portano i conidi binucleati sono più grossi e di forma arrotondata come quelli dei veri conidiofori, a differenza dei nuclei delle ife vegetative che sono quasi sempre allungati (figg. 8, 9).

INFLUENZA DEL CEPPPO. — Tali formazioni non sono prodotte da tutti i ceppi esaminati, ma solo da quelli del gruppo 49.133 Wis, ottenuti per trattamento con raggi U.V. (ceppo verde 49.133/1/2 e ceppo giallo 49.133/1/2/3). Il ceppo PR8 produce solo conidi del tipo mononucleato

(fig. 3), mentre il ceppo 51.20 Wis., nelle stesse condizioni di coltura, non produce conidi nè dell'uno nè dell'altro tipo.

INFLUENZA DEL TERRENO. — Probabili influenze su queste formazioni esercitano anche i costituenti del terreno di coltura: da conteggi effettuati complessivamente su circa 6.000 conidi, la percentuale di conidi con un nucleo risulta pressochè uguale (46%) a quella dei conidi con due nuclei, per i ceppi del gruppo 49.133 Wis. coltivati nel terreno A. Per gli stessi ceppi coltivati in terreno B la percentuale di conidi con 1 nucleo è sensibilmente maggiore (63%). Nei terreni C e D, infine, nessuno dei ceppi esaminati produce conidi.

Ricordiamo a questo proposito che conidi con 2 nuclei sono prodotti da normali colonie di *Penicillium* in superficie (BAKER, 1944) ⁽⁸⁾ ma la loro percentuale è molto bassa e, per i ceppi esaminati nei terreni B, C e D agarizzati (1) e A, B, C, D liquidi non agitati, è stata da noi confermata (circa il 2%).

DISCUSSIONE

E' noto che il *Penicillium* produce conidiofori e conidi in coltura sommersa: FOSTER e coll., 1945, hanno ottenuto produzione di conidi usando uno speciale terreno a base di calcio cloruro; GILBERT e HICHEY (1946) ⁽⁹⁾ hanno indotto la formazione di conidi in *P. notatum* in condizioni che favoriscono una crescita stentata o moderata, mantenendo il pH tra 5 e 6,5. Nessuno degli autori citati, tuttavia, dà la descrizione morfologica e citologica del fenomeno.

Il terreno usato da FOSTER e coll. è stato il terreno base per le nostre ricerche (terreno A); abbondante produzione di conidiofori e conidi, tuttavia, è stata ottenuta anche in un altro terreno (B), mentre in altri ancora (C e D) ciò non si è verificato. Inoltre nei primi due terreni non tutti i ceppi saggiati hanno prodotto conidi.

L'esame citologico del materiale ha mostrato che solo una parte dei conidi così ottenuti può riferirsi a quelli prodotti normalmente in colture superficiali: essi, infatti, sono mononucleati ed hanno origine da veri conidiofori, sia pure alquanto rudimentali. Anche il meccanismo di formazione di questi conidi è identico a quanto si riscontra nelle colture superficiali. A questo riguardo, ed in rapporto alla vecchia questione se i coni-

(1) Non è stato possibile ottenere il terreno A solido senza correggerne notevolmente il pH.

di di *Penicillium* e generi affini — e in generale i conidi prodotti in gran numero e successivamente da conidiofori ben differenziati — abbiano origine esogena o endogena, le osservazioni da noi eseguite su materiale ottenuto in coltura sommersa sono in accordo con quanto riferito per la coltura superficiale da BREFELD (1874)⁽¹⁰⁾, THOM (1914), BIURGE (1923)⁽¹¹⁾, BARTHELET e ARNAUD (1936)⁽¹²⁾, THOM e RAPER (1945)⁽¹³⁾, che escludono l'origine endogena di tali conidi, al contrario di DE SEYNES (1886), GUEGUEN (1905)⁽¹⁴⁾, SARTORY e SIDOW (citati da THOM e CHURCH, 1926)⁽¹⁵⁾, PEYRONEL (1919)^(16, 17), SCARAMELLA (1926)⁽¹⁸⁾.

Tale meccanismo di formazione, infatti, presuppone un organo ben differenziato e fisso, almeno nella sua parte apicale, dove inoltre dovrebbe essere possibile mettere in evidenza una qualsiasi apertura, con diametro non inferiore a quello del conidio, che ne permettesse l'uscita. I conidi formati nell'interno del conidiogeno potrebbero anche essere espulsi mediante rottura della sommità del tubo conidiogeno. Ma in questo caso, come osservano RAPER e THOM (1949)⁽¹⁹⁾, per mantenersi l'origine endogena si dovrebbe verificare che il conidio seguente fosse formato dopo il ristabilimento di una nuova membrana adiacente alla faccia interna della vecchia parete del tubo conidiogeno. E anche questa ipotesi sembra estremamente improbabile nel nostro caso.

Insieme alla formazione di conidi mononucleati prodotti da veri conidiofori, tuttavia, è stata messa in evidenza la produzione di conidi binucleati — e anche plurinucleati — da ife non differenziate. Tutti i ceppi saggiati producono conidi di entrambi i tipi — in proporzioni pressochè uguali nel terreno A, leggermente diverse nel terreno B, e in condizioni di perfetta riproducibilità — ad eccezione del ceppo PR8, che produce solo conidi mononucleati a mezzo di conidiofori.

Il meccanismo di formazione di questi conidi plurinucleati sembra essere identico a quello dei conidi prodotti da conidiofori differenziati, in quanto è possibile osservare gli stessi rapporti tra le pareti della cellula conidiogena e del conidio; tali rapporti, che anche in questo caso danno origine ad un ponte (connettivo o congiuntore) tra conidio e conidio, sono stati descritti per la coltura superficiale da vari autori [BREFELD (1874), DE SEYNES (1886), GUEGUEN (1905), THOM (1914), BIURGE (1923)], e nel caso della coltura sommersa sono particolarmente evidenti. Infatti, colorando il materiale con fucsina fenicata, il protoplasma delle cellule conidiogene e dei conidi si contrae, ed assume una intensa colorazione rossa, mentre le membrane appaiono come un doppio contorno ialino (figg. 4, 5, 6).

Sotto questo aspetto quindi, i conidi binucleati non differiscono da quelli prodotti in coltura superficiale, mentre se ne differenziano, come si

è visto, oltre che per il contenuto nucleare, per il fatto che il loro apparato conidiogeno consiste esclusivamente in una cellula apicale di una ife vegetativa o, più esattamente, di una ife che morfologicamente non differisce dalle altre vegetative, tranne che per il suo apice. La cellula conidiogena inoltre non può riferirsi allo sterigma del vero conidioforo, pur avendone la funzione e la forma, per essere di dimensioni molto variabili e per avere un contenuto nucleare anch'esso variabile (da un nucleo a quattro).

Queste differenze di carattere morfologico e citologico rispetto ai conidi prodotti da veri conidiofori, sia in coltura superficiale che in coltura sommersa, fanno ritenere incerta la natura di questi conidi plurinucleati, per i quali, forse, il termine stesso di conidio è improprio. Tuttavia, per il momento, non vediamo come possano essere considerati altrimenti, dato che, escludendo la mancata differenziazione dell'ifa che li produce, e tenendo presente che — come si è detto — conidi binucleati sono prodotti anche da normali conidiofori in coltura superficiale, sebbene in percentuale minima, per le dimensioni, l'aspetto e il modo di formazione essi non differiscono dai normali conidi.

Sotto questo aspetto, anzi, sembra di poter escludere che si tratti di clamidospore perchè, stando alla definizione di Villemin (in LANGERON, 1952) ⁽²⁰⁾ per esse viene a mancare il carattere biologico di formazione in seguito a condensazione citoplasmatica, proprio delle clamidospore.

La provenienza dei nuclei presenti in un singolo « conidio » è poi di difficile interpretazione attraverso le comuni osservazioni citologiche. I diversi nuclei potrebbero infatti avere origine: *a*) dalla divisione di un unico nucleo nel conidio stesso (1) o nella cellula basale da cui il conidio si forma; *b*) dalla confluenza in un singolo conidio di più nuclei di diversa origine, presenti nella cellula basale che, come si è detto, può essere plurinucleata.

Per distinguere tra le due possibilità prospettate è necessario studiare con mezzi genetici la formazione di questi conidi plurinucleati da un micelio che contenga nuclei eterogeni — cioè da un micelio eterocariotico — seguendo la tecnica messa a punto da SERMONTI in *Penicillium* (1955) ⁽²¹⁾.

Roma — Istituto Superiore di Sanità - Centro Internazionale di Chimica Microbiologica.

(1) Tuttavia, poichè nelle catenelle di conidi formati da ife indifferenziate anche quelli di più recente formazione sono plurinucleati — e solo molto raramente mononucleati — la provenienza dei diversi nuclei nei conidi da un singolo nucleo che si sia diviso nel conidio stesso sembra improbabile.

BIBLIOGRAFIA

- (¹) MOYER A. Y. e COGHILL R. D. - J. Bact., 53: 329 (1947).
 - (²) WHIFFEN A. J. e SAVAGE G. M. - J. Bact., 53: 234 (1947).
 - (³) FOSTER J. W., Mc DANIEL L. E., WOODRUFF H. B. e STOKES J. L. - J. Bact., L, 366 (1945).
 - (⁴) CLUTTERBUCK P. W. et al. - Biochem. J., 26: 4307 (1932).
 - (⁵) JARVIS F. G. e JOHNSON M. J. - J. am. chem. Soc., 69 (1947).
 - (⁶) ROBINOW C. F. - Proc. roy. Soc. London, B. 130 (1942).
 - (⁷) THOM C. - Mycologia, 6: 244 (1914).
 - (⁸) BAKER G. E. - Science, 99: 436 (1944).
 - (⁹) GILBERT W. J. e HICHEY R. J. - J. Bact., 51: 731 (1946).
 - (¹⁰) BREFELD O. - Botanische Untersuchungen über Schimmelpilze; II, Die Entwicklungsgeschichte von Penicillium, 98 pp. Leipzig (1874).
 - (¹¹) BIURGE Ph. - La Cellule, XXXIII, 7-331 (1923).
 - (¹²) BARTHELET G. e ARNAUD J. - Bull. Soc. Mycol. France, LII, 69 (1936).
 - (¹³) THOM C. and RAPER K. B. - A Manual of the Aspergilli, Williams and Wilkins Baltimore (1945).
 - (¹⁴) GUÉGUEN M. F. - Bull. Soc. Mycol. France, XXI, 230 (1905).
 - (¹⁵) THOM C. e CHURCH M. B. - The Aspergilli, Williams and Wilkins, Baltimora (1926).
 - (¹⁶) PEYRONEL B. - Staz. sper. agr. ital., LII, 24 (1919).
 - (¹⁷) PEYRONEL B. - Rend. Accad. Naz. Lincei, Cls. Sc. Fis. Nat., XXX, Serie V, 29 (1924).
 - (¹⁸) SCARAMELLA P. - Nuovo Giorn. Bot. Ital., N. S. 34: 1078 (1928).
 - (¹⁹) RAPER K. B. e THOM C. - Manual of the Penicillia; Williams and Wilkins, Baltimore.
 - (²⁰) LANGERON M. e VOUBRENSSEGHEM R. - Précis de Mycologie; Masson, Paris (1952).
 - (²¹) SERMONTI G. - Rend. Ist. sup. San., English Edition, XVII, 213 (1953).
-