

和合性組合せによる Buller現象における核の和合の制御

誌名	財団法人日本きのこセンター菌蕈研究所研究報告 = Reports of the Tottori Mycological Institute
ISSN	03888266
著者	木村, 二
巻/号	10号
掲載ページ	p. 365-370
発行年月	1973年8月

和合性組合せによる BULLER 現象における 核の和合の制御*

木 村 劼 二**

Katsuji KIMURA**: Control of nuclear conjugation in the BULLER phenomenon by hemi-compatible combinations*.

Abstract

Genetic control of nuclear conjugation in hemi-compatible di-mon matings was studied, using *Coprinus macrorhizus* f. *microsporus*. By crossing each of different monokaryons with a standard one for five successive generations, isogenic monokaryons in regard to the modifiers which seem to be independent of the incompatibility factors and seem to control affinity of nuclear conjugation, were produced.

By using these isogenic monokaryons and original ones, sixteen differently constituted hemi-compatible di-mon matings such as $A^3B^3 \times (A^1B^1 + A^3B^4)$ or $A^3B^3 \times (A^1B^1 + A^4B^3)$ were made. In each of these matings, A^1B^1 and A^3B^3 were isogenic with each other, and A^3B^4 or A^4B^3 was original. Three single-hypha cultures were obtained from each of the derived mycelia. They produced fruit-bodies with a few exceptions. Mating types of monosporous mycelia isolated from these fruit-bodies were analyzed.

The result of this experiment revealed that nuclear constitution of the isolated hypha was such as $A^1B^1 + A^3B^4$, $A^1B^1 + A^4B^3$ (dikaryon having two migrant nuclei), $A^3B^3 : A^4B^3$ (common-B heterokaryon) or $A^1B^1 : A^3B^3 : A^3B^4$ (trikaryotic heterokaryon); and the dikaryon such as $A^1B^1 + A^3B^3$ did not been detected. It was considered that these exceptional conjugations of nuclei in the hemi-compatible di-mon matings were caused by difference of the modifying alleles.

ま え が き

帽菌類の BULLER 現象の実験で、一核菌糸体の周縁部の1カ所に接種する二核菌糸体の2核のうち、1つだけが一核菌糸体の核と和合できるという場合は(このような一核菌糸体と二核菌糸体との組合せを和合性組合せとよぶことにする)、BULLER 現象によって二核化を起した一核菌糸体の周縁部に現われてくる二核菌糸は、普通は一核菌糸体の核と二核菌糸体の中の和合できる核とからできている。DICKSON(1934, 1935, 1936a, 1936b)は *Coprinus sphaerosporus* (二極性菌)や *C. macrorhizus* (四極性菌)を、QUINTANILHA (1939)は *C. fimetarius* (四極性菌)を用いての和合性組合せの BULLER 現象の実験で、一核菌糸体の周縁部に出現した二核菌糸の核構成が接種した二核菌糸体のそれと同じであるという異例の結果を数例得たが、和合性組合せにおいて2核移行が行なわれた稀有の例とみなされた。

筆者(1958)は *Coprinus macrorhizus* f. *microsporus* (四極性菌)を材料とし、和合性組合せ、例えば $A^3B^3 \times (A^1B^1 + A^3B^4)$ において、一核菌糸体の核 A^3B^3 と二核菌糸体の中の和合できる核 A^1B^1 とは同一子実体から由来したものであるが、 A^3B^3 核と和合できない方の核 A^3B^4 は別の子実体からのものであるという型の

* 菌蕈研究所研究業績, 第76号 (Contributions from the Tottori Mycological Institute, No. 76).

** 岡山大学教養部生物学教室, 岡山市津島. (Department of Biology, College of Liberal Arts and Sciences, Okayama University, Okayama, Japan).

組合せを多数の系統を用いて 67 通り行なったところ、25 (37.3%) の組合せで出現二核菌糸は $A^1B^1 + A^3B^4$ のような移行 2 核からできていた。

このように異例の結果が多数得られたことについて筆者は次のように考えている。BULLER 現象における核の和合は、不和合性因子の A , B のどちらとも連鎖していない、そして複対立性である M , N 2 系列の変更因子によって支配され、和合できる 2 核間の変更因子の allele の差が大きいほど和合性が強くなるものと仮定すると (木村 1958, 1970; 木村・三石 1966), $A^3B^3 \times (A^1B^1 + A^3B^4)$ で A^1B^1 と A^3B^3 とが同一子実体からのものであれば、 A^1B^1 , A^3B^3 間の変更因子の allele の差が、 A^1B^1 , A^3B^4 間のそれよりも小さいという場合もあり、そのときの和合性は A^1B^1 , A^3B^3 間よりも A^1B^1 , A^3B^4 間の方が強いから、二核菌糸 $A^1B^1 + A^3B^4$ が現われてきたのであろう。

もし、そうであるならば $A^3B^3 \times (A^1B^1 + A^3B^4)$ のような組合せを行なう場合、あらかじめ A^1B^1 核と A^3B^3 核との変更因子の allele を等しくしておけば、普通ではみられない $A^1B^1 + A^3B^4$ の核構成をもつ二核菌糸が常に現われてくることになるのではなからうか。このような期待をもって行なった実験の結果を報告する。

材 料 と 方 法

四極性菌の 1 つであるウグソヒトヨ *Coprinus macrorhizus* REA f. *microsporus* HONGO の 102 菌株の A^1B^1 , 304 菌株の A^3B^3 , A^4B^4 , A^3B^4 , A^4B^3 , 708 菌株の A^1B^7 , A^8B^8 , A^7B^8 , A^8B^7 の各交配型に属する一核菌糸のうち、任意の 1 つずつを供試したが、これらを原系統とよぶことにする。

上記の原系統の中の A^1B^1 を標準系統として、これに他の 8 つの交配型の原系統のおのおのを既報 (木村 1969, 1970) のように 5 代に亘って A^1B^1 系統に戻し交雑することにより、変更因子の乗っている染色体の入れかえを行ない、交配型はもとのままであっても変更因子の allele は標準系統の A^1B^1 と等しいとみなされる系統群を得た。そして各交配型に属するものうち、任意の 1 つずつを供試したが、これらを新系統とよび、本論文では標準系統の A^1B^1 と共に交配型にアンダーラインをつけて示すことにする。

上記の新系統と原系統とを用いて、BULLER 現象の実験の一核菌糸は新系統の 1 つであり、そしてこれに接種する二核菌糸の 2 核のうち、一核菌糸と和合できる方の核 (本論文では和合性核とよぶことにする) は新系統をつくる際の標準系統となった A^1B^1 、一核菌糸と和合できない方の核 (不和合性核とよぶことにする) は一核菌糸と A または B の不和合性因子が共通の原系統の核であるという型の和合性組合せを行なった。これらの組合せでは、変更因子の allele に関して和合性核と一核菌糸の核とは相等しく、不和合性核だけが異なるといえる。

組合せは、シャーレの中の寒天培養基の中央に一核菌糸を接種し、菌叢の直径が約 3 cm に生長したとき、その周縁部の 1 カ所に少量の二核菌糸を接種した。約 2 昼夜後には一核菌糸は二核化を完了し、その全周縁部に二核菌糸状の菌糸が現われているから、その 3 カ所から菌糸を 1 本ずつ分離して試験管内の斜面寒天培養基に移植した。これら単菌糸培養に生じた子実体から単胞子菌糸を得て、それらの交配型分析を行なった結果から、分離されたそれぞれの菌糸の核構成を推定した。なお、特に単菌糸培養を行なった理由は、既報 (木村 1958, 1969, 1970) でも述べたように、2 種類の二核菌糸が混在する場合、決まった一方だけが子実体をつくりがちであるから、他方は存在していても結果に現われてこないという恐れがあったからである。

本実験に用いた培養基は、純水 1000 ml に Peptone 2.0 g, Glucose 20.0 g, KH_2PO_4 0.46 g, K_2HPO_4 1.0 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g, 粉末酵母エキス 2.0 g, J-agar 15.0 g を加えたものであり、培養温度は 30°C であった。

実 験 結 果

本実験で行なった和合性組合せは Table 1 に示す 16 通りであるが、接種した二核菌糸の中の不和合性核が組合せ Nos. 1~8 では一核菌糸と A 因子が共通、Nos. 9~16 では一核菌糸と B 因子が共通の組合せである。

Table 1. Hemi-compatible di-mon matings and nuclear constitutions of three hyphae isolated from each of the resultant mycelia

No.	Mating	Constitution of resulting hypha
1	$\underline{A^3B^3} \times (\underline{A^1B^1} + A^3B^4)$	$\underline{A^1B^1} + A^3B^4$ $\underline{A^1B^1} : \underline{A^3B^3} : A^3B^4$ Unknown*
2	$\underline{A^4B^4} \times (\underline{A^1B^1} + A^4B^3)$	$\underline{A^1B^1} + A^4B^3$ $\underline{A^1B^1} + A^4B^3$ $\underline{A^1B^1} + A^4B^3$
3	$\underline{A^3B^4} \times (\underline{A^1B^1} + A^3B^3)$	$\underline{A^1B^1} + A^3B^3$ $\underline{A^1B^1} + A^3B^3$ $\underline{A^1B^1} + A^3B^3$
4	$\underline{A^4B^3} \times (\underline{A^1B^1} + A^4B^4)$	$\underline{A^1B^1} + A^4B^4$ $\underline{A^1B^1} + A^4B^4$ $\underline{A^1B^1} + A^4B^4$
5	$\underline{A^7B^7} \times (\underline{A^1B^1} + A^7B^8)$	$\underline{A^1B^1} + A^7B^8$ $\underline{A^1B^1} + A^7B^8$ $\underline{A^1B^1} + A^7B^8$
6	$\underline{A^8B^8} \times (\underline{A^1B^1} + A^8B^7)$	$\underline{A^1B^1} + A^8B^7$ $\underline{A^1B^1} + A^8B^7$ $\underline{A^1B^1} + A^8B^7$
7	$\underline{A^7B^8} \times (\underline{A^1B^1} + A^7B^7)$	$\underline{A^1B^1} + A^7B^7$ $\underline{A^1B^1} + A^7B^7$ $\underline{A^1B^1} + A^7B^7$
8	$\underline{A^8B^7} \times (\underline{A^1B^1} + A^8B^8)$	$\underline{A^1B^1} + A^8B^8$ $\underline{A^1B^1} + A^8B^8$ $\underline{A^1B^1} + A^8B^8$
9	$\underline{A^3B^3} \times (\underline{A^1B^1} + A^4B^3)$	$\underline{A^1B^1} + A^4B^3$ $\underline{A^1B^1} + A^4B^3$ $\underline{A^1B^1} + A^4B^3$
10	$\underline{A^4B^4} \times (\underline{A^1B^1} + A^3B^4)$	$\underline{A^1B^1} + A^3B^4$ $\underline{A^4B^4} : A^3B^4$ Unknown*
11	$\underline{A^3B^4} \times (\underline{A^1B^1} + A^4B^4)$	$\underline{A^1B^1} + A^4B^4$ $\underline{A^1B^1} + A^4B^4$ $\underline{A^3B^4} : A^4B^4$
12	$\underline{A^4B^3} \times (\underline{A^1B^1} + A^3B^3)$	$\underline{A^1B^1} + A^3B^3$ $\underline{A^1B^1} + A^3B^3$ $\underline{A^4B^3} : A^3B^3$

(continued)

Table 1 (Continued)

13	$\underline{A^7B^7} \times (\underline{A^1B^1} + A^8B^7)$	$\underline{A^7B^7} : A^8B^7$ $\underline{A^7B^7} : A^8B^7$ Unknown*
14	$A^8B^8 \times (\underline{A^1B^1} + A^7B^8)$	$\underline{A^1B^1} + A^7B^8$ $\underline{A^1B^1} + A^7B^8$ $\underline{A^8B^8} : A^7B^8$
15	$A^7B^8 \times (\underline{A^1B^1} + A^8B^8)$	$\underline{A^1B^1} + A^8B^8$ $\underline{A^1B^1} + A^8B^8$ $\underline{A^1B^1} + A^8B^8$
16	$\underline{A^8B^7} \times (\underline{A^1B^1} + A^7B^7)$	$\underline{A^8B^7} : A^7B^7$ $\underline{A^8B^7} : A^7B^7$ Unknown*

In this table, nuclei with a bar under the letters had the same modifying alleles with one another.

In Nos. 1~8, one nucleus of the dikaryon had the *A* allele common to the monokaryon, and in Nos. 9~16, the *B* allele common to the monokaryon.

* Since the single-hypha culture produced no fruit-body, constitution of the hypha was not revealed.

これら16通りの各組合せで、一核菌糸体の周縁部に新たに出現した菌糸体の3カ所から分離された単菌糸の核構成を分析した結果はTable 1に示されるように、計48の単菌糸培養のうち、子実体形成がみられず、従って核構成の分析ができなかったもの4つを除けば、すべて異例の核構成のものばかりであり、一核菌糸体の核が二核菌糸体の中の和合性核と和合していたことを示すものは皆無であった。すなわち、組合せNos. 1~8では分析できた23の単菌糸のうち、No. 1で現われた三核性ヘテロカリオンと思われるもの1つを除いては、すべて移行した2核で再構成された二核菌糸であった。一方、組合せNos. 9~16では分析できた21の単菌糸のうち、移行2核で再構成された二核菌糸が13、一核菌糸体の核と不和合性核とからなる common-*B* ヘテロカリオン（このヘテロカリオンは擬クランプをもち、本菌では子実体を形成する）が8であった。

なお、和合性組合せでは二核化した一核菌糸体の全周縁部に二核菌糸が均等に生じてくるのが普通であるが、本実験の和合性組合せでは、不和合性組合せでみられるような patchy の状態で二核菌糸が出現した。そして、これは組合せ Nos. 1~8 において著しかった。

考 察

本実験で行なった和合性組合せは、いずれも一核菌糸体に接種する二核菌糸体の2核のうち、和合性核は一核菌糸体の核と変更因子の allele が同じであり、いま1つの不和合性核だけが allele を異にするという型のものばかりであるから、例えば組合せ $A^3B^3 \times (A^1B^1 + A^3B^4)$ において A^1B^1 , A^3B^3 間の和合性よりも A^1B^1 , A^3B^4 間のその方が常に強く、従ってこのような組合せからは、和合性組合せできわめて普通に出現する $A^1B^1 + A^3B^3$ のような二核菌糸は全く得られず、異例のものばかりが現われたものと考えられ、筆者の変更因子の仮説を裏付ける1つの結果が得られたものといえる。

本実験で、例えば $A^3B^3 \times (A^1B^1 + A^3B^4)$ の組合せより $A^1B^1 + A^3B^4$ が出現したことから、二核菌糸体の2核は1核菌糸体と和合できると否とにかかわらず、どちらも一核菌糸の中を核分裂をしながら移動したものと見えるが、和合性の A^1B^1 核が A^3B^4 核よりも早く進んだ場合には二核菌糸 $A^1B^1 + A^3B^3$ が出現し、 $A^1B^1 + A^3B^4$ は決して出てこない。 $A^1B^1 + A^3B^4$ が出現するには、不和合性であっても A^3B^4 核の方が先行して A^1B^1

核がその後を追うか、または A^1B^1 , A^3B^4 の 2 核が同じ速度で同行しなければならない。いま、 A^3B^4 核が先行したとすると、 A^3B^4 核は一核菌糸の先端に到着して common-A ヘテロカリオン $A^3B^3 : A^3B^4$ の状態で A^1B^1 核を待ち、 A^1B^1 核がやってきたとき、これら 3 核間の和合性の強弱によって、 $A^1B^1 + A^3B^4$ が出現したと考えられる。Nos. 9~16 の組合せの中で common-B ヘテロカリオンが出現した場合があったが、これは先行した不和合性核が遅れてやってくる和合性核の到着を待ちかねて、強引に二核菌糸まがいのヘテロカリオンをつくったのではないかとさえ思われる。一方、二核菌糸体の 2 核が同行したとした場合は、一核菌糸の先端細胞に 2 核が同時に到着し、やはり 3 核間の和合性の強弱から選択和合が行なわれたと考えてよいであろう。そして、(1) 不和合性核が先行したとしても、後続の和合性核が来ないとか、(2) 菌糸の先端細胞内の 3 核間で和合の混乱がおこるとか (組合せ No. 1 で三核性の菌糸が現われたのは、この理由によるのかも知れない)、(3) あるいはまた、一核菌糸体の核をさしおいて移行 2 核で二核菌糸をつくることに何か無理があるとか、というようなことがありとすれば、二核菌糸ができないこともあるから、本実験の和合性組合せでは一核菌糸体の周縁部には二核菌糸が均等に現われず、patchy を示したものと思われる。

SWIEZYNSKI (1960, 1961) は *Coprinus lagopus* (四極性菌) を用いての実験で、A 因子が共通の不和合性核の移行速度は和合性核のそれに比べて遅く、また、B 因子が共通の不和合性核は単独では移行できないという結果を得たことから、不和合性核が先行するとか、同行するとかという考えに対しては否定的である。しかし、筆者は前にも少しくふれたことがあるように (木村 1958)、変更因子は和合性の強弱を左右するだけでなく、核の移行速度をも支配し、二核菌糸体の 2 核のうち、一核菌糸体の核と変更因子の allele の差が大きい方の核がより早く進むのではなからうかと考えているから、本実験のように組合せた核の変更因子の allele を特に調整した場合は、不和合性核の先行ということも当然の如く行なわれたと思われるが、実際にそうであるか否かを、出現した二核菌糸の核構成から間接的に推論するのではなく、二核菌糸体からの核の移行状態を直接調べてみた実験結果については、別報で述べることにする。

摘 要

1. 四極性菌のウングソヒトヨ *Coprinus macrorrhizus* f. *microsporus* を用いて、和合性組合せによる BULLER 現象での核の和合の遺伝学的制御を試みた。

2. 1 つの一核菌糸体を標準系統として、これに他の一核菌糸体をそれぞれ 5 代に亘って戻し交雑し、交配型はもとのままであっても変更因子 (不和合性因子と連鎖していない複対立性の因子であり、和合性の強弱を支配するものと仮定する) の allele は標準系統と等しい系統群をつくった。

3. これら新たに得られた系統と、もとの系統とを用いて、例えば $A^3B^3 \times (A^1B^1 + A^3B^4)$ または $A^3B^3 \times (A^1B^1 + A^4B^3)$ のような型の和合性組合せを 16 通り行なった。

4. 上記の組合せで、 A^3B^3 は標準系統の A^1B^1 と変更因子の allele を等しくされた新系統であり、 A^3B^4 や A^4B^3 は A^1B^1 と allele を異にする原系統の核である。

5. 各組合せで一核菌糸体の周縁部に新たに出現した菌糸体の 3 カ所から単菌糸培養を行ない、生じた子実体より分離した単孢子菌糸体の交配型分析の結果から分離された単菌糸の核構成を推定した。

6. その結果は、 $A^1B^1 + A^3B^4$ または $A^1B^1 + A^4B^3$ のような移行 2 核からなる二核菌糸、 $A^3B^3 : A^4B^3$ のような common-B ヘテロカリオン、 $A^1B^1 : A^3B^3 : A^3B^4$ のような三核性ヘテロカリオン等で、和合性組合せでごく普通に出現する $A^1B^1 + A^3B^3$ のような二核菌糸は皆無であった。

7. 和合性組合せで、このような異例の核構成の菌糸だけが出現したのは、変更因子の allele の異同によって核の和合が制御された結果と考えられる。

引 用 文 献

1. DICKSON, H. (1934) Studies in *Coprinus sphaerosporus* I. The pairing behaviour and the characteristics of various haploid and diploid strains. Ann. Bot. 48: 527~547.

2. DICKSON, H. (1935) Studies in *Coprinus sphaerosporus* II. The inheritance of various morphological and physiological characters. Ann. Bot. **49**: 181~204.
 3. ——— (1936 a) Studies in *Coprinus sphaerosporus* III. The inheritance of factors affecting the growth-rates at different temperatures of certain strains. Ann. Bot. **50**: 219~246.
 4. ——— (1936 b) Observations on inheritance in *Coprinus macrorrhizus* (PERS.) REA. Ann. Bot. **50**: 719~734.
 5. KIMURA, K. (1958) Diploidisation in the Hymenomycetes II. Nuclear behavior in the BULLER phenomenon. Biol. J. Okayama Univ. **4**: 1~59.
 6. ——— (1969) 対峙培養したウシグソヒトヨの二核菌糸体間に見られる子実体形成の優劣. 菌草研報. **7**: 64~70.
 7. ——— (1970) 両和合性組合せによる BULLER 現象における核の和合の制御. 植雑. **83**: 419~422.
 8. ———・三石 尚 (1966) 標識遺伝子を用いての BULLER 現象の研究 II. 両和合性組合せ. 菌草研報. **5**: 25~36.
 9. SWIEZYNSKI, K.M. (1961) Migration of nuclei in tetrapolar Basidiomycetes. Acta Soc. Bot. Poloniae **30**: 529~534.
 10. ——— & DAY, P.R. (1960) Migration of nuclei in *Coprinus lagopus*. Genet. Res., Camb. **1**: 129~139.
 11. QUINTANILHA, A. (1939) Étude génétique du phénomène de BULLER. Bol. da Soc. Broteriana (Sér. 2) **13**: 425~486.
-