

EDWARD ARSENIUK

**PROCES PŁCIOWY W ROZMNAŻANIU GRZYBÓW Z RODZAJU
*PHYTOPHTHORA***SEXUAL REPRODUCTION IN THE MOLDS OF THE GENUS *PHYTOPHTHORA***Wstęp**

Grzyby z rodzaju *Phytophthora* są bardzo groźnymi patogenami roślin we wszystkich strefach klimatycznych ziemskiego globu. Atakowi tych patogenów nie są w stanie oprzeć się nie tylko jednoroczne rośliny zielne, takie jak: ziemniak, pierwiosnek, lucerna, ale też i potężne drzewa kauczukowe, sekwoje, palmy, jabłonie, czereśnie, wiśnie i szereg innych. Zakres roślin-gospodarzy tych patogenów jest bardzo szeroki. Oprócz gatunków patogenicznych dla roślin do rodzaju *Phytophthora* należą również gatunki saprofityczne [52].

Fitopatogeniczne gatunki z rodzaju *Phytophthora* są sprawcami groźnych epidemii chorób. Najczęściej cytowaną i niewątpliwie najgroźniejszą była epidemia zarazy ziemniaka spowodowana przez *P. infestans* (Mont.) de Bary w połowie XIX wieku w Europie Zach., głównie w Irlandii. Epidemia ta, niszcząc setki hektarów upraw ziemniaka, zmieniła los setek tysięcy ludzi. Była przyczyną głodu i masowej migracji ludności do Ameryki Płn. za chlebem. W czasie wybuchu epidemii grzyb ten miał nazwę *Botrytis infestans* Mont. 1845. W trzydzieści lat później tj. w 1876 roku znany mykolog Anton de Bary zmienił nazwę rodzajową grzyba na *Phytophthora*, zaś *P. infestans* (Mont.) de Bary opisał jako typ gatunkowy w tym rodzaju [43, 45].

Od tamtego czasu po dzień dzisiejszy ten patogen ziemniaków, pomidorów i innych roślin z rodziny *Solanaceae* wzbudza ciągle zainteresowanie badaczy. Bez przesady można stwierdzić, że dotychczas żadnemu innemu patogenowi roślin nie poświęcono tyle uwagi i żmudnej pracy, w najprzeróżniejszych aspektach, co *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary.

Niemalże od chwili opisanego gatunku *P. infestans* przez de Bary'ego badacze poświęcali wiele uwagi rozmnażaniu płciowemu tego i innych wyodrębnionych ga-

tunków grzybów w rodzaju *Phytophthora*. Pierwszym badaczem, który obserwował oospory *P. infestans* w porażonych bulwach ziemniaka był Smith, a miało to miejsce w 1876 roku [4, 43, 45]. Pomimo licznych badań tworzenie się zarodników rozmnażania płciowego, oospor, u gatunków *Phytophthora* nie jest do końca wyjaśnione.

Łęgnie (oogonia) z amfigenicznymi plemniami (anteridia) wytworzonymi przez *P. infestans* w czystej kulturze na pożywce owsianej otrzymał Clinton w 1911 roku [4]. Badacz ten utrzymywał, że obserwowane oogonia i anteridia pochodziły z różnych strzępek. Hodując izolaty *P. infestans* w kojarzonych kulturach z *P. phaseoli* Thaxter i *P. cactorum* (Lebert and Cohn) Schroeter zdołał otrzymać więcej zarodników przetrwalnikowych tworzonych przez *P. infestans*. Ponieważ łęgnie i plemniki pochodziły z różnych strzępek, powstałe oospory Clinton nazwał mieszańcami.

Pojęcie heterotalizmu i homotalizmu

Ponieważ wyjaśnienie procesu płciowego u gatunków *Phytophthora* nie jest możliwe bez używania pojęć heterotalizmu i homotalizmu niezbędne staje się podanie krótkiej i jednoznacznej definicji tych terminów.

Według Blakesleego [34, 48] heterotalizm jest to taki stan w rozwoju płciowym grzyba, gdy koniugacja jest możliwa tylko w wyniku współdziałania dwóch różnych plech. Whitehouse [48] wyróżnia dwa rodzaje heterotalizmu. Są to heterotalizm morfologiczny i heterotalizm fizjologiczny.

Heterotalizm morfologiczny (haploidalna dwucyjnosc) występuje wówczas, gdy dwie plechy produkują gametangia, które same, lub tylko gametami różnią się morfologicznie. Jedno z tych gametangiów określane jest jako męskie, drugie zaś jako żeńskie.

W przypadku heterotalizmu fizjologicznego (haploidalnej niezgodności) proces płciowy może mieć miejsce tylko wtedy, gdy plechy będą różniły się fizjologicznie. Gametangia i gamety zaś nie muszą ukazywać stałych różnic w wyglądzie zewnętrznym.

Takie plechy uważane są za zróżnicowane w typie zgodności bądź inaczej w typie kojarzeniowym (ang. compatibility type, mating type). Należy podkreślić, że zjawiska heterotalizmów morfologicznego i fizjologicznego wzajemnie nie wykluczają się i mogą występować w obrębie jednego gatunku grzyba. Za przykład mogą posłużyć heterotaliczne gatunki rodzaju *Phytophthora*.

W przeciwieństwie do heterotalizmu, homotalizm jest stanem, który nie wymaga dwóch różnych plech dla wystąpienia procesu płciowego u danego grzyba.

U grzybów znane są dwa rodzaje homotalizmu. Są to: homotalizm pierwotny i wtórny. Wg Whitehouse'a [48] homotalizm pierwotny występuje wówczas gdy homokariotyczny gatunek grzyba z jądrami o tym samym genotypie jest zdolny do reprodukcji płciowej bez współdziałania innego zarodnika lub plechy. Innymi słowy, gatunek grzyba może być uważany za pierwotnie homotaliczny, jeśli jest w stanie przejść płciowy cykl życiowy z pojedynczego zarodnika posiadającego jądra komórkowe powstałe w drodze mitozy jądra rodzicielskiego.

Homotalizm wtórny występuje wówczas, gdy gatunek grzyba jest w zasadzie heterotaliczny, lecz jądra zgodnych typów kojarzeniowych są włączane do każdego zarodnika w momencie jego tworzenia się. Tak więc, jeśli dochodzi do rozmnażania płciowego takiej jednozarodnikowej kultury grzyba łączą się ze sobą jądra różnych typów zgodności. Faktycznie komórki i zarodniki takiej kultury są heterokariotyczne. Oba wyżej opisane rodzaje homotalizmu występują u rodzaju *Phytophthora*.

Homotalizm i heterotalizm u *Phytophthora* spp.

Przez dziesiątki lat obecnego stulecia badacze toczyli spór o występowanie heterotalizmu u rodzaju *Phytophthora*. Takie gatunki jak *P. cactorum*, *P. megasperma* łatwo tworzyły oospory w kulturach jednozarodnikowych i były uważane za homotaliczne. Inne gatunki tworzyły oospory sporadycznie i tylko niektórzy mieli łut szczęścia by je obserwować.

W 1931 roku jeden z badaczy rodzaju *Phytophthora*, Tucker [43], napisał w monografii o tym rodzaju: „tendencja do tworzenia oospor przez krzyżowane kultury różnych gatunków nie wydaje się tak ważna, aby uważać tę cechę za kryterium taksonomiczne”.

Nawet Waterhouse [46] w kluczu do identyfikacji gatunków *Phytophthora* wydanym ponad trzydzieści lat później nie uwzględniła heterotalizmu jako głównego kryterium taksonomicznego. Aczkolwiek przyznała, że do wytworzenia oospor przez niektóre gatunki konieczne jest krzyżowanie.

Spory na temat heterotalizmu niektórych gatunków *Phytophthora* trwają dotychczas. Ogólnie uważa się, że homotalizm i heterotalizm u *Phytophthora* są stanami wzajemnie nie wykluczającymi się. Gatunki heterotaliczne mogą wykazywać pewne właściwości homotaliczne przez wsobne tworzenie oospor w kulturach pojedynczych, ale liczba tych oospor jest niewielka.

Po latach dociekań udowodniono, że zarówno gatunki homotaliczne jak i heterotaliczne są obupłciowe, tzn. ta sama plecha jest w stanie tworzyć gametangia męskie i żeńskie, z tym że u gatunków homotalicznych z łatwością dochodzi do procesu płciowego, wynikiem którego jest wytworzenie oospor. Natomiast u gatunków heterotalicznych gametangia nie kojarzą się z powodu bariery samoniezgodności [1, 2, 3, 5, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 28, 29, 33, 40, 41, 42, 43, 44, 45].

W wyniku prac badaczy amerykańskich i meksykańskich [13, 17, 28, 41] przeprowadzonych z izolatami *P. infestans*, pochodzącymi z różnych części świata, ustalono, iż u tego gatunku występują dwa typy kojarzeniowe A_1 i A_2 . Typ kojarzeniowy A_2 ograniczony jest tylko do Meksyku, natomiast typ A_1 rozprzestrzeniony jest we wszystkich strefach klimatycznych kuli ziemskiej.

Galindo i Gallegly [13, 17] udowodnili, że izolaty *P. infestans* wewnątrz jednego typu zgodności, inaczej typu kojarzeniowego, są wysoce samoniezgodne, tzn. między nimi w zasadzie nie może dojść do procesu płciowego. Jednakże pod wpływem stymulującego działania różnych czynników środowiska mogą wsobnie wytworzyć nieliczne oospory. Jeśli na tej samej szalce zostaną zaszczerpione dwa izolaty tego

samego typu kojarzeniowego, ich grzybnie będą się wzajemnie odpychać tworząc tzw. strefę odpychania (ang. repulsion zone). Galindo i Gallegly [13] dokonując międzytypowych kojarzeń izolatów *P. infestans* dowiedli również, że ekspresja cech męskich bądź żeńskich danego izolatu zależy od siły ekspresji tych samych cech przez jego kontrpartnera (tab. I). Dowolny izolat może funkcjonować głównie lub

TABELA I

Płciowa reakcja trzech izolatów typu A₂ i 9 izolatów typu A₁ podczas kojarzeń międzytypowych [13].

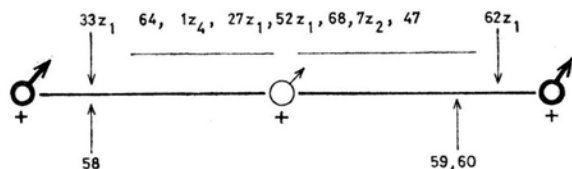
Izolaty typu A ₁	Płciowa reakcja izolatów typu A ₂		
	58	59	60
1 ₂₄	0 0 0 0 0 0 0	+ + + +	+ + + 0 +
7 ₂₂	0 0 0 0 0 0 0	+ + 0 + + + 0 0 0 0 0 0 0 + + + + + +	+ + + + + + + 0 0
27 ₂₁	0 0 0 0 0 0 0	+ + + 0	+ 0 + + + +
33 ₂₁	0 0 0 + + 0 + 0 + + 0 + 0	+ + + + +	+ + + + + + + +
47	0 0 0 0	0 0 0 + +	+ + + + 0 +
52 ₂₁	0 0 0 0 0 0 0 0	+ + + + + + + + 0 0 +	0 0 0 0 + + +
62 ₂₁	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 + + 0	0 0 + + + 0 0 0
64	0 0 0 0	+ + +	+ + +
68	0 0 0 0	0 + + + 0	+ + + 0

Symbole: dla izolatów typu A₁ — 0 = lęgnia, + = plemnica; dla izolatów typu A₂ — 0 = plemnica, + = lęgnia.

tylko częściowo jako donor plemni w jednych krzyżówkach, w innych zaś tworzy tylko lęgnie. W jeszcze innych krzyżówkach może tworzyć jednocześnie lęgnie i plemnice. W ten sposób ci dwaj badacze zademonstrowali, że zróżnicowanie płciowe u *P. infestans* nie jest cechą absolutną, lecz względną. Izolaty posiadają różne stopnie ekspresji cech płciowych. Ich rozpiętość sięga od bardzo silnych cech męskich do bardzo silnych cech żeńskich. Jeśli są kojarzone izolaty o zbliżonej sile ekspresji płci zazwyczaj zachowują się hermafrodytycznie (ryc. 1).

Uzyskane wyniki wskazują, że każdy izolat jest zasadniczo obupłciowy. Wg Galindo i Gallegly [13] oznacza to, że zgodność lub niezgodność płciowa dwóch izolatów jest niezależna od ekspresji cech płci. Takie dwa izolaty różnią się po prostu fizjologicznie. Jeden z nich może być oznaczony „-”, drugi „+”. Gdy spotkają

się izolaty „+” i „-” wówczas dochodzi do procesu płciowego i są tworzone oospory. Natomiast gdy spotkają się dwa izolaty „-” lub dwa izolaty „+”, proces płciowy nie ma miejsca. Uważa się [13, 14, 15, 16, 17, 18], że ekspresja płci u gatunków rodzaju *Phytophthora* jest cechą ilościową kontrolowaną przez wiele genów. Liczne badania dowiodły też, że heterotalizm u gatunków tego rodzaju uwarunkowany jest fizjologicznie [3, 13, 14, 15, 17, 18, 20, 28, 51].



Ryc. 1. Względna siła ekspresji cech płci 12 izolatów *P. infestans* reprezentujących typy zgodności A_1 i A_2 . Izolaty po lewej stronie od środka posiadają silniejsze cechy męskie, zaś izolaty po prawej stronie silniejsze cechy żeńskie [13]

Dotychczas jednakże istnieje sporo kontrowersji co do hetero- bądź homotalizmu niektórych gatunków. Kilkanaście lat temu Savage ze współpracownikami [40] podjął próbę podziału gatunków rodzaju *Phytophthora* na hetero- i homotaliczne. Za gatunki heterotaliczne uznano takie, których izolaty w pojedynczych kulturach zawodziły w tworzeniu oospory, lub też tworzyły je tylko w niewielkiej liczbie. Natomiast tworzyły one oospory bardzo liczne, kiedy były kojarzone z izolatami komplementarnymi.

Na podstawie przeprowadzonych badań gatunki rodzaju *Phytophthora* pogrupowano następująco:

Homotaliczne — 1. Większość plemni parageniczna: *P. cactorum* (Lebert i Cohn) Schroeter, *P. citricola* Sawada, *P. lateralis* Tucker i Milbrath, *P. megasperma* Drechsler, *P. pori* Foister i *P. syringae* (Klebahn) Klebahn.

2. Plemnio amfigeniczne u większości: *P. boehmeriae* Sawada, *P. erythroseptica* Pethybridge, *P. fragariae* Hickman, *P. heveae* Thompson, *P. hibernalis* Carne, *P. illicis* Buddenhagen, *P. phaseoli* Thaxter, *P. richardiae* Buisman.

Heterotaliczne: Typy zgodności A_1 i A_2 : *P. arecae* (Coleman) Pethybridge, *P. colocasiae* Raciborski, *P. meadii* Mc Rae, *P. mexicana* Hotson i Hartge, *P. parasitica* Waterhouse, *P. parasitica* var. *nicotianae* (Dastur) Waterhouse, *P. cambivora* (Petri) Buisman, *P. capsici* Leonian, *P. cinnamomi* Rands, *P. citrophthora* (Smith i Smith) Leonian, *P. cryptogea* Pethybridge i Lafferty, *P. drechsleri* Tucker, *P. infestans* (Montagne) de Bary i *P. palmivora* (Butler) Butler.

Należy wspomnieć, iż nie są to wszystkie gatunki należące do rodzaju *Phytophthora*. Jest rzeczą niezmiernie trudną zebrać izolaty reprezentujące wszystkie gatunki. Ponadto co do istnienia niektórych gatunków między badaczami istnieje wiele kontrowersji z powodu ich sztucznego tworzenia w przeszłości.

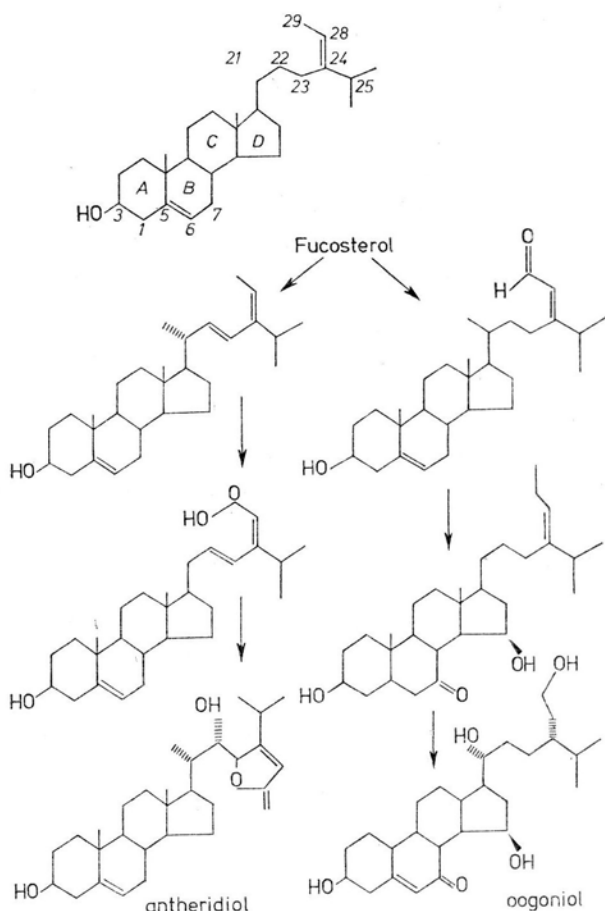
Specyficzna indukcja tworzenia oospor

Czynniki indukujące tworzenie się oospor u gatunków z rodzaju *Phytophthora* dzielone są na dwie kategorie:

1. specyficzne determinanty genetyczne odpowiedzialne za proces płciowy, a są nimi geny płci.
2. czynniki niespecyficzne wpływające głównie na liczbę tworzonych gametangiów i oospor.

W rozmnażaniu płciowym heterotalicznych gatunków *Phytophthora* występuje hybrydacja wewnątrzgatunkowa, hybrydacja międzygatunkowa i indukowana wsobność [1, 3, 5, 13, 15, 17, 20, 28, 29, 33, 40, 41, 42, 51].

Aby doszło do krzyżowania muszą być obecne dwa fizjologicznie przeciwne izolaty grzyba wzajemnie indukujące swoje plechy do tworzenia gametangiów. Jeśli plemnica jednego izolatu wejdzie w kontakt płciowy z lęgnią drugiego izolatu, wówczas taki proces można nazwać krzyżowaniem (hybrydacją), zaś powstałe oosporę krzyżówkami (hybrydami), bądź mieszańcami.



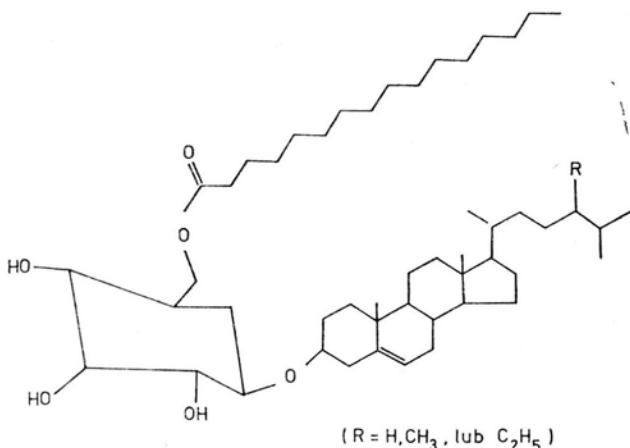
Ryc. 2. Przypuszczalna droga syntezy antheridiolu oogoniolu [31]

Jeśli wytworzone na strzępkach grzybni lęgnię i plemnie nie krzyżują się, lecz wchodzą w kontakt płciowy w obrębie tylko jednego izolatu, wówczas taki proces nazywany jest indukowaną wsobnością.

Od dawna zastanawiano się, co jest czynnikiem indukującym tworzenie się gametangiów u *Phytophthora*. Istnieje duże prawdopodobieństwo, iż powodują to hormony lub hormon wydzielany do podłoża. W przypadku *Phytophthora* spp. i *Pythium* spp. nikomu jeszcze nie udało się zidentyfikować domniemywanych hormonów płciowych. Istnieją jednakże pośrednie dowody występowania tych hormonów. Tak na przykład inny grzyb z klasy *Oomycetes*, rz. *Saprolegniales*, *Achlya* wydziela dwa rodzaje hormonów płciowych do podłoża [23, 27, 31, 37, 38]. Antheridiol i oogoniol są pochodnymi fukosterolu, związku z grupy steroidów. Na ryc. 2 przedstawione są przypuszczalne drogi ich syntezy przez *Achlya* sp. [31]. Hormony te wydzielane do podłoża stymulują tworzenie gametangiów przez grzybnie komplementarnych typów kojarzeniowych.

Ponieważ *Phytophthora* i *Pythium* należą do tej samej klasy co *Achlya*, przypuszcza się, że również u tych gatunków występują hormony steroidowe [24, 27, 30, 44, 49]. Cechą niekorzystną dla tych dwóch patogenów jest ich niezdolność do syntezy steroli. Muszą więc czerpać te związki z podłoża. Fakt ten odkryto dopiero wówczas, gdy wprowadzono do hodowli tych grzybów pożywki syntetyczne. Liczne badania [7—11, 21, 36, 49] wykazały, że najodpowiedniejszymi sterolami są 3 — β — hydroxysterole z Δ^5 podwójnym wiązaniem i 10 — C łańcuchu bocznym. Warunki te najlepiej spełniają sterole o 29 atomach węgla np. — β — sitosterol. Są one bardzo aktywne i łatwo pobierane przez strzępki *Phytophthora* i *Pythium*.

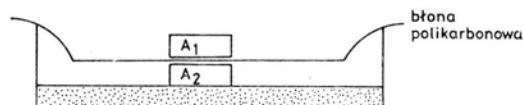
Celem stwierdzenia, czy sterole mogą być wykorzystywane do syntezy hormonów płciowych Mc Morris i White [30] przeprowadzili doświadczenie z metabolizmem cholesterolu przez *Pythium sylvaticum* Campbell i Hendrix. W wyniku otrzymali polarny metabolit β — D — glukozyd — 6' — 0 — palmitynianu (ryc. 3). Podobne metabolity badacze ci ekstrahowali ze strzępek *P. sylvaticum*, gdy jako substraty podawane były β — sitosterol i campasterol. Interpretując wyniki doświadczeń



Ryc. 3. β — D — glukozyd palmitynianu wyekstrahowany ze strzępek *Pythium sylvaticum* [30]

Mc Morris i White wysunęli hipotezę, że grzyb przechowuje sterole w formie polarnych metabolitów, które mogą pełnić funkcje składników błon cytoplazmatycznych, lub służyć jako substraty do syntezy hormonów płciowych.

Inny ewidentny przykład produkcji hormonów płciowych przez *Phytophthora* opublikował tajwański badacz Ko [24, 26]. Do swojego doświadczenia Ko użył izolaty gatunków heterotalicznych *P. cinnamomi*, *P. parasitica*, *P. palmivora*. Krążki agarowe z grzybnią komplementarnych typów zgodności umieszczone po obu stronach błony polikarbonowej w szalce Petry'ego (ryc. 4). Błony polikarbonowej



Ryc. 4. Szalka Petry'ego z komplementarnymi izolatami *P. cinnamomi*, *P. parasitica* i *P. palmivora* [25]

użyto dlatego, że strzępki grzybni nie są w stanie jej przeniknąć, natomiast hormony jako substancje lotne lub płynne z łatwością ją przenikają. Kultury grzybów inkubowano w całkowitej ciemności w temperaturze 24°C. Oospory tworzyły się wsośnie, ponieważ błona polikarbonowa uniemożliwiła splatanie się strzępek przeciwstawnych typów zgodności A₁ i A₂. Jest to kolejny przykład obupłciowości heterotalicznych gatunków *Phytophthora*. Stało się oczywiste, że gatunki heterotaliczne są zdolne do samozapłodnienia, lecz bariera samoniezgodności uniemożliwia im to. Gdy ta bariera zostaje przełamana ma miejsce pełny proces płciowy włącznie z wytworzeniem zarodników przetrwalnikowych (tab. II). Otrzymane wyniki sugerują, że istnieje przenikalny hormon płciowy produkowany przez typy zgodności A₁ i A₂. Typ A₂ wydziela więcej hormonu płciowego, co się uwidacznia ilością wytworzonych oospor przez izolaty typu A₁ (tab. II).

TABELA II

Indukowanie tworzenia oospor przez dyfundujące hormony płciowe produkowane przez przeciwstawne typy zgodności *P. cinnamomi* (Pci), *P. parasitica* (Par) i *P. palmivora* (Pal) [25].

Kombinacja		Oospory (liczba cm ⁻²)	
A ₁ (góra)	× A ₂ (dół)	A ₁	A ₂
Pci	Pci	5	0
Par	Pci	6 122	0
Pal	Pci	18	0
Pci	Par	216	1 633
Par	Par	16 837	469
Pal	Par	21 224	830
Pci	Pal	0	27
Par	Pal	3 265	61
Pal	Pal	563	28

Dane prezentowane w tab. III ukazują, że większa zdolność tworzenia oospor cechuje kultury starsze, niezależnie od tego, czy są to krzyżówki wewnątrz- czy też międzygatunkowe. Izolaty z grupy A_1 również tworzą więcej oospor niż izolaty A_2 .

TABELA III

Wpływ wieku kultury grzyba na produkcję hormonów płciowych przez *P. cinnamomi* (Pci), i *P. parasitica* (Par) i *P. palmivora* (Pal) [25].

Kombinacja			Oospory (liczba cm^{-2})	
A_1 (góra)	×	A_2 (dół)	A_1	A_2
Pci (m)		Pci (s)	0	8
Pci (s)		Pci (m)	41	0
Par (m)		Par (s)	1 372	1 083
Par (s)		Par (m)	80 102	0
Par (m)		Pal (s)	182	9
Pal (s)		Pal (m)	4 592	0
Pci (m)		Par (s)	361	561
Pci (s)		Par (m)	2 041	0
Par (m)		Pci (s)	7	22
Par (s)		Pci (m)	20 918	0

s — kultura 6-dniowa, m — kultura 1-dniowa

Ogólny wniosek z wyników prezentowanych w tabeli II i III jest taki, że kultury młode i izolaty z typu zgodności A_2 wydzielają więcej hormonów płciowych, podczas gdy starsze kultury i izolaty A_2 są wrażliwsze na działanie hormonów.

W tabeli IV zestawiono wyniki, jakie Ko [27] otrzymał, badając odległość, na jaką hormon płciowy może przenikać.

TABELA IV

Indukcja tworzenia oospor przez hormony płciowe komplementarnych typów zgodności *P. parasitica* zależnie od odległości kultur [26]

Materiał oddzielający	Odległość dyfuzji (cm)	Oospory (liczba cm^{-2})	
		A_1	A_2
1 błona nukleporowa	10	32 423	1 939
3 błony nukleporowe	30	21 020	842
1 filtr miliporowy	135	842	318
2 błony nukleporowe plus	3 020	86	334
1 krążek agarowy		0	0

Kultury 6-dniowe. Krążki agarowe ($15 \times 10 \times 3$ mm). *P. parasitica* A_2 umieszczono w środku płytki Petry'ego, przykrywano materiałem oddzielającym, na który nakładano krążek *P. parasitica* A_1 .

Ilość hormonu osiągającego izolat komplementarny była odwrotnie proporcjonalna do odległości dyfuzji, która maksymalnie wynosiła około 3 mm.

Wyniki przedstawione w tabeli V pochodzą z doświadczenia, w którym Ko [26] chciał udowodnić, że gatunki homotaliczne są w stanie indukować tworzenie oospor przez gatunki heterotaliczne. Homotaliczny gatunek *P. hevae* indukował

TABELA V

Tworzenie oospor przez izolaty A_1 i A_2 *P. parasitica* na skutek indukcji przez dyfundujące hormony płciowe produkowane przez homotaliczne izolaty *Phytophthora* [26]

Producent hormonu	Producent oospor (liczba cm^{-2})	
	<i>P. parasitica</i> A_1	<i>P. parasitica</i> A_2
<i>P. hevae</i> -izolat z avocado	6 735	918
<i>P. hevae</i> -izolat z drzewa kauczukowego	2 819	255
<i>P. megasperma</i> var. sojajae rasa 1	0	727
<i>P. megasperma</i> var. sojajae rasa 3	0	1 870
<i>P. cactorum</i>	232	0
<i>P. katsurae</i>	325	0

tworzenie oospor przez izolaty A_1 i A_2 *P. parasitica*. Podobnie izolat *P. megasperma* var. sojajae stymulował tworzenie oospor przez izolat A_2 , lecz nie przez A_1 *P. parasitica*. *P. cactorum* i *P. katsurae* odwrotnie, stymulowały tworzenie oospor przez izolaty A_1 , lecz nie przez A_2 *P. parasitica*. Wyniki te sugerują, że rozmnażanie płciowe homotalicznych gatunków *Phytophthora* może być również związane z działalnością hormonów płciowych.

Według wielu badaczy [24—26, 30, 32] rozmnażanie płciowe gatunków *Phytophthora* sp. składa się z 2 niezależnych procesów, syntezy hormonu i reakcji na jego działanie. Prezentowane wyżej dane wskazują, że różne izolaty, nawet z tego samego typu zgodności, różnią się ilością produkowanych hormonów płciowych. Reakcja na działanie hormonu może być warunkowana przez obecność aktywnego receptora takiego hormonu. Przykładowo proces ten u *Achlya* przebiega następująco. Antheridiol produkowany jest przez somatyczne strzępki grzybni, receptorem są strzępki szczepu męskiego wytwarzające plemniki, które z kolei wydzielają oogniol dyfundujący do receptora — strzępek szczepu żeńskiego reagujących tworzeniem oogoniów. Czasem jednakże zdarza się, że niektóre z izolatów są niewrażliwe na działanie hormonu. Wyjaśniane to jest nieobecnością wrażliwego receptora, bądź obecnością receptora nieaktywnego, który nie reaguje na działający hormon płciowy. W przyrodzie tego typu zjawisko spotykane jest dość często na skutek występowania wtórnego homo-

talizmu u heterotalicznych gatunków *Phytophthora*. Dowodem tego są badania wykonane przez Mortimera i współpracowników [32]. Potomstwo jednej oospory *P. drechsleri* może być typu zgodności A_1 i A_2 , bądź wtórnie homotaliczne zawierające zarówno jądra typu A_1 , jak i A_2 (tab. VI). To rozszczepienie cech u potomnych zarodników pływkowych nastęrcza badaczom wiele trudności w identyfikacji izo-

TABELA VI

Częstotliwość (%) otrzymywania typów A_1 , A_2 i A_1A_2 w 3 sektorach kultur *Phytophthora drechsleri* wyprodukowanych z pojedynczych zoospor — potomstwa jednej oospory w trzech aseksualnych pokoleniach. W nawiasach liczebności próbek [32]

Sektor 1	Sektor 2	Sektor 3
Zoospory (44)	Zoospory (43)	Zoospory (62)
A_1 0	A_1 0	A_1 3,2
A_2 59,1	A_2 0	A_2 82,3
A_1A_2 40,9	A_1A_2 100	A_1A_2 14,5
Zoospory (45)	Zoospory (31)	Zoospory (28)
A_1 22	A_1 0	A_1 0
A_2 73,4	A_2 0	A_2 100
A_1A_2 24,4	A_1A_2 100	A_1A_2 0
Zoospory (61)	Zoospory (28)	Zoospory (49)
A_1 3,3	A_1 0	A_1 8,2
A_2 65,5	A_2 0	A_2 79,6
A_1A_2 31,2	A_1A_2 100	A_1A_2 12,2

latów heterotalicznych gatunków *Phytophthora* sp. Po pierwsze, są przypadki, kiedy zmuszenie izolatu do wytworzenia oospor jest rzeczą niezwykle trudną, czasem wręcz niemożliwą. Autor niniejszego artykułu w swojej pracy z heterotalicznymi gatunkami *Phytophthora* napotykał takie izolaty, przy których zawiodły wszystkie metody indukcji wytworzenia oospor. Co najwyżej, niektóre z tych izolatów wosbnie tworzyły po kilka zarodników przetrwalnikowych. Po drugie, ustalenie cech gatunkowych dla heterotalicznych gatunków *Phytophthora* sp. w tym względzie nie może być ściśle. Jest to między innymi przyczyną tworzenia nowych, sztucznych gatunków, które później zostają unieważniane, lub sprowadzane do synonimów. Między innymi z tego powodu w przyszłości taksonomia heterotalicznych gatunków *Phytophthora* może ulec zmianie.

Ko [26] biorąc za podstawę produkcję hormonu płciowego i reakcję izolatów na jego działanie dzieli gatunki *Phytophthora* na 16 rodzajów chemicznie regulowanego rozmnażania płciowego (tab. VII).

Badacz ten te rodzaje uszeregowuje w trzech grupach:

- I — krzyżowo indukowane — gatunki heterotaliczne
- II — samoindukowane — gatunki homotaliczne

Rodzaje chemicznie regulowanego rozmnażania płciowego wśród gatunków *Phytophthora* sp. [26]

Typ płciowy	Produkcja hormonów		Reakcja na hormon	
	Hormon α_1	Hormon α_2	Hormon α_1	Hormon α_2
	Grupa I: krzyżowanie indukowane (gat. heterotaliczne)			
1	+	-	-	+
2	+	-	-	-
3	-	-	-	+
4	-	+	+	-
5	-	+	-	-
6	-	-	+	-
7	+	+	-	-
8	-	-	+	+
	Grupa II: samoindukcja (gat. homotaliczne)			
9	+	-	+	-
10	-	+	-	+
11	+	-	+	+
12	-	+	+	+
13	+	+	+	-
14	+	+	-	+
15	+	+	+	+
	Grupa III: neutralna			
16	-	-	-	-

α_1 — hormon produkowany przez typ zgodności A₁

α_2 — hormon produkowany przez typ zgodności A₂

„+” — produkcja hormonu, bądź tworzenie oospor

„-” — brak hormonu, bądź brak tworzenia oospor

III — grupa neutralna — dla izolatów niekomplementarnych, które nie są w stanie indukować tworzenia oospor, ani też nie reagują na indukcję i nie tworzą oospor.

Jest to podział słuszny, gdyż badacze *Phytophthora* w swojej pracy rzeczywiście napotykały te trzy grupy izolatów.

LITERATURA

- [1] Apple J. L., 1959. Sexuality of *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*. *Phytopathology* 49:37—43.
- [2] Ashby S. F., 1929. Strains and taxonomy of *Phytophthora palmivora* Butler (P. Faberi Maubl.). *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 14:18—38.
- [3] Boccas B. and Zentmyer G. A., 1976. Genetical studies with interspecific crosses between *Phytophthora cinnamomi* and *Phytophthora parasitica*. *Phytopathology* 66:477—484.
- [4] Clinton G. P., 1911. Oospores of potato blight. *Science* 33:744—747.
- [5] Cohen M., 1950. Direct observation of the formation of sexual bodies by combination of hyphae of two *Phytophthora* isolates. *Phytopathology* 40:5—6.
- [6] Drechsler Ch., 1930. Repetitional diplanetism in the genus *Phytophthora*. *J. Agric. Res.* 40 no. 6.
- [7] Elliot C. G. et al., 1966. The sterol requirement of *Phytophthora cactorum*. *Gen. Microbiol.* 42:425—435.

- [8] Elliot C. G., 1972, Sterols and the production of oospores by *Phytophthora cactorum*. J. of General Microbiology 72: 321-327
- [9] Elliot C. G., Sansome E., 1977. The influence of sterols on melons in *Phytophthora cactorum*. J. of General Microbiology 98:141—154.
- [10] Elliot C. G., 1977. Sterols in fungi: their functions in growth and reproduction. Advances in Microbiol Physiology 15:121—173.
- [11] Elliot C. G., 1979. Influence of the structure of the sterol molecule on sterol-induced reproduction in *Phytophthora cactorum*. J. of General Microbiology 115(1):117—126.
- [12] Erwin D. C. et al., 1963. Variation in the genus *Phytophthora*. Annual Review of Phytopathology 1:375—396.
- [13] Galindo A. J. and Gallegly M. E., 1960. The nature of sexuality in *Phytophthora infestans*. Phytopathology 50:123—128.
- [14] Galindo-Alonso, Jorge, 1964. Genetical and cytological studies on *Phytophthora capsici* in relation to variability. Ph. D. Dissertation, January, U. C. R.
- [15] Galindo J. A. and Zentmyer G. A., 1969. Mating types in *Phytophthora cinnamomi*. Phytopathology 54:238—239.
- [16] Galindo A. J. and Zentmyer G. A., 1967. Genetical and cytological studies of *Phytophthora* strains pathogenic to pepper plants. Phytopathology 57:1300—1304.
- [17] Gallegly M. E. and Galindo A. J., 1958. Mating types and oospores of *Phytophthora infestans*. Phytopathology 48:274—277.
- [18] Gallegly M. E., 1970. Genetics of *Phytophthora*. Phytopathology 60:1135—1140.
- [19] Gooday G. H., 1974. Fungal sex hormones. Annual Review Biochemistry 43:35—49.
- [20] Haasis F. A., Nelson R. R., Marx D. H., 1964. Morphological and physiological characteristics of mating types of *Phytophthora cinnamomi*. Phytopathology 54:1146—1152.
- [21] Harnish W. N. and Mertz W. G., 1964. The effect of β sitosterol on oospore production by species of *Phytophthora* Phytopathology 54:747.
- [22] Khaki I. A. and Shaw D. S., 1974. The inheritance of drug resistance and compatibility type in *Phytophthora drechsleri*. Genet. Res. 23:75.
- [23] Klemmer H. W., Lenney J. F., 1965. Lipids stimulating sexual reproduction and growth in Pythiaceous fungi. Phytopathology 55:320—323.
- [24] Ko W. H., 1979. Hormone production by heterothallic and homothallic *Phytophthora*. Phytophthora Newsletter, no 7:3.
- [25] Ko W. H., 1978. Heterothallic *Phytophthora*: Evidence for hormonal regulation of sexual reproduction. J. of General Microbiology 107:15—18.
- [26] Ko W. H., 1980. Hormonal regulation of sexual reproduction in *Phytophthora*. J. of General Microbiology 16:459—463.
- [27] Kochert G., 1978. Sexual pheromones in algae and fungi. Annual Review of Plant Physiology 29: 461—486.
- [28] Laviola A. C. and Gallegly M. E., 1969. Segregation for physiologic races and compatibility types among F_1 cultures of *Phytophthora infestans*. Phytopathology 59:1557—1558 (Abst.).
- [29] Leonian L. M., 1931. Heterothallism in *Phytophthora*. Phytopathology 21:941—955.
- [30] Mc Morris T. C. and Witte R. M., 1977. Cholesterol β -D glucoside — 6 — C — palmitate, a metabolite of *Pythium sylvaticum*. Biochim. Biophys. Acta 486:308.
- [31] Mc Morris T. C., 1978. Sex hormones of the aquatic fungus *Achlya*. Lipids 13:716—722.
- [32] Mortimer A. M., Shaw D. S., Sansome E. R., 1977. Genetical studies of secondary homothallism in *Phytophthora drechsleri*. Archives of Microbiology III:255—259.
- [33] Narasimhan M. J., 1930. Studies in the genus *Phytophthora* in Mysore. Phytopathology 20:202—204.
- [34] Olive L. S., 1958. On the evolution of heterothallism in fungi. Am. Nat. 42:233—251.
- [35] Olive L. S., 1963. Genetics of homothallic fungi. Mycologia 55:33—103.
- [36] Pratt R. G. and Mitchell J. E., 1973. Differential effects of cholesterol in mating thalli of *Pythium sylvaticum* and *Phytophthora capsici*. Canadian Journal of Botany 5:595.
- [37] Raper J. R., 1940. Sexual hormones in *Achlya*. II. Distance reactions, conclusive evidence for a hormonal coordination mechanism. American J. of Botany 27:162—173.

- [38] Raper J. R., 1950. Sexual hormones in *Achlya*. VII. The hormonal mechanism in homothallic species. *Botanical Gazette* 112, 1—24.
- [39] Romero S. and Erwin D. C., 1969. Variation in pathogenicity of progeny from germinated oospores of *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. *Phytopathology* 59:1310—1317.
- [40] Savage E. J., et al., 1968. Homothallism, heterothallism, and interspecific hybridization in the genus *Phytophthora*. *Phytopathology* 58:1104—1021.
- [41] Smoot J. J., et al., 1958. Production and germination of oospores of *Phytophthora infestans*. *Phytopathology* 48:165—171.
- [42] Stumps D. J., 1953. Oospores production in paired cultures of *Phytophthora* species. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 36:255—259.
- [43] Tucker G. M., 1931. Taxonomy of the genus *Phytophthora* de Bary. *Missouri Univ. Agric. Expt. Sta. Bull.* 153:208 p.
- [44] Uchida J. Y. and Aragaki M., 1979. Induction of oosporogenesis in *Phytophthora capsici*. *Phytophthora Newsletter*, no 7:4.
- [45] Waterhouse G. M., 1956. The genus *Phytophthora* diagnoses (or descriptions) and figures from the original papers. *Commonwealth Mycol. Inst., Misc. Pub* 12, 120 p.
- [46] Waterhouse G. M., 1963. Key to the species of *Phytophthora* de Bary. *Commonwealth Mycol. Inst., Mycol. Paper No.* 92, 22 p.
- [47] Wheete J. D., 1973. Sterols of the fungi: Distribution and biosynthesis. *Phytochemistry* 12:1843—1864.
- [48] Whitehouse H. L. K., 1949. Heterothallism and sex in the fungi. *Biol. Rev.* 24:428.
- [49] Yu J. Y. and Chang H. S., 1979. Chemical control of sexuality in *Phytophthora colocasiae*. *Phytophthora Newsletter*, No. 7:5.
- [50] Zentmyer G. A., 1976. Distribution of the A₁ mating type of *Phytophthora cinnamomi*. *Phytopathology* 66:701—703.
- [51] Zentmyer G. A. et al., 1979. Studies of the sexual stage of *Phytophthora cinnamomi*. *Phytophthora Newsletter*, no. 7:8.
- [52] Zentmyer G. A., 1976. *Phytophthora* — plant destroyer. *Bioscience*: 1976, 26:11, 686—689.

Mgr Edward Arseniuk

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin, Zakład Immunologii Roślin,
Radzików, 05—870 Błonie k. Warszawy