

# ヒトヨタケにおける3種の形態的突然変異concentric,frizzy および dichotomous

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	武丸, 恒雄 鎌田, 堯 村上, 重幸
巻/号	10号
掲載ページ	p. 377-382
発行年月	1973年8月

## ヒトヨタケにおける3種の形態的突然変異 *concentric*, *frizzy* および *dichotomous*\*

武丸 恒雄\*\*・鎌田 堯\*\*・村上 重幸\*\*\*

Tsuneo TAKEMARU\*\*, Takashi KAMADA\*\* and Shigeyuki MURAKAMI\*\*\*: Three morphological mutations, *concentric*, *frizzy* and *dichotomous*, in the basidiomycete *Coprinus macrorhizus*\*

### Abstract

Three morphological mutations in *Coprinus macrorhizus* were studied. One of the mutations, *concentric*, occurred spontaneously, and the other two, *frizzy* and *dichotomous*, were induced by UV irradiation. Hyphal tips of the *concentric* mutant frequently bend sideways. This mutant grows rhythmically, giving rise to mycelial colony of concentric morphology. Gross morphology of *frizzy* mutant is rather uniform, but the hyphae are greatly frizzy. The mutant *dichotomous* shows only poor growth, and the hyphae branch dichotomously.

Genetic analyses clearly show that *frizzy* and *dichotomous* are controlled by single, recessive genes designated as *fz* and *dt*, respectively, and that *fz* links to *B* incompatibility factor of linkage group II at map distance of 10.4 units. Gene *dt* does not link to either *A* or *B* factor, but links to *met-11* gene of linkage group III at map distance of 7.9 units. It has been discussed that, although departed significantly from a segregation ratio of 1:1, *concentric* is also most likely controlled by single gene, *cc*, which is recessive and closely links to *A* incompatibility factor of linkage group I at map distance of 2.5 units.

菌糸あるいは菌糸体レベルにおける形態的突然変異の研究は、菌類の栄養生長期における形態形成の機構に迫る有効なアプローチの1つと考えられる。われわれの研究室ではヒトヨタケにおける各種の突然変異について研究を行なっているが、本論文では、このうち菌糸(体)レベルの3種の形態的突然変異、すなわち *concentric*, *frizzy* および *dichotomous* に関する形態的ならびに遺伝的研究の結果について報告する。

### 材料および方法

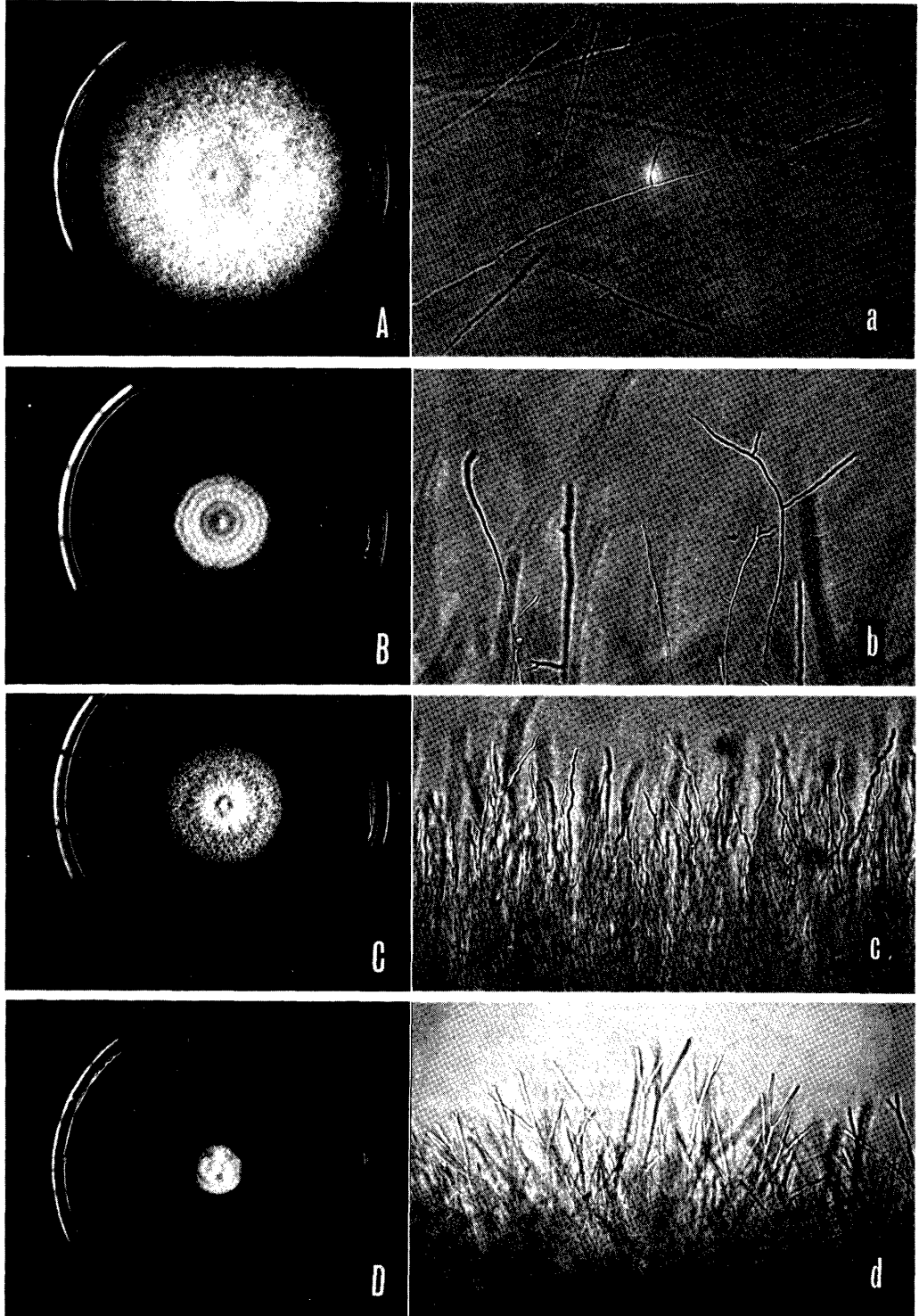
i) 突然変異体: 本実験には、下記3系統の形態的突然変異体を用いた。*concentric* 変異体(系統番号 #5035, 交配型 A2 B2)は、野生型系統 X-4 を紫外線照射した後、数代継代培養を続けているうちに生じた自然突然変異体である。*frizzy* 変異体(系統番号 #5300, 交配型 A7 B7)と *dichotomous* 変異体(系統番号 #5013, 交配型 A2 B2)はそれぞれ野生型系統 i-6 と X-4 に紫外線照射を行なって直接誘発した人為的突然変異体である。なお、これらの野生型系統は岡山大学教養部生物学教室の木村勅二教授から分譲いただいた。同教授に厚くお礼申し上げる。

ii) 紫外線照射: 上記野生型ホモカリオン i-6 および X-4 を約1週間培養した後、コロニーの一部を寒天培地ごと切り取って適量の水とともに1~2分間 blend する。この操作によって、菌糸は1~数細胞に細片化

\* 菌蕈研究所研究業績, 第78号(Contributions from the Tottori Mycological Institute, No.78) および岡山大学理学部生物学教室植物形態学業績, No. 123.

\*\* 岡山大学理学部生物学教室, 岡山市津島 (Department of Biology, Faculty of Science, Okayama University, Okayama, Japan).

\*\*\* 菌蕈研究所 (Tottori Mycological Institute, Tottori, Japan).



され、blend 後にはこれらの菌糸片と単細胞性の oidia が混合した suspension ができる。これを 10 ml ずつ通常のペトリ皿に分注し、同量の水を加えて、マグネティック・スタラーで攪拌しながら、暗室中で紫外線を照射する。紫外線源としては東芝の殺菌灯 (10 W) を用いた。10 cm の距離で 1~2 分間照射した後、直ちに寒天培地にプレートする。2~3 日暗所で培養し、発生したコロニーを実体顕微鏡 (40×) 下で1個ずつ分離する。なお、この照射による致死率は 99.2~99.5% であった。

iii) 単孢子分離と交配型分析：単孢子分離は MILES, TAKEMARU and KIMURA (1966) の方法で行ない、また交配型分析は常法の4テスター系で行なった。

iv) 培地と培養温度：培地は CY-1 半合成培地を用いた。その組成は次のとおりである：純水 1000 ml 当り Glucose 20 g, Peptone 2 g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.46 g,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  1 g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.5 g, Yeast extract 1 g, J-Agar 20 g を含む。培養温度は全実験を通じ 28°C に保った。

## 実験結果と考察

### 1. 突然変異体の形態

*concentric* 変異体の菌糸はリズミカルな生長を行ない、その結果 Fig. 1 B で示されているように同心円状のコロニーを生ずる。菌糸の多くは、その先端が真直ぐ伸長しないで、しばしば側方にゆるやかに彎曲する傾向が認められる (Fig. 1 b)。これに対して、*frizzy* 変異体のコロニーは Fig. 1 C でみられるように、特に顕著な形態を示さずおおむね一様であるが、その菌糸は小刻みにちぢれており、先端は、見事に生えそろうている (Fig. 1 c)。また、*dichotomous* 変異体は生育が一般におそく、菌糸体のところどころから気中菌糸が束になって上方に伸びる (Fig. 1 D)。この変異体の著しい特徴は、Fig. 1 d でみられるように、菌糸の先端が規則正しく二又分岐を行なうことである。なお、比較のために、Fig. 1 A と 1 a にはそれぞれ野生型のコロニーと菌糸の形態が示されている。

### 2. 変異体間の相補性検定

変異体の1つ *dichotomous* (# 5013, 交配型 A2 B2) を交配型 A1 B1 の1野生型系統と交配して、その F<sub>1</sub> から *dichotomous* で A1 B1 の交配型をもつ系統を選出した。これによって、3種の変異体は全て異なる交配型をもつことになり、相補性検定が可能となる。そこで、相異なる変異体を2系統ずつあらゆる組合せで対峙培養した結果、全ての場合において、何れの系統の側にも野生型の正常なダイカリオンが形成された。このことは、(1) これら3種の変異体は何れも acceptor であること、および (2) これらの変異形質はそれぞれ別個の劣性遺伝子によって支配されていること、を示唆している。

### 3. 遺伝分析

i) *concentric* 変異体 (# 5035, 交配型 A2 B2)：この変異系統を野生型系統 # 5132 A (A7 B7) と交配し、計 1021 個の F<sub>1</sub> 菌糸体を分離して、各交配型ごとに変異型と野生型の出現頻度を調査した。その結果は Table 1 に示すとおりである。この Table から明らかなように、*concentric* 変異形質も、A, B 両不和合性因子も何れも 1:1 の分離比を示さず、またこの変異形質を支配すると考えられる cc 因子と A 因子および B 因子の間、さらに A 因子と B 因子の間の親型と組換え型の出現頻度も 1:1 の比から大きく外れている。このことは、cc, A および B が何れも単一の遺伝子ではなく、しかもこれらが互に連鎖していることを意味する。しかし一方、本菌の不和合性因子の分離と連鎖関係については既に KIMURA (1952), KIMURA and FUJIO (1961) および武丸・鎌田 (1970) などの研究があり、A 因子と B 因子は何れも 1:1 の比に分離すること、また両因子は連鎖していないことが報告されている。さらにこの事実は、後記の実験 ii) (Table 2) と実験 iii) (Table 3) のデータによっても確認されている。このようなことから考えると、*concentric* 変異体に関する上記の異常

Fig. 1. Mycelial (A~D) and hyphal (a~d) morphology of a wild type strain and morphological mutants of *Coprinus macrorhizus*. All is of a week culture. A and a, wild type; B and b, *concentric*; C and c, *frizzy*; D and d, *dichotomous*.

な分離結果は、この交配自体における何らかの特殊事情に起因するものと思わざるを得ない。この異常の唯一の原因は、交配型  $A2B7$  の変異体が 173 個体で、ほぼ同数出現すると期待される交配型  $A2B2$  の変異体 (262 個体) と比べて異常に少ないということである。仮に、両者の差に当る 89 個体をこれに加算すると、 $cc \sim A$  因子間の組換えを除く他の全ての分離比が 1:1 となり、矛盾なく説明することができる。 $A2B7$  変異体がこのように少なく出現した理由については、これだけの実験からでは何とも云えなく、今後の研究に待たねばならぬ

Table 1. F1 analysis for the cross between *concentric* mutant (# 5035, genotype:  $cc A2B2$ ) and wild type strain (#5132A, genotype:  $+A7B7$ )

Mating type	Concentric	Wild type	Total
$A2B2$	262	2	264
$A7B7$	7	290	297
$A2B7$	173	5	178
$A7B2$	12	270	282
Total	454	567	1021

Analysis:

Segregation of			$\chi^2$ (1 : 1)	P
Concentric	$cc - 454$	$+ - 567$	12	<.01
A-factor	$A2 - 442$	$A7 - 579$	18	<.01
B-factor	$B2 - 546$	$B7 - 475$	4	.05-.02

Recombination between

	Parental	Recomb.		
$cc$ and $A$	995	26	919	<.01
$cc$ and $B$	569	452	13	<.01
$A$ and $B$	561	460	9	<.01

Table 2. F1 analysis for the cross between *frizzy* mutant (# 5300, genotype:  $fz A7B7$ ) and wild type strain (#5305, genotype:  $+A1B1$ )

Mating type	Frizzy	Wild type	Total
$A1B1$	5	45	50
$A7B7$	49	6	55
$A1B7$	64	7	71
$A7B1$	6	48	54
Total	124	105	230

Analysis:

Segregation of			$\chi^2$ (1 : 1)	P
Frizzy	$fz - 124$	$+ - 106$	1.4	.30-.20
A-factor	$A1 - 121$	$A7 - 109$	0.6	.50-.30
B-factor	$B1 - 104$	$B7 - 126$	2.1	.20-.10

Recombination between

	Parental	Recomb.		
$fz$ and $A$	107	123	1.1	.30-.20
$fz$ and $B$	206	24	144	<.01
$A$ and $B$	105	125	1.7	.20-.10

Table 3. F<sub>1</sub> analysis for the cross between *dichotomous* mutant (#5013, genotype: *dt A2B2*) and wild type strain (#5329, genotype: +*A8B8*)

Mating type	Dichotomous	Wild type	Total
<i>A2B2</i>	30	24	54
<i>A8B8</i>	23	29	52
<i>A2B8</i>	19	26	45
<i>A8B2</i>	33	30	63
Total	105	109	214

Analysis:

Segregation of			$\chi^2$ (1 : 1)	P
Dichotomous	<i>dt</i> - 105	+ - 109	0.07	.80-.70
<i>A</i> -factor	<i>A2</i> - 99	<i>A8</i> - 115	1.1	.30-.20
<i>B</i> -factor	<i>B2</i> - 117	<i>B8</i> - 97	1.8	.20-.10

Recombination between

	Parental	Recomb.		
<i>dt</i> and <i>A</i>	108	105	0.018	.90-.80
<i>dt</i> and <i>B</i>	118	96	2.2	.20-.10
<i>A</i> and <i>B</i>	106	108	0.018	.90-.80

Table 4. Data of recombination between *cc* and *A* incompatibility factor (linkage group I), between *fz* and *B* incompatibility factor (linkage group II), and between *dt* and *met-11* (linkage group III)

Recombination between	Parentals	Recombinants	Total	Recombination value (%)
<i>cc</i> and <i>A</i> (Table 1)	995	26	1021	2.5
<i>fz</i> and <i>B</i> (Table 2)	206	24	230	10.4
<i>dt</i> and <i>met-11</i>	454	39	493	7.9

いが、不和合性因子 *A* と *B* の分離と組換えとの関連において、*concentric* 変異も単一の劣性遺伝子 *cc* によって支配されていると考えるのが最も穏当であるように思われる。なお、*cc* 遺伝子は *A* 因子と 2.5 単位の距離で密接に連鎖している (Table 4)。

ii) *frizzy* 変異体 (#5300, 交配型 *A7B7*) : この変異体を野生型系統 #5305 (*A1B1*) に交配し、同様の F<sub>1</sub> 分析を行なった。その結果は Table 2 に示されているように、*frizzy* と野生型は 1:1 の比に分離し、この変異形質は単一の劣性遺伝子 *fz* によって支配されていることが明らかである。また、この Table は *fz* が *B* 因子と連鎖していることも示している。両者間の組換え率は 10.4% である (Table 4)。

iii) *dichotomous* 変異体 (#5013, 交配型 *A2B2*) : 野生型系統 #5329 (*A8B8*) との間で F<sub>1</sub> 分析を行ない、Table 3 のような結果を得た。この Table から明らかのように、*dichotomous* は単一の劣性遺伝子 *dt* によって支配されており、この遺伝子は *A* 因子とも *B* 因子とも連鎖していない。われわれの研究室では数年来、ヒトヨタケにおける連鎖地図を作製中であるが、これまでの研究によって、本菌は 7 連鎖群からなること、*A* 不和合性因子は第 I 連鎖群に、また *B* 不和合性因子は第 II 連鎖群に属していること、さらに第 III 連鎖群には *met-11* 遺伝子座が位置していること、などを明らかにすることができた (武丸ら, 1971)。*dt* 遺伝子について連鎖分析を行なった結果、Table 4 に示されているように、この遺伝子は第 III 連鎖群の *met-11* 座と 7.9 単

位で連鎖していることが証明された。

### 摘 要

ヒトヨタケの一種 *Coprinus macrorhizus* の菌糸（体）レベルにおける3種の形態的突然変異, *concentric*, *frizzy* および *dichotomous* について形態的ならびに遺伝的研究を行なった。

*concentric* 変異体は継代培養中に生じた自然突然変異体で、同心円状のコロニーを形成し、菌糸の先端はしばしば側方に弯曲する。この変異は恐らく単一の劣性遺伝子 *cc* によって支配されていると考えられ、*cc* は第 I 連鎖群の *A* 不和合性因子と 2.5 単位の距離で近密に連鎖している。

*frizzy* と *dichotomous* は何れも紫外線照射によって誘発された突然変異で、前者の菌糸は著るしくちぢれており、後者は菌糸の先端が規則正しく二分分枝を行なう。これらの変異は明らかにそれぞれ単一の劣性遺伝子 *fz* と *dt* によって支配されており、*fz* は第 II 連鎖群の *B* 不和合性因子と 10.4 単位の距離で、また *dt* は第 III 連鎖群の *met-11* 遺伝子座と 7.9 単位の距離で、それぞれ連鎖している。

### 引 用 文 献

1. KIMURA, K. (1952) Studies on the sex of *Coprinus macrorhizus* REA f. *microsporus* HONGO I. Introductory experiments. Biol. J. Okayama Univ. **1**: 72~79.
2. ——— & FUJIO, M. (1961) Studies on abnormal fruit-bodies of the hymenomycetous fungi. I. Undeveloped fruit-bodies of *Coprinus macrorhizus* f. *microsporus*. Rept. Tottori Mycol. Inst. (Japan) **1**: 19~28.
3. MILES, P.G., TAKEMARU, T. & KIMURA, K. (1966) Incompatibility factors in the natural population of *Schizophyllum commune* I. Analysis of the incompatibility factors present in fruit bodies collected within a small area. Bot. Mag. (Tokyo) **79**: 693~705.
4. 武丸恒雄・鎌田 堯 (1970) 紫外線照射によって誘発されたヒトヨタケ子実体発生変異の遺伝分析: Elongationless と Expansionless. 菌蕈研報. **8**: 11~16.
5. ———・藤岡矩行・鎌田 堯・仲田富士男・井手重幸・佐野 昭 (1971) ヒトヨタケにおける連鎖の研究. 植物学会第 36 回大会研究発表記録: 78.