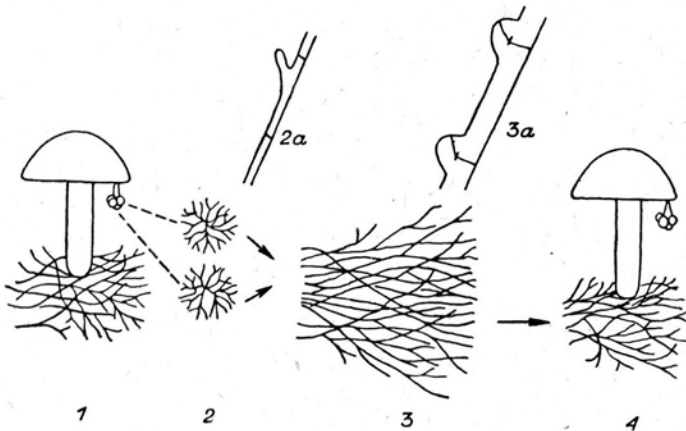


K. ŚWIEŻYŃSKI

## «DETERMINACJA PŁCI» U PODSTAWCZAKÓW

Cykl rozwojowy podstawczaków można przedstawić w ogólnym zarysie następująco (ryc. 1): z zarodników podstawczaków rozwija się grzybnia



Ryc. 1. Schemat cyklu rozwojowego podstawczaków

- 1 i 4 — owocnik z zaznaczoną jedną podstawką z czterema zarodnikami,  
2 — grzybnie monokarionów, rozwijające się z kiełkujących zarodników,  
2<sup>a</sup> — pojedyncza strzęпка monokarionu,  
3 — grzybnia dikarionu powstałego po zetknięciu się strzępek dwóch monokarionów,  
3<sup>a</sup> — pojedyncza strzęпка dikarionu ze sprzążkami.

wielokomórkowa, o pojedynczych jądrach haploidalnych (monokarion). Przy zetknięciu się dwóch grzybni, pochodzących z różnych zarodników wyjściowych, pomiędzy strzępkami obu grzybni powstają anastomozy, a jądra ich wchodzą ze sobą w kontakt i zaczynają dzielić się w sposób zsynchronizowany. W każdej komórce nowoformowanej grzybni, którą nazywamy dikarionem, znajdują się po 2 jądra sprężone, po jednym z każdej grzybni wyjściowej. Taka grzybnia o komórkach dwujądrowych ma grubsze strzęпки. Cechują się one również występowaniem tzw. sprzążek, których formowanie związane jest z podziałami jąder sprężonych. W grzybni dikarionu inicjowane

są zaczątki owocników. W owocnikach różnicują się komórki podstawkowe, wytwarzające po 4 zarodniki. Dopiero w komórce podstawkowej zlewają się jądra sprzężone, a bezpośrednio potem następują podziały mejotyczne, prowadzące do powstania 4 jąder haploidalnych, trafiających do 4 zarodników formowanych na podstawie.

Nie zawsze po spotkaniu się dwóch grzybni następuje formowanie dikarionu. Zależy to od ich typu koniugacyjnego (ang. mating type).

Występowanie zróżnicowania pod względem typu koniugacyjnego zaobserwowano u grzybów już w początkach bieżącego stulecia. Blakeslee (1904) stwierdził u *Mucor mucedo*, że strzępki grzybni nie zawsze są zdolne do formowania zygospor. Powstają one tylko wówczas, gdy nastąpi kontakt dwóch różnych grzybni. Ponieważ między tymi grzybniami Blakeslee nie znalazł żadnych wyraźnych różnic morfologicznych ani fizjologicznych, nie było podstawy do przypisywania tym grzybniom cech «męskich» czy «żeńskich». Stąd dla odróżnienia ich użył symboli algebraicznych, określając jedną jako grzybnię +, a drugą jako grzybnię —. Zygospory powstają jedynie wówczas, gdy nastąpi zetknięcie się grzybni + z grzybnią —.

Wkrótce okazało się, że tego typu zróżnicowanie występuje u bardzo wielu grzybów i to nie tylko niższych, ale również u workowców i podstawczaków. Równocześnie stwierdzono, że zróżnicowanie to nie zawsze układa się w sposób tak prosty, jak u *Mucor mucedo*. Mounce (1922) u *Coprinus*, a Kniep (1922) u *Aleurodiscus* znaleźli, że zarodniki podstawkowe badanych gatunków dzielą się na cztery kategorie. Każda kategoria zarodników tylko z jedną z pozostałych może formować dikariony.

Dalsze badania wykazały, że zjawisko bywa jeszcze bardziej skomplikowane, gdyż u szeregu gatunków znaleziono całe serie typów koniugacyjnych (Whitehouse, 1949).

Obecnie możemy podzielić grzyby na następujące grupy:

1. Gatunki homotalliczne, u których nie wyróżniono typów koniugacyjnych. U takich gatunków grzybnia, pochodząca z jednego zarodnika wyjściowego, jest zdolna do przejścia całego cyklu rozwojowego.

2. Gatunki heterotalliczne, u których istnieją zarodniki o różnym typie koniugacyjnym. Dzielimy je z kolei na dwie grupy:

a) Grzyby o typie koniugacyjnym bipolarnym, determinowanym przez jedną parę lub jedną serię alleli. Pełny cykl rozwojowy odbywa się tylko wówczas, gdy spotkają się grzybnie, z których każda ma inny allel tej serii.

b) Grzyby o typie koniugacyjnym tetrapolarnym. Typ koniugacyjny determinowany jest tutaj przez 2 geny, określane symbolami A i B. Każdy z tych genów może występować w postaci serii alleli:  $A_1, A_2, A_3 \dots A_n$  i podobnie  $B_1, B_2, B_3 \dots B_n$ . Pełny cykl rozwojowy może odbyć się jedynie po zetknięciu się strzępek grzybni, różniących się między sobą allelami zarówno serii A jak i serii B. Do tej grupy należy cały szereg zbadanych bliżej gatunków

podstawczaków, jak *Coprinus lagopus* i *C. fimetarius*, *Schizophyllum commune*, *Collybia velutipes*, *Cyathus stercoreus* i in., a formowanie dikarionów następuje u nich tylko wówczas, gdy spotkają się grzybnie, różniące się allelami A i B (tabela 1).

Tabela 1  
Tetrapolarna determinacja typu koniugacyjnego

Typ koniugacyjny	A <sub>1</sub>			A <sub>2</sub>			A <sub>3</sub>		
	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	B <sub>3</sub>	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	B <sub>3</sub>	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	B <sub>3</sub>
A <sub>1</sub>	B <sub>1</sub>	—	—	—	d	d	—	d	d
	B <sub>2</sub>	—	—	d	—	d	d	—	d
	B <sub>3</sub>	—	—	d	d	—	d	d	—
A <sub>2</sub>	B <sub>1</sub>	—	d	d	—	—	—	d	d
	B <sub>2</sub>	d	—	d	—	—	d	—	d
	B <sub>3</sub>	d	d	—	—	—	d	d	—
A <sub>3</sub>	B <sub>1</sub>	—	d	d	—	d	—	—	—
	B <sub>2</sub>	d	—	d	d	—	—	—	—
	B <sub>3</sub>	d	d	—	d	d	—	—	—

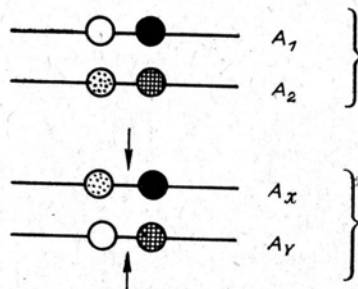
Zdolność formowania dikarionu oznaczono literą d, a brak zdolności formowania dikarionu na skutek obecności jednakowych alleli genu A lub genu B oznaczono znakiem —.

Liczba alleli genów, determinujących typ koniugacyjny, bywa bardzo znaczna. Tak np. u *Polyporus abietinus* Fries i Jackson (1941) w 14 przebadanych owocnikach znaleźli 23 allele z serii A i 26 alleli z serii B.

Ryc. 2. Schemat ilustrujący rekombinację w obrębie genu A  
A<sub>1</sub> i A<sub>2</sub> — Allele genu A w chromosomach jąder wyjściowych

A<sub>x</sub> i A<sub>y</sub> — Allele genu A w chromosomach jąder potomnych, powstałe na drodze «crossing-over» w obrębie genu A.

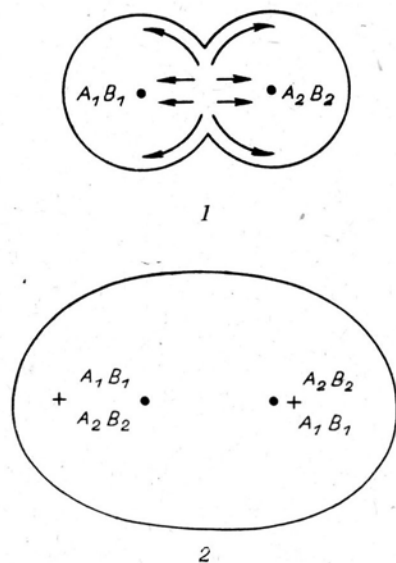
Miejsce «crossing-over» oznaczono strzałkami.



W ostatnich latach poczyniono szereg interesujących obserwacji nad genami A i B.

Raper i in. (1958) wykazali, że gen A u *Schizophyllum commune* ma strukturę złożoną i może ulegać wewnętrznej rekombinacji. Dla zrozumienia tego zjawiska przypuścimy, że gen A złożony jest z 2 podjednostek, które mogą

ulegać wymianie na drodze «crossing-over». Badania Ropera i in. wykazały, że powstają w ten sposób osobniki o nowym typie koniugacyjnym, zdolne do formowania dikarionów z obydwu formami wyjściowymi. Ilustruje to ryc. 2. Ze skrzyżowania osobników  $A_1$  i  $A_2$  (zagadnienie genu B dla uproszczenia pomijamy, oczywiście jednak dla formowania dikarionów i uzyskania owocników grzybnie muszą mieć różne allele genu B), uzyskano na skutek «crossing-over» w obrębie genu A nowe typy koniugacyjne:  $A_x$  i  $A_y$ . Te nowe typy koniugacyjne zachowały się jak nowe allele genu A. Grzybni A formowała dikariony z grzybniami  $A_1$  i  $A_2$  i podobnie grzybni  $A_y$  formowała dikariony z grzybniami  $A_1$  i  $A_2$ . Uzyskiwano również dikariony przy łączeniu grzybni  $A_x$  i  $A_y$ . Podobne wyniki uzyskał Day (1959) u *Coprinus lagopus*.



Ryc. 3. Schemat ilustrujący migrację jąder

- 1 — Sytuacja zaraz po zetknięciu się grzybni. Kierunek migracji jąder oznaczono strzałkami.
- 2 — Sytuacja po kilkudziesięciu godzinach. Obydwie kolonie uformowały jednolity dikarion.

A zatem gen A, determinujący typ koniugacyjny, jest genem złożonym: przynajmniej niektóre z jego alleli są pseudoallelami.

Inny kierunek badań dotyczy funkcjonalnego różnicowania między genami A i B. Przed omówieniem tego zagadnienia musimy omówić zjawisko tzw. migracji jąder. Buller (1931) zaobserwował, że jeśli zetkną się 2 grzybnie o różnych allelach genów A i B, to nie tylko w miejscu zetknięcia formuje się dikarion, ale prócz tego jądra przenikają do grzybni partnerów, przemieszczając się w niej ze znaczną szybkością, sięgając kilku mm/godz. i przekraczającą kilkakrotnie szybkość wzrostu strzępek grzybni. Na ryc. 3 przedstawiono kierunek migracji jąder przy zetknięciu się grzybni. Po upływie pewnego czasu obydwie kolonie grzyba przekształcą się w jednolitą kolonię dikarionu. Fizjologiczne podłoże tego zjawiska nie jest jeszcze kompletnie wyjaśnione.

Szereg autorów uzyskało zlewanie się strzępek grzybni, których jądra

miały jednakowe allele genów A i B. (Świeżyński i Day, 1960). Kombinacje takie najłatwiej formować, łącząc ze sobą grzybnie mutantów o różnych wymaganiach pokarmowych. Np. szczep  $A_1 B_1$  nie ma zdolności syntezy adeniny, ale może syntetyzować cholinę, zaś szczep  $A_2 B_1$  przeciwnie, nie ma zdolności syntetyzowania choliny, ale może syntetyzować adeninę. Żaden z tych szczepów nie może rosnąć z osobna na pożywce minimalnej, pozbawionej witamin i aminokwasów, na której rosną jedynie «dzikie», niezmutowane szczepy. Jeśli strzępki wymienionych szczepów umieścimy w bezpośrednim sąsiedztwie na pożywce minimalnej, to wkrótce uzyskamy silny wzrost grzybni. Nowopowstała grzybnia jest grzybnią różnojądrową, czyli heterokarionem, ponieważ ma jądra obydwu form wyjściowych. Ich wymagania pokarmowe wzajemnie się kompensują, stąd możliwość silnego wzrostu. Grzybnia ta nie jest jednak dikarionem i nie wykazuje jego cech charakterystycznych, ponieważ obydwie jądra mają ten sam allel genu B. W podobny sposób uzyskano różne heterokariony.

U dokładniej przebadanego pod tym względem *Coprinus lagopus* stwierdzono, że można uzyskać heterokariony wszystkich typów, tj. z jednakowymi allelami genu A, z jednakowymi allelami genu B i z jednakowymi allelami obydwu genów, A i B. Heterokariony takie na ogół nie owocują. Przy ich formowaniu zaobserwowano interesujące prawidłowości.

Przy łączeniu grzybni o jądrach z jednakowym allelem genu A występuje opisana wyżej migracja jąder i przemieszczanie się ich prawie równie szybkie, jak przy formowaniu dikarionu. Jak widać więc do formowania takich heterokarionów nie potrzeba stosować pożywki minimalnej, gdyż powstają one bardzo łatwo. W heterokarionach takich nie obserwujemy zsynchronizowanych podziałów jąder i strzępki ich nie mają sprzążek, a obecność różnych jąder z jednakowym allelem genu A wpływa na ogół na słabszy wzrost grzybni.

Przy łączeniu grzybni z jednakowymi allelami genu B nie obserwujemy migracji jąder. Takie heterokariony powstają tylko w miejscu zetknięcia grzybni i jeśli nie stosuje się opisanej wyżej metody uzupełniania wymagań pokarmowych, rzadko kiedy wyrastają. Jeśli się je wyizoluje, rosną na ogół silnie, przy czym wykazują sprzężenie jąder i formowanie sprzążek, choć zwykle nie w pełni wykształconych.

Przy łączeniu grzybni z jednakowymi allelami genów A i B nie obserwujemy ani migracji jąder, ani ich sprzężenia.

Dane te wskazują, że współdziałanie alleli genu B determinuje zdolność migracji jąder, a współdziałanie alleli genu A determinuje zdolność do sprzężenia jąder; tzn. migracja następuje tylko wówczas, gdy allele genu B są różne (allele genu A mogą być jednakowe lub różne), a sprzężenie jąder występuje tylko, gdy są różne allele genu A (natomiast allele genu B mogą być jednakowe albo różne). Obserwacje poczynione u *Coprinus lagopus* są w znacznej mierze zgodne z wynikami uzyskanymi u niektórych innych grzy-

bów, nie wiemy jednak jeszcze czy wyrażają one prawidłowości, ogólnie występujące u podstawczaków.

Zjawiska związane z «determinacją płci» u podstawczaków zaczynamy dopiero poznawać. Nie jest jasny sposób funkcjonowania genów A i B i nie wiemy jak interpretować fakt występowania tak znacznej liczby alleli determinujących typ koniugacyjny. Nie jest wykluczone, że zostanie znalezione wspólne podłoże zjawiska typu koniugacyjnego u grzybów i zjawiska występowania serii genów determinujących samosterylność u roślin wyższych. Jeśli do tego dojdzie, to można się spodziewać, że grzyby, jako dogodniejszy obiekt badań genetycznych, będą właśnie materiałem, na którym to zagadnienie zostanie wcześniej zbadane.

Ciekawe są również niektóre implikacje procesów związanych z typem koniugacyjnym. Regularnie obserwowana migracja jąder pozwala na umieszczanie jąder w obcej cytoplazmie w sposób stosunkowo prosty, co może być przydatne przy badaniu dziedziczenia cytoplazmatycznego. Drugą bardzo ciekawą dziedziną są zjawiska rekombinacji somatycznych, analizowane szczegółowo u innych grzybów (Pontecorvo, 1959). Są wskazówki, że zjawiska tego typu występują również u podstawczaków (Papazjan, 1954, Crowe, 1958), przy czym formowanie różnego rodzaju heterokarionów stwarza tu szczególnie korzystne warunki do badań.

Z Zakładu Genetyki PAN, Warszawa

#### LITERATURA

1. Blakeslee A. F., (1904). Sexual reproduction in the *Mucorineae*, Proc. Am. Acad. of Arts and Sci., 40, 205—319.
2. Buller A. H. R., (1931). Researches of fungi, 4, Longman and Co., London.
3. Crowe L. K., (1958). The exchange of genes between nuclei in a dikaryon, Proc. X Int. Congr. Genet. Montreal, 2, 61—62.
4. Day P. R., (1959). Annual Report of the John Innes Horticultural Institution.
5. Fries N., i Jonasson L., (1941). Svensk. Bot. Tidskr., 35, 177—93.
6. Kniep H., (1922). Über Geschlechtsbestimmung u. Reductionsteilung, Verh. Physic. Medic. Ges. Würzburg, 47, 1—28.
7. Mounce J., (1922). Homothallism and Heterothallism in the Genus *Coprinus*, Trans. Brit. Myc. Soc., 7, 256—269.
8. Papazjan P. H., (1954). Exchange of incompatibility factors between the nuclei of a dikaryon, Science, 119, 691—3.
9. Pontecorvo G., (1959). Trends in genetic analysis, Oxford Univ. Press, London.
10. Raper I. R., Baxter M. G., i Middleton R. B., (1958). The genetic structure of the incompatibility factors in *Schizophyllum commune*, Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 44, 889—900.
11. Świeżyński K. M., i Day P. R., (1960). Heterokaryon formation in *Coprinus lagopus*, J. Genet. Res., 1, 114—28.
12. Whitehouse H. L. K., (1949). Heterothallism and sex in fungi, Biol. Revs, 24, 411—47.