

## Genetiko kaj plibonigo de *Aspergillus niger* por produktado de citrata acido

Ivanhoé Rodrigues Baracho (Brazilo)\*

La aspergiloj de l' grupo *niger* estas vaste dissemataj en la naturo. Ili abundas en ia ajn grundo, principe en grundo el tropika regiono, kaj vivas en kaj sur la plej diversaj substratoj. Ili havas ekonomie grandan signifon kaj, pro sia utilo en la industria produktado, estas ankaŭ vaste esplorataj.

El la multaj specioj de *Aspergillus*, kiuj konsistigas la grupon *niger* unu la plej abundaj estas *Aspergillus niger van Tieghem*. Tiu specio estas uzata en la industrio por produktado de diversaj organikaj acidoj, inklude citratan acidon, kiu estas unu el la plej gravaj produktoj metabolaj, nuntempe produktataj industrie per linioj de *A. niger*.

Oni povas diri, ke la genetikaj studoj pri *A. niger* komenciĝas fare de *Pontecorvo* (1952), kiu, uzante la teknikon priskribitan de *Roper* (1952), konstatis la okazaĵon de la ciklo paraseksa en tiu specio. Poste *Pontecorvo*, *Roper* kaj *Forbes* (1953) konkludis, ke la frekvenco de diploiduloj ĉe tiu specio estas tre granda kaj ke la plimulto el la sektoroj de la diploiduloj estas ankaŭ diploida.

Esplorante la saman linion uzitan de *Pontecorvo* (l.c.), *Lhoas* (1961, 1967), konstatis ĉe *A. niger* ses grupojn de genkunligo, kaj troigatan frekvencon de mitoza genarekombinado.

En 1969, *Kalyani*, *Nandi* kaj *Misha* konstatis ĉe *A. niger* fenomenon, kiu similas la bakterian aliformiĝon, kaj *Prasad* en 1970, studis diversajn morfolgiajn mutaculojn je koloro de konidio.

*Chang*, *Terry* kaj *Tuveson* (1974) elmontris, ke *A. niger* kapablas produkti konidiojn heterokariozajn, kaj pritraktis ankaŭ la izoladon de diploiduloj

\* doktoro, profesoro ĉe Departemento de Genetiko kaj Evoluo, Instituto de Biologo, Universidade Estadual de Campinas, (São Paulo).

- (Snyder-Hansen). — *J. Gen. Microbiol.*, 10, 71-84.
- Buxton, E. W. (1956): Heterokaryosis and parasexual recombination in pathogenic strains of *Fusarium oxysporum*. — *J. Gen. Microbiol.*, 15, 133-139.
- Buxton, E. W. (1962): Parasexual recombination in the banana-wilt *Fusarium*. — *Trans. Br. Mycol. Soc.* 45, 274-279.
- Buxton, E. W. — Ward, V. (1962): Genetic relationships between pathogenic strains of *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, and an isolate of *Nectria haematococca*. — *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 45, 261-273.
- Camargo, L.M.C.A. — Baracho, I. R. (1977): Heterocariose e virulência de mutantes de *Fusarium moniliforme* Sheld e *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans* Wr.-Rg. — *Summa Phytopathologica*, 3, 142-148.
- Coy, D. O. — Tuveson, R. W. (1961): Heterokaryosis between presumed species of *Fusarium*. — *Genetics*, 46, 860 (Abstr.).
- Dhillon, T. W. — Garber, E. D. — Wyttenbach, E. G. (1961): Genetics of phytopathogenic fungi VI — Heterokaryons involving *Gibberella fujikuroi* and formae of *Fusarium oxysporum*. — *Can. J. Botany*, 39, 785-792.
- Fleischmann, C. (1963): Studies on the wilt of peas caused by *Fusarium oxysporum* Schl. f. *pisi* (Linf.) S. -H. — *Race I. Can. J. Botany*, 41, 1564-1584.
- Garber, E. D. — Wittenbach, E. G. — Dhillon, T. S. (1961): Genetics of phytopathogenic fungi. V — Heterokaryons involving formae of *Fusarium oxysporum*. — *Amer. J. Bot.*, 48, 325-329.
- Hansen, H. N. (1938): The dual phenomenon in imperfecti fungi. — *Mycologia*, 30, 442-455.
- Hansen, H. N. — Smith, R. E. (1932): The mechanism of variation in imperfecti fungi: *Botrytis cinerea*. — *Phytopathology*, 22, 953-964.
- Leary, J. V. (1972): Heterokaryosis of *F. oxysporum* Sch. causing crown rot of tomato. — *Phytopathology*, 62, 771.
- Leonan, L. H. (1929): Studies of the variability and dissociations in the genus *Fusarium*. — *Phytopathology*, 19, 753-869.
- Leonan, L. H. (1930): Attempts to produce «mixochimaera» in *Fusarium moniliforme*. — *Phytopathology*, 20, 895-901.
- Ming, Y. N. — Lin, P. C. — Yu, T. F. (1966): Heterokaryosis in *Fusarium fujikuroi*. — *Scientia Sinica*, 15, 371-378.
- Parmeter, J. R. — Snyder, W. C. — Reichle, R. E. (1963): Heterokaryosis and variability in plant-pathogenic fungi. — *Ann. Rev. Phytopathol.*, 1, 51-69.
- Sanchez, L. E. — Leary, J. V. — Endo, R. M. (1975): Chemical mutagenesis of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*: Non-selected changes in pathogenicity fo auxotrophic mutants. — *J. gen. Microbiol.*, 87, 326-332.
- Sanchez, L. E. — Leary, J. V. — Endo, R. M. (1976): Heterokaryosis in *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. — *J. gen. Microbiol.*, 93, 219-226.
- Singh, U. P. — Hoffmann, G. M. (1969): Syntesis of heterokaryons and parasexual reaction in *Fusarium* species. — *Arch. Mikrobiol.*, 67, 293-305.
- Snyder, W. C. (1933): Variability in the pea wilt organism *Fusarium orthoceras* var. *pisi*. — *J. Agric. Res.*, 47, 65-88.
- Tuveson, R. W. — Garber, E. D. (1959a): Genetics of phytopathogenic fungi. I — Virulence of biochemical mutants of *Fusarium oxysporum* f. *pisi*. — *Bot. Gaz.*, 121, 29-74.
- Tuveson, R. W. — Garber, E. D. (1959b): Genetics of phytopathogenic fungi. II — The parasexual cycle in *Fusarium oxysporum* f. *pisi*. — *Bot. Gaz.*, 121, 74-80.
- Yang, S. M. (1968): Cultural and pathogenicity studies of induced variants of bean and pea root rot *Fusarium* species. — *Phytopathology*, 58, 639-643.

antaŭ tiu fakto.

Eble diploiduloj el *A. niger* estiĝas laŭnature. Almenaŭ *Nga*, *Teo* kaj *Lim* (1975) raportis pri estiĝo en la naturo, de unu linio el *A. niger*, kies agmaniero similis tiun de la linioj diploidaj.

*Chang* k.a. (l.c.) verŝajne la unuaj konstatis estiĝon de linioj de *A. niger*, kiu montris konidiojn dunukleajn kaj heterokariozajn. Antaŭ ili, *Dangeard* (1907), *Whelden* (1940), kaj *Yuill* (1950), studis liniojn, kiuj nur montris konidiojn ununukleajn.

*Baracho* kaj *Coelho* (1978 a) studis tridek kvar liniojn de *A. niger*. Ĉiuj el ili enhavis konidiojn dunukleajn krom ununukleaj. Tiuj aŭtoroj studis la efikon de la deveno kaj de la aĝo de la kolonio (1978 b), kaj ankaŭ de la kulturmedio kaj de la temperaturo (1979), al la proporcio de konidioj dunukleaj ĉe tiu fungo.

Rilate al la grandeco de l' konidioj, ĉe linioj haploidaj aŭ diploidaj, *Pontecorvo* k.a. (l.c.) konstatis, ke ofte la diametroj de l' konidioj el la linioj diploidaj estas 1,3-oble pli grandaj ol la konidiaj diametroj el la linioj haploidaj. La samon konstatis ankaŭ *Chang* k.a. (1974).

*Lhoas* (1967) reliefigas, ke oni povas klasifiki sektorojn kiel haploidajn aŭ diploidajn laŭ konidia diametro. Tamen laŭ *Rosim*, *Garcia* kaj *Baracho* (1978) tiu kriterio estas nefidinda.

Pri la plibonigo, de *A. niger* por produktado de citrata acido, *Das* (1972) raportas, ke *Kresling* kaj *Stern* (1935), uzante radion ultraviolan aŭ radiumon havigis mutaciulojn, kiuj estis pliproduktantaj. Tamen *Gerhardt*, *Dorrel* kaj *Baldwin* (1946), uzante tehnikon de selektado, ne sukcesis havigi liniojn pliprodukteblajn.

*Diller*, *Tytell* kaj *Kersten* (1946), uzante rentgen-radiadon kiel mutacian aganton, sukcesis izoli unu mutaciulon, kies produktado de citrata acido estis pli granda ol la produktado de la linio origina. Tiu mutaciulo kreskis malpli rapide ol la linio origina kaj produktis kvanton da micelio, kiu estis malpli granda ol la kvanto produktata de tiu linio.

*Gardner*, *James* kaj *Rubbo* (1956), uzante kiel mutacian aganton radiadon aŭ rentgenan, aŭ ultraviolan, selektis, per la tehniko de surpapera kulturo, pliproduktintajn mutaciulojn.

Pliigon de produktado de citrata acido, per mutaciigo studis ankaŭ *Imšenecki*, *Solnceva* kaj *Kuranova* (1960), *Millis*, *Trumpy*, kaj *Palmer* (1963), *Ščerbakova* (1963, 1964); *Ilczuk* (1968); *Gradel* (1969); *Seichertova* kaj *Leopold* (1969 a); *Ščerbakova* kaj *Lanskaja* (1971).

*James*, *Rubbo* kaj *Gardner* (1956) konstatis, ke la mutaciuloj pliprodukteblaj estis selektitaj post pluraj etapoj el mutaciigo kaj per la uzado de malsamaj mutaciaj agantoj.

La skribaĵoj de *Imšenecki* kaj *Kuzjurina* (1966); *Ščerbakova*, *Karadžova* kaj *Eremakova* (1974); kaj *Banik* (1974), ankaŭ reliefigas ke, rilate al la izolado de pliprodukteblaj mutaciuloj, la rezultoj estas pli avantaĝaj, se oni uzas plurajn etapojn el mutaciigo kaj kombinas la uzon de fizikaj kaj ĥemiaj mutaciagantoj.

Rilate al plibonigo de linioj de *A. niger* por pliproduktado de citrata acido, *Das* kaj *Nandi* (1972), kaj *Das* (1972) studis jenajn mutaciagantojn: gama-kaj ultraviola radiado, mustarda nitroĝeno kaj kolĥicino\*. Tiuj aŭtoroj konkludis, ke la gama-radiado estis la plej efika el ĉiuj tiuj mutaciagantoj.

Uzante gama-radiadon, *Hannan* (1972) akiris unu linion, kies produktado estis duobla aŭ triobla ol de la linio origina!

*Silva* kaj *Azevedo* (1978) esploris efikon de la gama-radiado al produktado de citrata acido kaj al la variemo de *A. niger*. Ili esploris ankaŭ selektadon de linioj pliprodukteblaj, per la kulturmedio laŭ *Foster* kaj *Davis* (1949). La rezulto, al kiu ili venis, ne apogas la uzon nestrikta de tiu metodo de selektado. Tamen la skribaĵoj de *James* k.a. (l.c.), kaj de *Gardner* k.a. (l.c.) rekomendis tiun metodon.

Rilate al la uzado de aŭksotrofiaj mutaciuloj *Musílková* kaj *Fencl* (1970) konstatis, ke mutaciuloj, bezonantaj argininon produktis 14% pli da citrata acido ol la linio origina. La produktado ne ŝanĝiĝis ĉe linioj, kiuj bezonis vitaminon, sed ĝi malgrandiĝis ĉe mutaciuloj bezonante aminoacidon aŭ nitrogenajn bazojn.

Tamen *Ilczuk* (1971 c) raportas, ke aŭksotrofiaj mutaciuloj je niacino piri-doksino, tiamino kaj folia acido, estis malpliproduktantaj.

Koncerne morfologiajn mutaciulojn, *Ilczuk* (1968) konstatis, ke la selektado de mutaciuloj je konidia koloro pruviĝis esti grandvalora por pliigo de la produktado de citrata acido. *Lockwood* (1975) asertis, ke rutine oni uzis mutaciulojn kun konidioj kaŝtankoloraj.

*Das* (1972) kaj *Hannan* (1972) reliefigas, ke oni konstatis neniun korelacian inter morfologiaj tipoj kaj pliigo de produktado. Sed *Gardner* k. a.

\* Spite al PIV, tiu ĉi formo estas pli ĝusta ol "kolĥicino". (Kp. SR, 1,2,78 kaj AEST 1981: Onkmastiko en fakterminoj.).

(l.c.) raportis, ke la grandigo de l' kolonio kaj la produktado de citrata acido korelacias.

Pluraj studoj, ĉe *A. niger*, pri citrata fermentado, montras, ke la buletoj el micelio, kiuj estas pufaj strukture kaj kun diametro, kiu ne transpasas 1 mm, konsistigas la plej bonan micelian formon por granda produktado de citrata acido (Chmiel 1973, Clarh 1962, Martin 1957, Snell-Schweiger 1949, Ĵuravski 1955).

La interrilatoj inter grandigo de kolonio, morfologio de micelio kaj produktado de citrata acido estas diskutitaj de Martin kaj Demain (1977).

Estigo de l' paraseksa ciklo, ĉe *A. niger*, povas konsistigi alian disponeblan tefnikon por akiro de linioj pliprodukteblaj (Ciegler-Raper 1957, Kczyka 1971 ab, Seichertova-Leopold 1969 b). Sed la uzado de heterokarioj, de diploiduloj, aŭ de miksaĵoj de linioj, en la industria produktado, ĝis nun malsukcesis (Chang-Terry 1973, Ciegler-Rater 1957, Yuill 1951).

## Referencoj

- Banik, A.K. (1974): Fermentative production of citric acid by *Aspergillus niger*: strain selection on optimum cultural conditions for improved citric acid production. — *Journal of Food Science and Technology, Indian* 12, 111-114.
- Baracho, I.R. — Coelho, W.R. (1978 a): Proporção de conídios binucleados em *Aspergillus niger*. — *Ciência e cultura* 5, 605-608.
- Baracho, I. R. — Coelho W.R. (1978 b): Influência da idade e origem da colônia na proporção de conídios binucleados em *Aspergillus niger*. — *Revista de Microbiologia*, 1, 1-3.
- Baracho, I. R. — Coelho, W. R. (1979): Environmental factors affecting the proportion of binucleate conidia in *Aspergillus niger*. — *Trans. Br. Mycoll. Soc. (Artikolo presota)*.
- Chang, L.T. — Terry, C.A. (1973): Intergenic complementation of glucoamylase and citric acid production in two species of *Aspergillus*. — *Applied Microbiology*, 25, 890-895.
- Chang, L.T. — Terry, C.A. — Tuveson R.W. (1974): The influence of heterokaryotic conidia on the selective recovery of somatic diploids in *Aspergillus niger*. — *Mycologia*, 66, 67-72.
- Chmiel, A. (1973): Przemysł Fermentacyjny i Rolny, 17, 11-12, 29-34.
- Ciegler, A. — Raper, K.B. (1957): Application of heterokaryons of *Aspergillus* to commercial-type fermentations. — *Applied Microbiology* 5, 106-110.
- Clark, D.A. (1962): Submerged citric acid fermentation of ferricyanid treated beet molasses: morphology of pellets of *Aspergillus niger* — *Canadian Journal of Microbiology*, 8, 113-136.
- Dangeard, P.A. (1907): Recherches sur le développement du périthèce chez les ascomycètes. — *Botaniste* 10, 1-385.
- Das, A. (1972): Strain selection in citric acid fermentation - a review — *Current Science*, 41, 593-596.
- Das, A. — Nandi P. (1972): Specific effects of mutagens on *Aspergillus niger* in producing citric acid. — *Folia Microbiologica*, 17, 248-250.



oficiala organo de  
internacia scienca asocio esperantista  
(isae)

Pizo (Italujo), 1981