

Il procès di formazion des sporis intai actinomicêts

I. Morfologjie e disvilup di speciis di *Streptovercillium* analizâts cun microscopie eletroniche a scansion*

ROMANO LOCCI E BRUNA PETROLINI BALDAN**

Ristret. A vegnin analizadis, travièrs di microscopie eletroniche a scansion, lis carateristichis di speciis che a apartegnin al gjenar *Streptovercillium*.

Il disvilup morfologjic al è stât osservât de gjerminazion des sporis fin ae sporulazion. In particolâr al ven documentât il procès di sporulazion, precedût di une torsion dai sporifars.

Par comparazion a son stadis consideradis ancje speciis di actinomicêts pseudoverticilâts.

Al è stât puartât insom che nol è tant (Locci et al. 1969) un studi tassonomic des speciis dal gjenar *Streptovercillium* dulà che e ven presentade ancje une documentazion complete, prodote cu la microscopie otiche e cun chêt a transmission eletroniche, des struturis morfologjichis carateristichis dal gjenar.

Vint sperimentât i vantaçs ufierts de microscopie eletroniche a scansion (MES) tal studi des carateristichis fongjinis (Locci 1969a, 1969b, 1969c), cheste tecniche e ven cumò aplicade al

studi des carateristichis morfologjichis dai actinomicêts verticilâts.

La MES e je za stade doprade te analisi dai actinomicêts (Williams e Davies 1967, Dietz e Matthews 1969) ma nol è stât pussibil cjatâ riferiments in leterture al ûs di cheste tecniche cun speciis dal gjenar *Streptovercillium*. Par vie des lôr struturis tridimensionâls, une ricercje che e dopri la microscopie eletroniche a scansion pe osservazion di chescj organisims nus è someade, duncje, di interès particolâr.

* L'articul, te sô version complete par inglès, al jere vignût fûr pe prime volte te *Rivista di Patologia Vegetale* (cumò *Journal of Plant Pathology*), suppl. vol. VII, serie IV (1971). O ringraziin il prof. Giovanni Martelli par vènus dât il permès di ripublicâ la sô prime part in cheste ocasion.

** Istitut di Patologie Vegjetâl, Universitât di Milan, Italie.

Materiài e metodologjiis. A son stadis selezionadis pe analisi par microscopie eletroniche a scansion speciis di *Streptovorticillium* sielzudis jenfri lis plui rapresentativis dal gjenar (Locci et al. 1969). Dongje di lôr a son stâts esaminâts par comparazion ceps di actinomicêts pseudoverticilâts. Lis culturis e la lôr divignince a son specificadis in Locci et al. (1969).

Cun di plui, e je stade analizade une culture di *Streptomyces caespitosus*, IPV 2085, ricevude di A. Seino, Gjapon, identificate tant che cep KCC S-0438.

I ceps a son stâts coltivâts tai terens di culture plui adats ae espression des lôr carateristichis morfologjichis. Come dimostrât di Locci et al. (1969) chescj terens no jerin par fuarce chei che a siguravin la cressite plui vivarose. I terens di culture impleâts a son stâts soredut agar patate destrosi, agar amit, Czapek e carboni.

Ceps selezionâts a son stâts coltivâts in capsulis di Petri. A son stâts racuelts a intervai regolârs discuts di 10 mm di diametri taiâts fûr de superficie dal agar o ben veruts di cuvierture posizionâts dentri dal teren di culture.

I discuts di agar a son stâts ridusûts a un spessôr di 1 mm taiant vie la superficie inferiôr, di mût di minimizâ la riduzion di superficie dal campion te fase di metalizazion.

Gjavant lis primis fasis di svilup, i discuts di agar si son dimostrâts plui adats stant che la cressite e jere plui vigorose e al jere disponibil plui materiâl di osservâ.

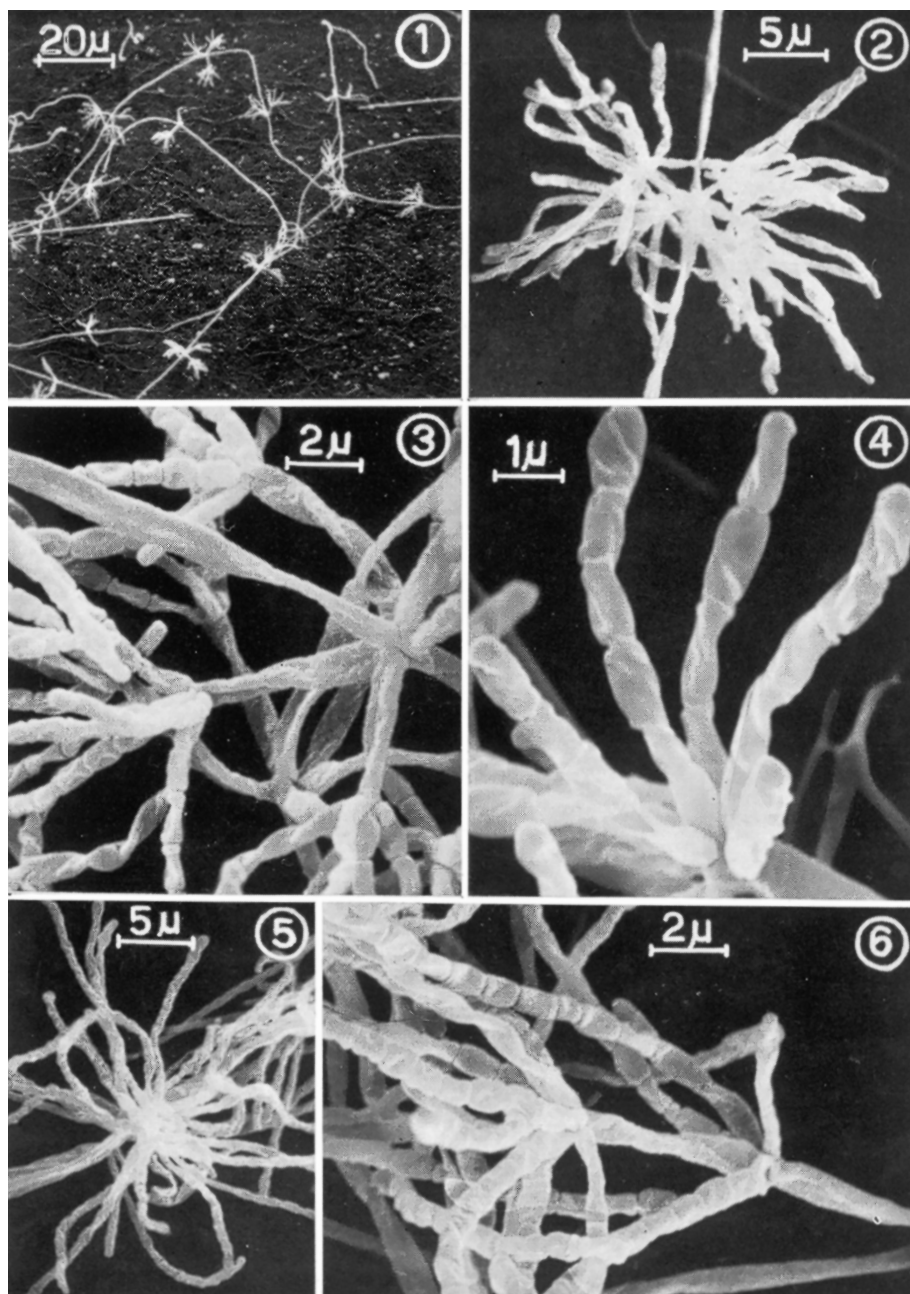
Lis dôs tipologjiis di campion a

son stadis incoladis su supuarts di alumini, riviestedis sot vuet cuntune pelicule di aur e platin, come za descrit (Locci 1969a, 1969b, 1969c) e esaminadis cun microscopi eletronic Stereoscan (Cambridge Inst. Co., Mark 2A). Lis fotografiis che a compagnin l'articul a son stadis fatis cun pelicule Kodak Tri-X di 35 mm.

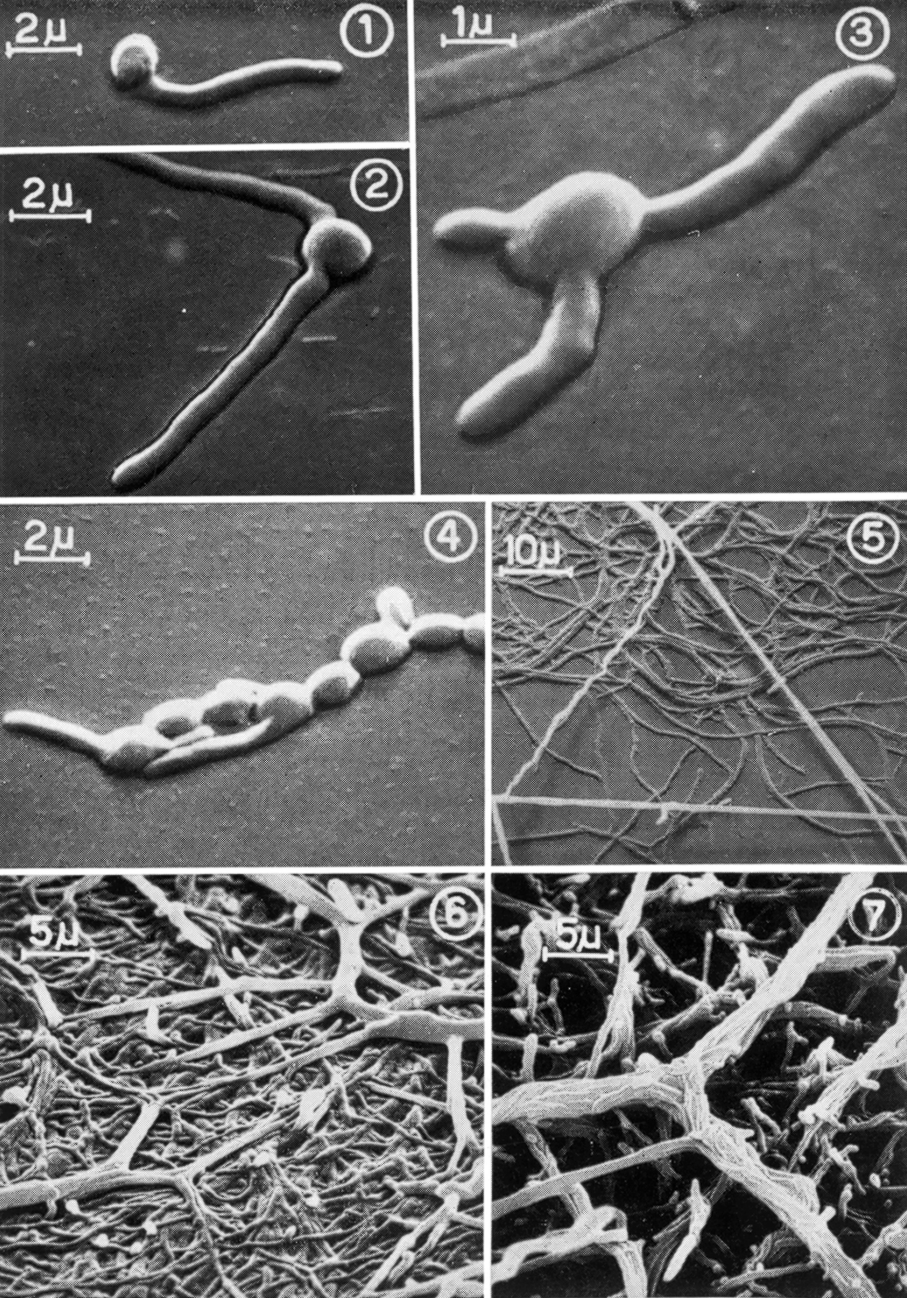
Risultâts

a) Strutture dal verticil. La documentazion fotografiche zontade (Tabele 1, Figuris 1-6) e da une indicazion clare dal aspjet dai verticii.

La strutture sporifare des speciis di *Streptovorticillium* e consist di un as principâl che al presente, a intervai regolârs, diramazions laterâls fatis di trê o plui elements (Tabele 1, Figure 1); di bande sô, ognidun di chescj elements al presente (Tabele 1, Figuris 2, 3 e 4) une ombrene terminâl di cjadenis di sporis (Baldacci et al. 1966). Chestis formazions a son di interpretâ tant che monovorticilâts umbelâts e no tant che bivorticilâts, stant che i cussî clamâts «verticii secundaris» a son in realtât des ombrenis, jessint ugnui e terminâi. Ancje se da râr, si cjatin ancje struturis bivorticiladis (Tabele 1, Figure 4), tant che mostrât di Locci et al. (1969). Chestes definizion, dut câs, e va riferide dome a formazions dulà che si osserve pardabon une seconde serie di verticii e no dome une uniche ombrene apicâl. In curt, i streptovorticillia no son caraterizâts dal fat di vê verticii di cjadenis di sporis ma, plui coretementri, dal fat di vê verticii di ifis sporifaris che a disvilupin om-



Tabele 1.



Tabele 2.

brenis apicâls di cjadenis di sporis.

Duncje, par podê formulâ une definizion corete di struture sporificare, al è essenziâl che si vedin individuadis lis sporis. Masse descrizions a son stadis fatis di formis cussì clamadis monovorticiladis simplicis, vâl a dî che a formin verticii di cjadenis di sporis sul as principâl, basantsi su osservazions davueltis cun microscopis di basse potence o su culturis no sporuladis.

La torsion des ifis, descrite plui indevant, e pues rindi dificile la identificazion de presince des sporis. Cun di plui, come za ilustrât di Locci et al. (1969), lis speciis di *Streptovorticillium* a puedin presentâ diferencis morfologjichis: te distance tra i verticii dilunc dal as centrâl, tal numar di ramificazions che a formin il verticil, te lungjece des ramificazions, te presince o mancun di bivorticii vèrs e propriis, te tipologjie e numar des cjadenis di sporis che a formin la ombrene, tes carateristichis de superficie de spore.

Esemplis di chestis diferencis morfologjichis si puedin osservâ tes fotografiis zontadis.

E je stade, duncje, puartade indevant une analisi de superficie des sporis tes speciis di *Streptovorticillium*, cuntune atenzion particulâr pe torsion des ifis evidenziade dal microscopi eletronic a scansion.

b) *Stadis di svilup tes speciis di Streptovorticillium*. I stadis di svilup des speciis di *Streptovorticillium* a son stâts osservâts fintremai de germinazion, ilustrade te Tabele II, Figuris 1-

4. La germinazion des sporis e pues avignî cu la emission di un (Tabele II, Figure 1), doi (Tabele II, Figure 2) o trê (Tabele II, Figure 3) tubui gjerminatîfs. Il procès al pues inviâsi ancje se lis sporis a son anjemò leadis intune cjadene (Tabele II, Figure 4).

Il miceli primari nol prodûs sporis. Lis ifis dal miceli secundari a puedin svilupâsi di cualsisedi pont de cressite primarie; lis dôs tipologjii di ifis si diferenziin cun facilitât par vie de posizion (Tabele II, Figure 5). Il miceli secundari al consist di un voluç di ifis leadis tra lôr e dispès al è caracterizât de presince di filaments luncs e drets.

La formazion dai verticii e pues avignî za a tacâ di chestis ifis. In altris câs la sporulazion si verifiche intun miceli «terziari» culturalmentri diferenziât (Farina e Locci 1966). Chestis formazions a puedin spiegâ in part il disvilup in altece tipic di ciertis speciis di *Streptovorticillium* e la lôr consistence similâr a chê dal coton. Cun di plui, ciertis speciis di *Streptovorticillium* a puedin presentâ une cressite di ifis aereis che ur conferissin l'aspiet dal coton, in contrast cu la aparence plui vualive e farinose des speciis caraterizadis de sporulazion direte di bande des ifis svilupadis dal miceli primari. Intai streptovorticillia coltîvâts su terens di culture plui puars di sostancis nutritivis a assorbiment rapit al mancje un fuart disvilup in altece. Ancje ta chescj câs, però, cuant che si verifiche une sporulazion plui rapide, si cjate un miceli secundari basâl.

In condizions particulârs lis ifis

aereis a tindin a tacâsi formant strecis che a puedin fondisi in strecis plui grandis (Tabele II, Figuris 6-7). Jenfri une ife e chê altre al somee che al sedi presint un cualchi materiâl di cölegament (Tabele III, Figure 1). Une serie di fusions seguitivis, che a somein cuasi completis, a produsin une structure similâr a un coremi (Tabele III, Figure 2).

Il disvilup des ramificazions dai verticii (Tabele III, Figure 3) nol è simultani in ogni verticil, come ancje la formazion des ombrenis e des cjadenis di sporis. Lis fasis di disvilup des ramificazions verticiladis si puedin osservâ tes Figuris 4-9 (Tabele III) e 1-2 (Tabele IV).

In câs ecezionâi al pues capitâ che une ramificazion e sedi ben svilupade e e vedi tacât a produci ombrenis, intant che chês altris a son ancjemò intun stadi iniziâl. Lis resons di chest compuartament no son claris; in ogni câs se par cualchi condizion no favorevule la cressite si vedi di interrompi ta chest stadi o se une inibizion localizade e vedi di fermâ il disvilup des ramificazions, lis formazions che a 'ndi risultin a son di considerâ iregolaritâts, tant che malformazions dal disvilup. In cualchi specie si pues osservâ un ingruessiment de ife principâl tal pont di atac dal verticil (Tabele IV, Figure 3).

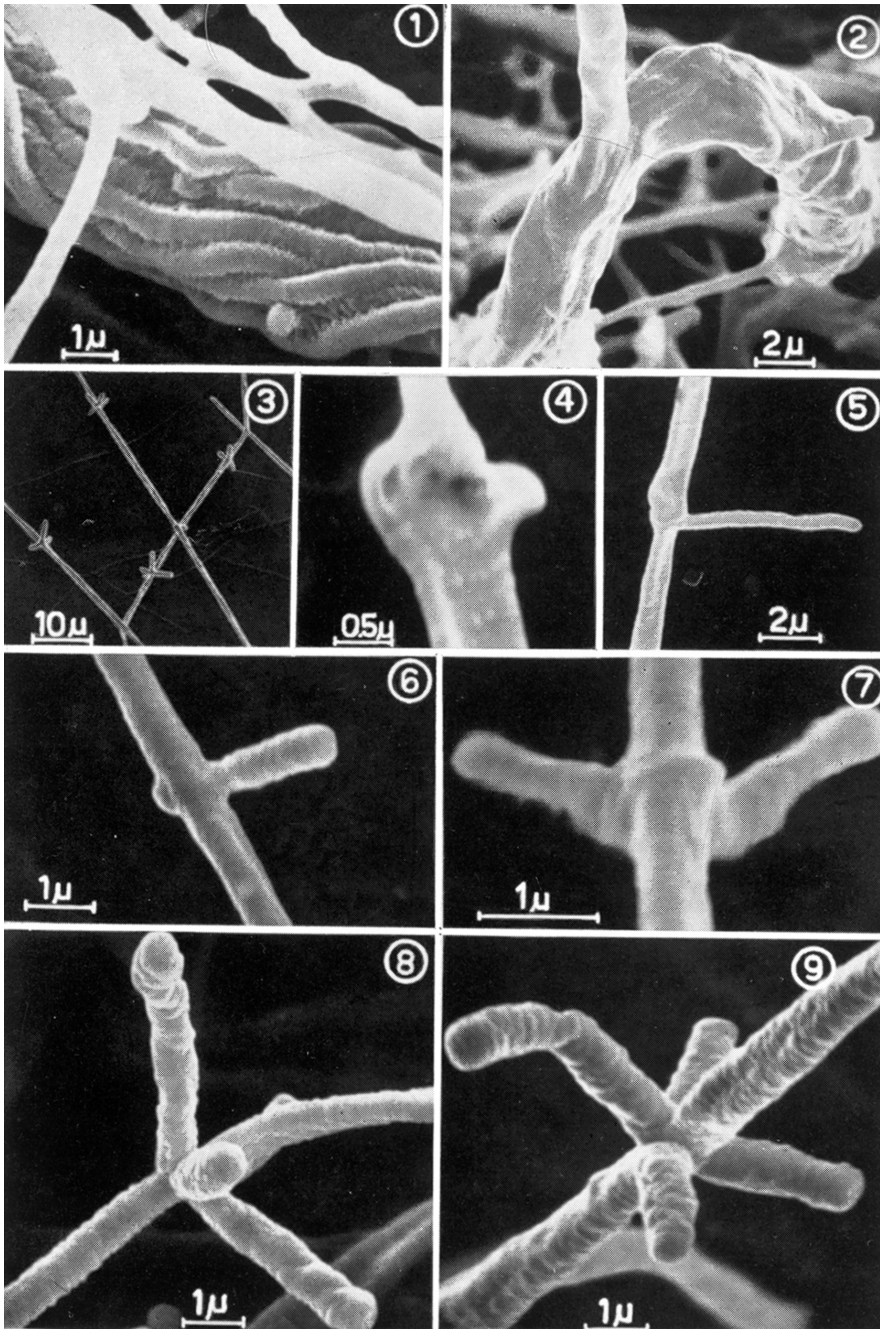
Tal stes mût no son simultaniis la formazion des ombrenis tes diversis diramazions di chel stes verticil o la sporulazion des ifis de stesse ombrene, che e pues presentâ tal stes moment ifis dal dut o par nuie sporuladis (Tabele IV, Figuris 4-5).

Dilunc dal as principâl il disvilup al è acropet, ancje se lis malformazions menzonadis parsore a puedin in part alterâ la secuencia, che in struc e je: disvilup des diramazions secundariis sul as principâl cun disvilup dal verticil, formazion des ifis de ombrene, sporulazion des ifis.

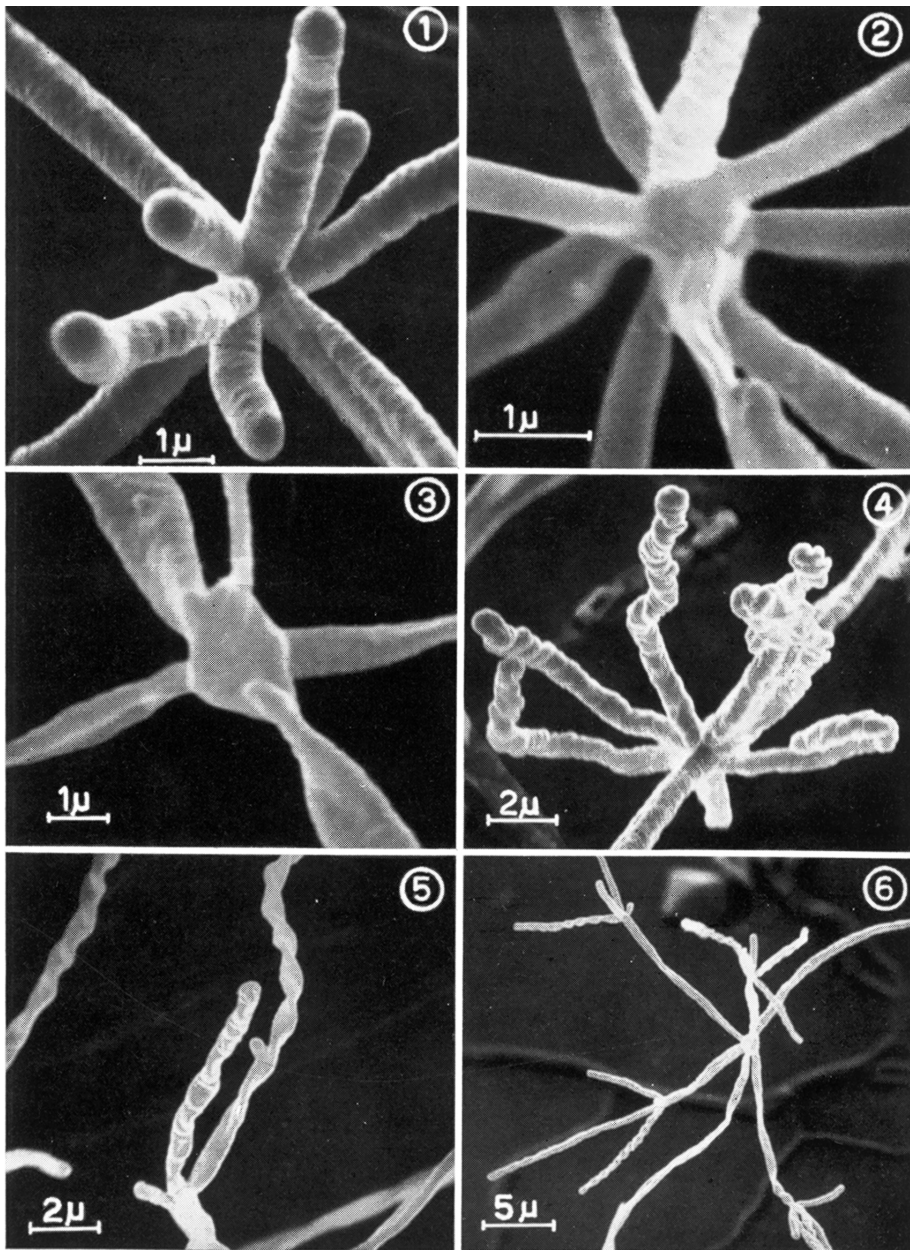
Une ultime schirie di osservazions e je stade fate sul procès di sporulazion. Tes speciis esaminadis al è stât evidenziât un fenomen peculiâr che al anticipa la sporulazion; tes pocis speciis di *Streptomyces* analizadis nol è stât osservât nuie di similâr, ancje se o intindin puartâ indevant studis ulteriôrs par investigâ il procès di formazions des sporis ta chel gjenar. Come ripuartât in precedence (Locci et al. 1969) in nissune specie di *Streptoverticillium* lis cjadenis di sporis a presentin une sistemazion a spirâl. Par solit lis cjadenis di sporis, che a son avonde curtis, a son dretis o flessuosis; cualchi specie e mostre, al plui, rimpins terminâi.

Il compuartament des ifis des ombrenis tes speciis di *Streptoverticillium* esaminadis al pues jessi sintetizât ta cheste maniere. Prime de sporulazion lis ifis de ombrene a mostrin une torsion ator dal lôr as principâl (Tabele IV, Figuris 4-6; Tabele V, Figuris 1-6): chest moviment si lu viôt cun clarece, stant che a comparissin des pleis su la superficie de ife. Chest procès – evidenziât dome de microscopie eletroniche a scansion – nol è sigûr fin a ce pont che al determini la separazion des sporis de ife.

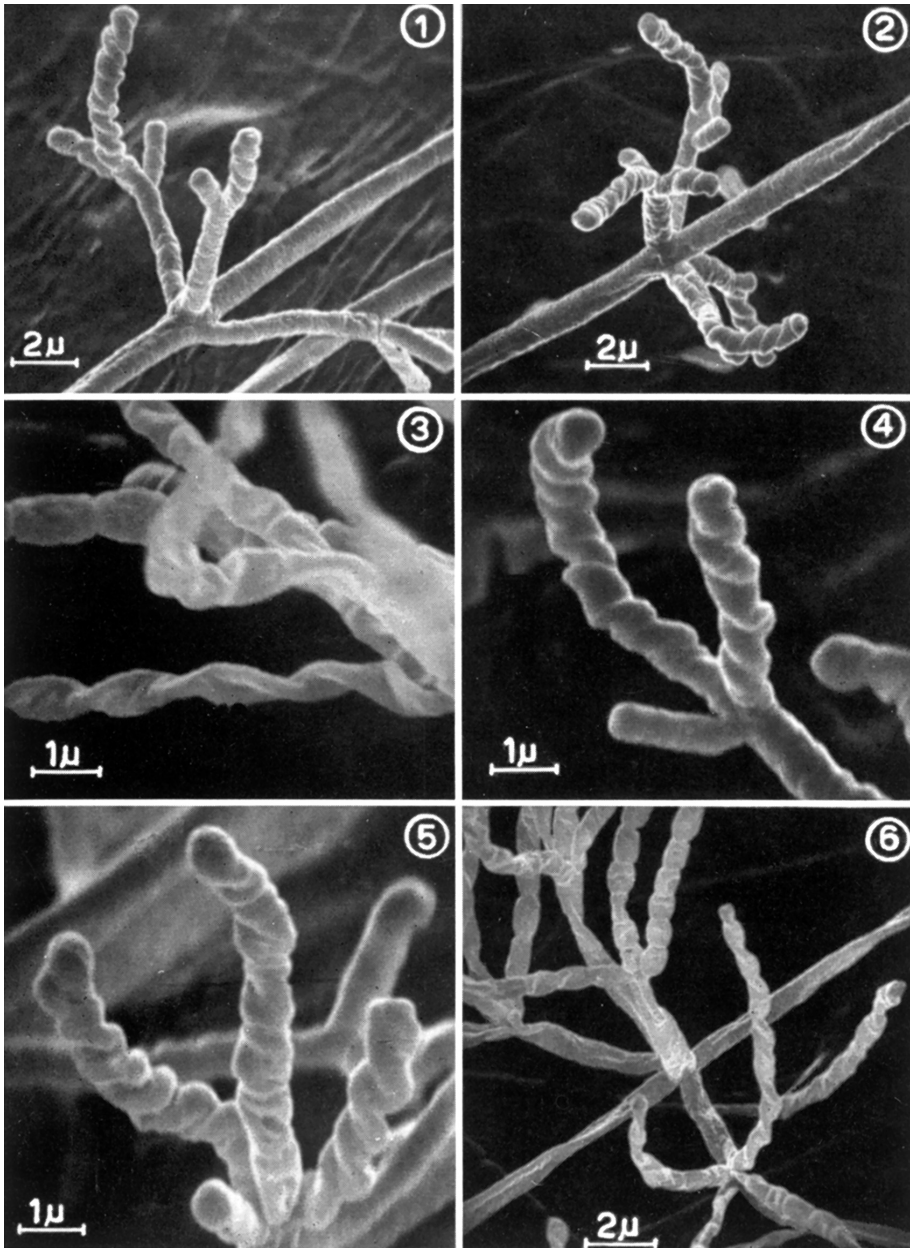
Il moviment di torsion al pues jessi presint ancje cuant che a tachin a



Tabele 3.



Tabele 4.



Tabele 5.

svilupâsi lis primis sporis (Tabele VI, Figuris 1-5) e in cualchi câs si osservin pleis su la superficie externe di sporis za cuasi dal dut formadis (Tabele VI, Figuris 5-7).

Te stesste ombrene cualchi ife e pues jessi te fase de torsion intant che cualchi altre e je dal dut sporulade (Tabele VI, Figuris 4-5).

Chest al dimostre cun clare evidence che la sporulazion no je simultanie in dutis lis ifis di une ombrene.

Chest fenomen al rivuarde dome la ife che e varà di produci la cjadene di sporis. Lis diramazions dai verticii no mostrin, di fat, nissun moviment di torsion. Se la ombrene e consist di dome une ife, si che duncje e podarès dâ la impression di un monovertilcil sempliç, la torsion si verifiche dome insom de ife (Tabele IV, Figure 4). Cjalant lis struturis intant che si forme une seconde cjadene di sporis, si viôt che la torsion e je limitade ae part de ife dulà che a comparissaran lis sporis (Tabele IV, Figure 5; Tabele VI, Figure 1).

Al covente spindi cualchi peraule ancje sul cont di une altre carateristiche morfologjiche. Fin cumò no je stade isolade nissune specie di *Streptovercillium* che e vedi spinis sui pêi de superficie des sporis. Dutis lis sporis a son pratichementri slissis (Tabele VII, Figuris 1-2). La analisi par microscopie a trasmission di eletrons (Locci et al. 1969) e à evidenziât la presince di piçulis iregolaritâts, ma ae lûs dai risultâts di chest studi lis iregolaritâts a podaressin jessi tribuidis ae presince residuâl di pleis su la superficie des sporis, tant che descrite parsore.

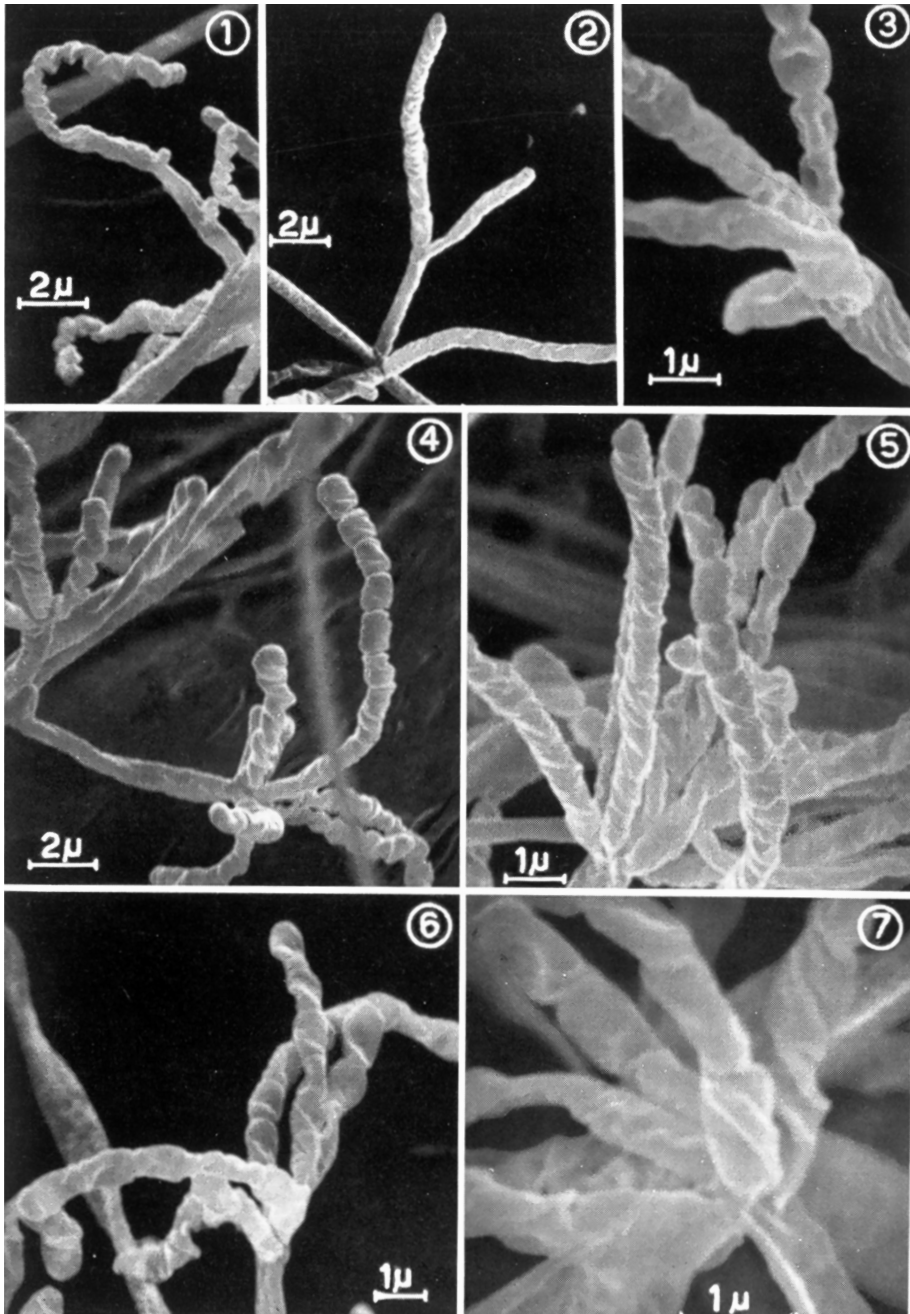
La mancance di struturis che a son comunis jenfri chês altris sporis di actinomicêts e podarès rapresentâ un element di une cierte impuartance. Chest, dongje dal fat che no je stade osservade in chest gjenar la formazion di veris spirâls, a dispiet de torsion des ifis te fase di sporulazion, al podarès meti in discussion la posizion atuâl di chescj organisims rispjet a chei altris actinomicêts. Cun dut achel, a coventin altris sperimentazions ancje dome par formulâ une ipotesis a rivuart.

c) *Conformazion dai actinomicêts pseudovertilcilâts*. A son stadis riesaminadis cun microscopi eletronic a scansion culturis che a jerin stadis esclududis dal gjenar *Streptovercillium* su la fonde de lôr strutture morfologjiche (Locci et al. 1969). L'esam al à confermât lis carateristichis za osservadis prime.

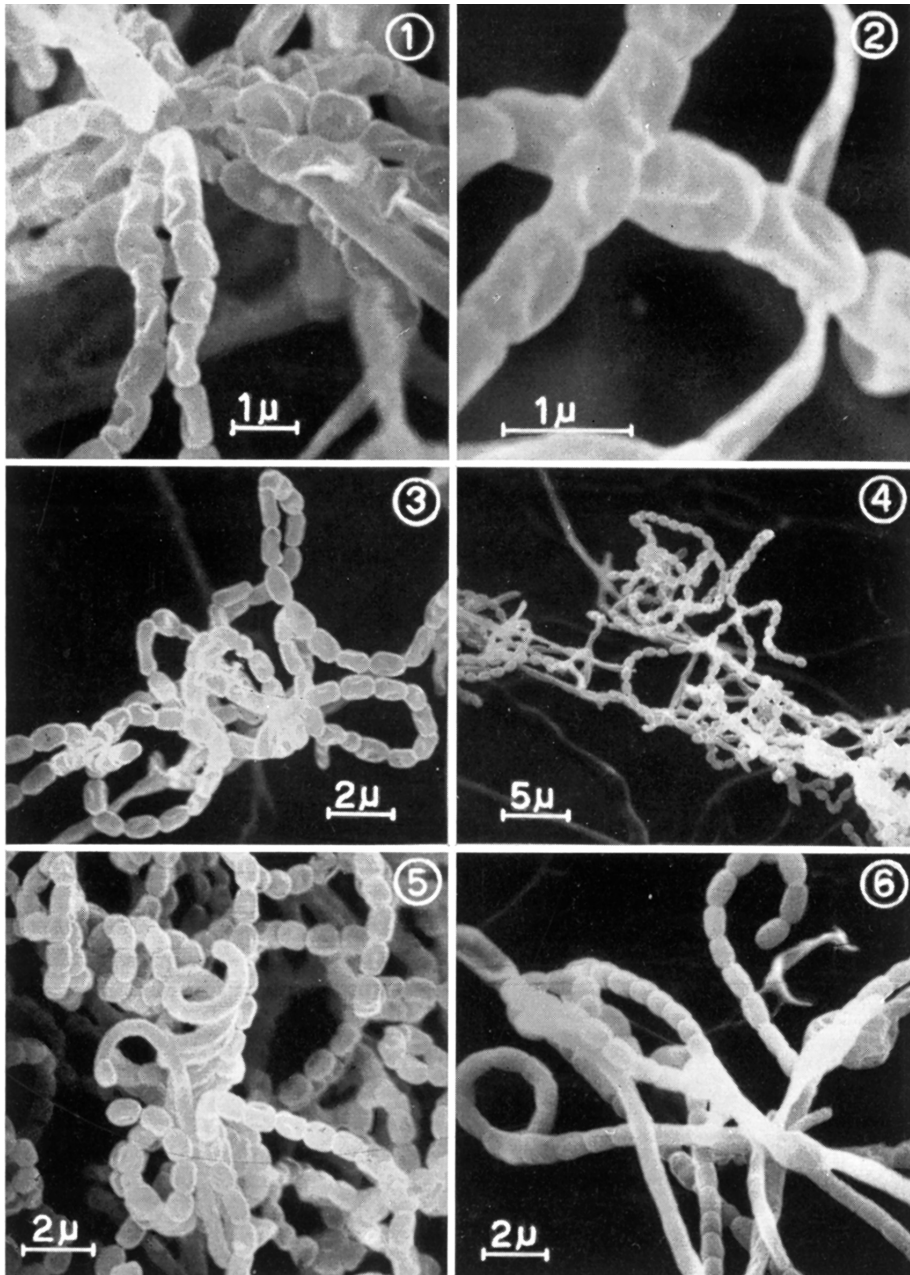
Intes Figuris 3-6 (Tabele VII) a son ilustradis lis struturis di sporulazion di culturis pseudovertilciladis, dulà che si viôt cun clarece che chestis formazions no puedin jessi confondudis cun verticii vêrs.

Su la fonde di chestis osservazions une altre specie (*Streptomyces caespitosus*) e pues jessi escludude dal gjenar *Streptovercillium*. Cun di fat la culture (Tabele VII, Figure 5) e evidenzie cjadenis di sporis une vore fissis ma disponudis in maniere iregolâr dilunc di une ife ramificade.

Discussion. La utilitât de microscopie eletroniche a scansion tal studi dai actinomicêts e jere stade za metude in



Tabele 6.



Tabele 7.

evidence di Williams e Davies (1967). Cheste tecniche e je particolarmentri adate aes speciis di *Streptoverticillium*, par vie de lôr struture tridimensionâl. Se si ves di doprâ un microscopi otic lis lôr dimensions, di fat, a rindaressin dificile une interpretazion clare de organizazion des struturis di sporulazion, tant e plui che chestis struturis a son une vore fissis te lôr dispozion.

In plui di permeti une osservazion plui detaiade des carateristichis za definidis de microscopie otiche, la microscopie eletroniche a scansion nus à dât la pussibilitât di scuverzi la esistence di fenomens che se no a saressin restâs discognossûts.

La microscopie a trasmission eletroniche no je di grande utilitât in chescj câs. Di fat, il campionament a contat dal miceli aeri da râr al rive a

evidenziâ plui di cualchi ife o frament di cjadenis di sporis.

In cont di chest, un dai vantaçs de microscopie eletroniche a scansion al è di permeti la analisi di une struture originâl interie, tant che la microscopie otiche pal studi dai actinomicèts e je di considerâ superade (Williams e Davies 1967). La MES doprade a ingrandiments diferents di une bande e da une vision gjenerâl de struture dal miceli e, di chê altre, e analize chel stes campion a ingrandiments che fin cumò a vevin di jessi eseguîts in maniere separade cun microscopis a trasmission eletroniche. Cun di plui, jessint in stât di esaminâ champions di grandis dimensions, la MES e permet di osservâ areis diferenziadis. In chest mût il disvilup dal miceli al pues jessi seguît pas a pas, tant che dimostrât te documentazion zontade.

Ringraziaments. I autôrs a ringraziin il prof. E. Baldacci pe assistance preziose che nus à sigurât par dut il lavôr. Il so continui interès e lis profitevulis discussions a son stâts un jutori une vore preseât.

Legenda des fotografiis

Tabele I – Struturis di sporulazion intes speciis di *Streptoverticillium*. Aspiet gjenerâl e particolâr dai verticii (Figuris 1-3), des ombrenis (Figure 4), di verticii cun diramazions curtis (Figure 5) e di biverticii vèrs (Figure 6).

- 1) *Streptoverticillium griseovorticillatum*, IPV 1976, su agar Czapek (AC), età: 4 dîs.
- 2) *Stv. mobaraense*, IPV 2058, su agar amit (AA), età: 5 dîs.
- 3 e 6) *Stv. kentuckense*, IPV 1780, su agar patate (AP), età: 4 dîs.
- 4) *Stv. baldaccii*, IPV 1339, su AP, età: 15 dîs.
- 5) *Stv. netropsis*, IPV 1720, su AC, età: 4 dîs.

Tabele II – Gjermazion des sporis (Figuris 1-4), miceli primari e secondari (Figure 5) e strecis di ifis di miceli secondari (Figuris 6-7).

- 1-4) *Stv. baldaccii*, IPV 1339, su AP, età: 30 oris.
- 5) *Stv. kentuckense*, IPV 1780, su AP, età: 4 dîs.
- 6-7) *Stv. baldaccii*, IPV 1339, su AP, età: 2 dîs.

Tabele III – Struturis similârs a un coremi (Figuris 1-2) e inizi de formazion dal verticil (Figuris 3-9).

- 1-2) *Stv. baldaccii*, IPV 1339, su AP, età: 30 oris.
- 3, 6 e 9) *Stv. salmonis*, IPV 2019, su AA, età: 3 dîs.
- 4, 5 e 7) *Stv. baldaccii*, IPV 1339, su AP, età: 7 dîs.
- 8) *Stv. biverticillatum*, IPV 1594, su AA, età: 3 dîs.

Tabele IV – Disvilup dal verticil (Figuris 1-4), torsion des ifis sporifaris (Figuris 4-6) e inizi de formazion de ombrene (Figuris 5-6).

- 1 e 4) *Stv. cinnamoneum*, IPV 2013, su AA, età: 3 dîs.
- 2-3) *Stv. baldaccii*, IPV 1339, su AP, età: 5 e 7 dîs rispetivementri.
- 5) *Stv. kentuckense*, IPV 1780, su AP, età: 4 dîs.
- 6) *Stv. parvisporogenes*, IPV 1972, su AC, età: 15 dîs.

Tabele V – Torsion des ifis sporifaris prin de sporulazion (Figuris 1-6) e formazion des sporis (Figuris 3 e 6).

- 1, 2, 4 e 5) *Stv. salmonis*, IPV 2019, su AA, età: 3 dîs.
- 3 e 6) *Stv. kentuckense*, IPV 1780, su AP, età: 4 dîs.

Tabele VI – Torsion des ifis sporifaris e formazion des sporis in speciis di *Streptoverticillium*. Si viodin pleis residuâls su la superficie des sporis (Figuris 4-7).

- 1 e 6) *Stv. mobaraense*, IPV 2058, su AA, età: 5 dîs.
- 2) *Stv. flavopersicum*, IPV 2010, su AA, età: 12 dîs.
- 3) *Stv. netropsis*, IPV 1720, su AC, età: 20 dîs.
- 4) *Stv. salmonis*, IPV 2019, su AA, età: 3 dîs.
- 5 e 7) *Stv. baldaccii*, IPV 1339, su AP, età: 15 dîs.

Tabele VII – Cjadenis di sporis in speciis di *Streptoverticillium* (Figuris 1-2) e struturis di sporulazion di actinomicêts pseudoverticilâts (Figuris 3-6).

- 1-2) *Stv. baldaccii*, IPV 1339, su AP, età: 15 dîs.
- 3-4) *Streptomyces mediocidicus*, IPV 2031, su AP, età: 20 dîs.
- 5) *Streptomyces caespitosus*, IPV 2085, su agar W-8, età: 3 dîs.
- 6) *Actinomyces circulatus*, IPV 1540, su AC, età: 5 dîs.

References/ Bibliografie

- Baldacci E., Farina G., Locci R. (1966). Emendation of the genus *Streptoverticillium* Baldacci (1958) and revision of some species. *Giornale di Microbiologia*, 14: 153-171.
- Dietz A., Mathews J. (1969). Scanning electron microscopy of selected members of the *Streptomyces hygroscopicus* group. *Applied Microbiology*, 18: 694-696.
- Farina G., Locci R. (1966). Contributo allo studio di *Streptoverticillium*: descrizione di una nuova specie (*Streptoverticillium baldaccii* sp. nov.) ed esame di alcune specie precedentemente delineate. *Giornale di Microbiologia*, 14: 33-52.
- Kawato M., Shinobu R. (1959). On *Streptomyces herbaricolor* nov. sp. Supplement: A simple technique for the microscopical observation. *Memoirs of the Osaka University of Liberal Arts and Education. B. Natural Science*, 8: 114-119.
- Locci R. (1969a). Scanning electron microscopy of *Helminthosporium oryzae* on *Oryza saliva*. *Rivista di Patologia Vegetale*, S. IV, 5: 179-195.
- Locci R. (1969b). Direct observation by scanning electron microscopy of the invasion of grapevine leaf tissues by *Plasmopara viticola*. *Rivista di Patologia Vegetale*, S. IV, 5: 199-212.
- Locci R. (1969c). Investigations on fungal features by scanning electron microscopy. I. The life cycle of *Aspergillus amstelodami*. *Rivista di Patologia Vegetale*, S. IV, 5: 223-232.
- Locci R., Baldacci E., Petrolini Baldan B. (1969). The genus *Streptoverticillium*. A taxonomic study. *Giornale di Microbiologia*, 17: 1-60.
- Williams S.T., Davies F.L. (1967). Use of a scanning electron microscope for the examination of actinomycetes. *Journal of General Microbiology*, 48: 171-177.