

ЖИЗНЕННЫЙ ЦИКЛ И ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ПРОЦЕССА РАЗМНОЖЕНИЯ У ЩЕЛЕЛИСТНИКА ОБЫКНОВЕННОГО (*SCHIZOPHYLLUM COMMUNE*)

Е.М. Щелканов¹, А.И. Белов², С.С. Уколов³, Д.В. Панкратов², Ю.И. Мануков¹

¹Государственный университет просвещения, Мытищи, Россия;

²НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова Роспотребнадзора, Владивосток, Россия;

³Уральский федеральный университет им. Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия

В работе описана последовательность стадий жизненного цикла *Schizophyllum commune* (Basidiomycota, Agaricales:Schizophyllaceae): монокарион → плазмोगамия → дикарион → плодовое тело → кариогамия → споруляция → монокарион. Особое внимание уделяется молекулярным механизмам генетического контроля размножения. Подробно объясняется вывод формулы для «количества полов» *S. commune* и обоснование метода экспериментального оконтуривания мицелия.

Ключевые слова: щелелистник обыкновенный, *Schizophyllum commune*, монокарион, дикарион, плазмोगамия, кариогамия.

LIFE CYCLE AND GENETIC CONTROL OF THE MATING PROCESS IN SPLIT-GILL FUNGUS (*SCHIZOPHYLLUM COMMUNE*)

E.M. Shchelkanov¹, A.I. Belov², S.S. Ukolov³, D.V. Pankratov², Yu.I. Manukov¹

¹State University of Education, Mytishchi, Russia;

²G.P. Somov Institute of Epidemiology and Microbiology, Russian Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Vladivostok, Russia;

³B.N. Yeltsin Ural Federal University, Ekaterinburg, Russia.

The paper describes the sequence of stages of the life cycle of *Schizophyllum commune* (Basidiomycota, Agaricales: Schizophyllaceae): monokaryon → plasmogamy → dikaryon → fruit body → karyogamy → sporulation → monokaryon. Special attention is paid to the molecular mechanisms of genetic control of mating. The derivation of the formulae for the "number of sexes" of *S. commune* and the justification of the method of experimental contouring of mycelium are explained in detail.

Keywords: split-gill fungus, *Schizophyllum commune*, monokaryon, dikaryon, plasmogamy, karyogamy.

Щелелистник обыкновенный (*Schizophyllum commune*) – убиквитарно распространённый вид грибов, относящийся к экологической группе ксилотрофов – сапротрофов, использующих в качестве субстрата древесину – таксономически входящий в семейство щелелистниковых (Schizophyllaceae) порядка агариковых, или пластинчатых (Agaricales), из отдела базидиомицетов (Basidiomycota). Название вида является «говорящим»: каждая из пластинок, веерообразно расходящихся из одной точки на вогнутой стороне шляпки плодового тела, расщеплена на две створки, которые распахиваются и закрывают гимений с базидиями между соседними пластинками в сухую погоду и схлопываются при повышении влажности, давая возможность спорам высыпаться [2, 3]. Однолетние плодовые тела *S. commune* размером 1-5 см могут употребляться в пищу, хотя в бореальных широтах это редко практикуется из-за высокой жёсткости – в экваториально-тропических широтах плодовые тела более мягкие и входят в состав блюд местной кухни [12]. И традиционная европейская [8, 14], и восточная медицина [6] активно используют щелелистник обыкновенный как источник ценных лекарственных соединений. Вместе с тем, *S. commune* способен выступать в качестве этиологического агента заболеваний человека [5, 7, 9].

Подобно остальным представителям отдела Basidiomycota щелелистник обыкновенный имеет достаточно нетривиальную схему жизненного цикла. Вегетативное тело (мицелий, или грибоница) всех грибов (за редким исключением) состоит из гиф – гигантских, длиной до нескольких десятков метров и диаметром 4-6 мкм, многоядерных клеток, погружённых в субстрат и переплетённых наподобие сети или паутины. Гифы могут быть разделены на отделы полупроницаемыми перегородками (септами), и в этом случае можно говорить о многоклеточных гифах [3].

Гифы *S. commune* септированы и существуют в форме монокариона (т.е. все гифы одного мицелия имеют одинаковые ядра с гаплоидным (одинарным) набором хромосом). Например, у млекопитающих в форме монокариона существуют гаметы – репродуктивные клетки, участвующие в половом размножении. Размножение начинается со слияния гиф двух разных мицелиев (этот процесс называется соматогамия, или плазмогамия) с образованием дикариона – клетки, содержащей два различных гаплоидных ядра. Эффективность процесса плазмогамии контролируется двумя факторами контроля спаривания (обозначим их a и b) таким образом, что слияние оказывается продуктивным только в случае одновременных различий обоих факторов контроля спаривания, т.е. когда:

$$\begin{cases} a_1 \neq a_2; \\ b_1 \neq b_2, \end{cases} \quad (1)$$

где нижние индексы при переменных a и b маркируют гифы первого и второго мицелия. Из соотношения (1) понятно, почему в предыдущем фрагменте данного текста использован оборот «... со слияния гиф двух разных мицелиев ...» – для гиф различных частей одного и того же мицелия в системе (1) априори присутствовали бы два равенства.

Полноразмерный геном щелелистника обыкновенного был секвенирован в 2010 г. [11], и стали понятны молекулярные механизмы генетического контроля продуктивности плазмогамии двух гиф [10], описываемые системой условий (1).

В современной научной литературе упомянутые выше локусы спаривания обозначаются как *MAT* (mating type – типы спаривания; не очень удачный термин при дословном переводе на русский язык – корректнее было бы «факторы спаривания»). Первый -фактор (пусть, для удобства дальнейших обозначений, это будет b ; произвольность выбора связана с тем, что a и b до сих пор были полностью равноправны) представляет собой систему «феромон-рецептор» (*P/R* – pheromone/receptor), а другой (в выбранной нами системе обозначений – фактор a) – фактор транскрипции гомеодоменного типа (*HD* – homeodomain-type transcription factor) [10]. Здесь уместно напомнить, что гомеодомен – широко известный молекулярно-генетический термин – обозначающий структурный домен, свойственный широкому классу белков, способных с высокой специфичностью связывать нуклеиновые кислоты (как ДНК, так и РНК) [13].

Феромоны и их рецепторы являются наиболее ранней системой сигнализации «своей-чужой»: без правильного «срабатывания» этой сигнальной системы не произойдёт слияния клеточных стенок гиф. Феромоны *P*-системы базидиомицетов представляют собой летучие 10-15-тичленные липопептиды (липиды, ковалентно связанные с пептидами). Эти феромоны образуются путём протеолитического разрезания и модификации более протяжённых пептидов-предшественников, разнообразие которых в геноме *S. commune* определяется двумя генетическими локусами, имеющими обозначения *matBa3* и *matBβ2*. При этом, и *matBa3*, и *matBβ2* имеют по 9 генетических вариантов (аллелей) и независимы друг от друга [11]. Таким образом, количество аллелей для фактора ab (*P/R*) равно $9 \cdot 9 = 81$.

Что касается *HD*, то его разнообразие в геноме *S. commune* определяется двумя генетическими локусами: *matAα* и *matAβ*. Первый из них имеет 9, а второй 32 генетических варианта (аллеля). Поскольку процессы генетической изменчивости *matAα* и *matAβ* независимы друг от друга [11], то количество аллелей для фактора a (*HD*) равно $9 \cdot 32 = 288$.

С учётом системы (1) и приведённых выше значений числа аллелей для каждого из факторов контроля спаривания, представляется возможным корректно рассчитать число возможных генетических вариантов мицелия *S. commune* (будем, для определённости, маркировать его индексом «1»), с которыми может спариться другой (с индексом «2») мицелий этого вида и сформировать продуктивный дикарион. Обозначим такое число как R . Общее число пар аллелей (a_1, b_1) равно $288 \cdot 81 = 23328$ (общее количество квадратных ячеек в прямоугольнике на рис. 1). В силу условия (1), не все пары (a_1, b_1) смогут продуктивно спариться со вторым мицелием, имеющим пару аллельных вариантов (a_2, b_2) – необходимо исключить из прямоугольника на рис. 1 столбец со значениями a_2 (в котором $a_1 = a_2$; штриховка из левого нижнего угла в правый верхний угол) и строку со значениями b_2 (в котором $b_1 = b_2$; штриховка из левого верхнего угла в правый нижний угол); при этом, ячейка с координатами (a_2, b_2) (пересекающаяся штриховка) при таком подходе будет исключена дважды, поэтому сумма исключённых (заштрихованных любым образом на рис. 1) ячеек равна: $288 + 81 - 1$. Таким образом, окончательно для значения R имеем:

$$R = 288 \cdot 81 - (288 + 81 - 1) = 22960. \quad (2)$$

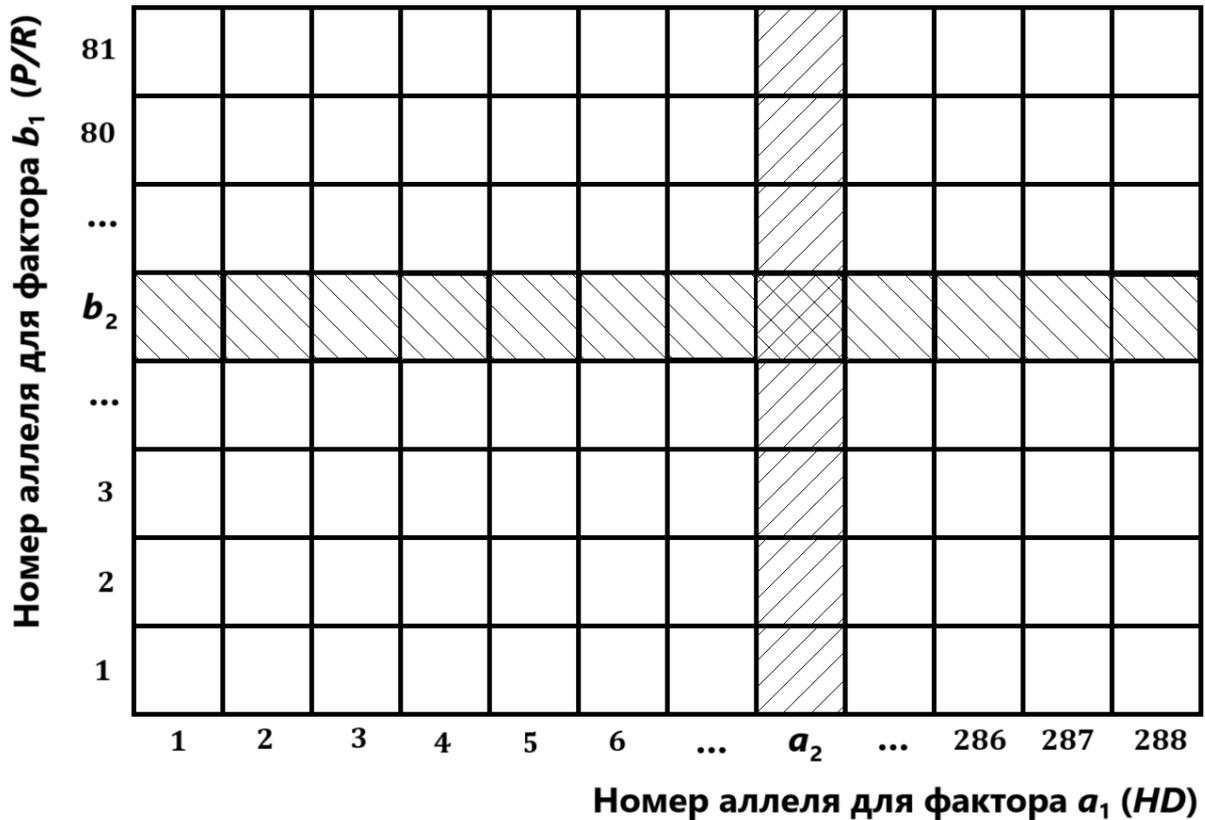


Рисунок 1. Графическое пояснение вывода формулы (2) для R .

Зная величину R , можно легко найти «количество полов» у *S. commune*, которое равно: $R + 1 = 22961$. Действительно, «количество полов»¹ – это количество генетических вариантов этого же вида, с которыми у любого генетического варианта возможно продуктивное спаривание, плюс 1. Так, например, у человека разумного (*Homo sapiens sapiens*) для самцов (диплоидный вариант половых хромосом XY) имеется лишь одна возможность продуктивного спаривания – с самками (диплоидный вариант половых хромосом XX); и наоборот.

Мы неслучайно так подробно разобрали вывод формулы (2) и «количества полов» у *S. commune*, поскольку в научно-популярной литературе и в Интернете можно найти большое количество ошибочных рассуждений. Кроме того, в число аллелей часто включают варианты генетических локусов, содержащие делеции (делитированные варианты), которые не приводят к формированию функциональных продуктов их экспрессии (устаревшие данные – см. [11]), что даёт неправильный завышенный результат для «количества полов».

Если условие (1) выполнено и плазмोगамия прошла успешно, то формируется дикарион – клетка, содержащая два различных (по меньшей мере – в отношении генетических факторов P/R и HD) ядра. Дикариотическая клетка делится, дикариотические гифы разрастаются и при подходящих климатических условиях формируют плодовое тело, которое у грибов также состоит из гиф, но в его составе они имеют иной тип укладки и пространственной организации, нежели в мицелии. Между расщеплёнными пластинками на вогнутой стороне плодового тела формируется гимений, содержащий базидии – специализированные утолщённые окончания дикариотических гиф – в которых происходит слияние гаплоидных ядер (кариогамия). Образующееся в результате кариогамии диплоидное ядро вступает в мейоз и образуются четыре гаплоидные ядра, принимающие участие в споруляции – процессе формирования гаплоидных спор на выростах базидий. При влажной погоде расщеплённые пластинки плодового тела схлопываются, обнажая гимений, и споры осыпаются в субстрат, где прорастают и формируют новый гаплоидный мицелий – это возвращает жизненный цикл в исходную точку (см. выше).

¹ В данном случае, говоря о «количестве полов», авторы имеют в виду биологическое содержание этого термина [4], а не «гендер», который определяется социокультурными и психологическими факторами [1].

Большой практический интерес представляет вопрос о возможности скрещивания потомков одной особи гриба-базидиомицета. Предположим, что базидиальное диплоидное ядро после кариогамии имеет следующий состав факторов, контролирующих размножение: $a_1a_2b_1b_2$ (разумеемся, условие (1) будем считать выполненным). Тогда после мейоза сформируются четыре типа спор: a_1b_1 , a_1b_2 , a_2b_1 и a_2b_2 . Тогда проросшие из них мицелии смогут спариться лишь в $4 / 16 = 25,0\%$ случаев в соответствии с табл. 1.

Таблица 1.

Возможности спаривания потомков особи с базидиальным диплоидным ядром вида $a_1a_2b_1b_2$.

Гаплоидное ядро споры	a_1b_1	a_1b_2	a_2b_1	a_2b_2
a_1b_1	Невозможно: не выполняется (1))	Невозможно: не выполняется (1))	Невозможно: не выполняется (1))	Возможно: выполняется (1)
a_1b_2	Невозможно: не выполняется (1))	Невозможно: не выполняется (1))	Возможно: выполняется (1)	Невозможно: не выполняется (1))
a_2b_1	Невозможно: не выполняется (1))	Возможно: выполняется (1)	Невозможно: не выполняется (1))	Невозможно: не выполняется (1))
a_2b_2	Возможно: выполняется (1)	Невозможно: не выполняется (1))	Невозможно: не выполняется (1))	Невозможно: не выполняется (1))

Этот результат можно использовать для выявления границ грибниц: если потомки двух разных гиф гриба-базидиомицета дают жизнеспособное потомство в отношении 1 : 4, то они принадлежат к одному и тому же мицелию, в противном случае это отношение будет близко к единице.

Рассчитаем, насколько «это отношение будет близко к единице» для *S. commune*: пусть p_{\oplus} – вероятность того, что два случайно взятых гриба-базидиомицета из разных популяций смогут скреститься. Тогда при фиксированных a_1 и b_1 вероятность того, что $a_2 \neq a_1$, равна 287/288; вероятность того, что $b_2 \neq b_1$, равна 80/81. Отсюда:

$$p_{\oplus} = \frac{287}{288} \cdot \frac{80}{81} \approx 98,4\% . \quad (3)$$

Разница между 25,0 % и 98,4 % достаточно значима, а потому потомки одного и того же и разных мицелиев могут быть легко выявлены в эксперименте.

Литература

1. Бёрн Ш. Гендерная психология. СПб.: Прайм-Еврознак, 2004. - 320 с.
2. Бондарцева М.А., Пармасто Э.Х. Определитель грибов СССР. Порядок Arhulophorales. Порядок Афиллофоровые. Вып. 1. Семейства Гименохетовые, Лахнокладиевые, Кониофоровые, Щелелистниковые. Л.: Наука, 1986. - 191 с.
3. Жизнь растений. Т. 2. Грибы. Ред.: М.В. Горленко. М.: Просвещение, 1976.- 480 с.
4. Рыжков В.Л. Генетика пола. – Харьков: Госмедиздат, 1936. – 251 с.
5. Щелканов Е.М., Крылова Н.В., Панкратов Д.В., Бухарова Н.В. Щелелистник обыкновенный (*Schizophyllum commune*) как этиологический агент заболеваний человека // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. – 2023. - №45. – С.151-154.
6. Юй Л., Тулигуел, Хайин Б и др. Лекарственные грибы в традиционной китайской медицине и современных биотехнологиях. Киров: О-Краткое, 2009. - 320 с.
7. Batista A.C., Maia J.A., Singer R. Basidioneuromycosis on man // An. Soc. Pernambuco. – 1955. - N13. – P.52-60.

8. Chen Z., Yin C., Fan X., et al. Characterization of physicochemical and biological properties of Schizophyllum commune polysaccharide extracted with different methods // Int. J. Biol. Macromol. – 2020. - N156. – P.1425-1434.
9. Ciferri R., Batista A.C., Campos S. Isolation of Schizophyllum commune from a sputum // Att. Inst. Bot. Lab. Crittogam. Univ. Pavia. -1956. - N14 – P.3-5.
10. Coelho M.A., Bakkeren G., Sun S., et al. Fungal sex: The Basidiomycota // Microbiol. Spectr. – 2017. – V.5, N3. – P.10.
11. Ohm R.A., de Jong J.F., Lugones L.G., et al. Genome sequence of the model mushroom Schizophyllum commune // Nat. Biotechnol. 2010. - V.28,N9.–P.957-963.
12. Ruan-Soto F., Garibay-Orijel R., Cifuentes J. Process and dynamics of traditional selling wild edible mushrooms in tropical Mexico // J. Ethnobiol. Ethnomed. -2006. - N2. – P.3.
13. Scott M.P., Tamkun J.W., Hartzell G.W. The structure and function of the homeodomain // Biochim. Biophys. Acta (BBA) – Rev. Cancer. – 1989. – V.989,N1. – P. 25-48.
14. Thongsiri C., Nagai-Yoshioka Y., Yamasaki R., et al. Schizophyllum commune β -glucan: Effect on interleukin-10 expression induced by lipopolysaccharide from periodontopathic bacteria // Carbohydr. Polym. – 2021. -N253. – P.117285.

Сведения об ответственном авторе:

Щелканов Егор Михайлович – студент факультета естественных наук Государственного университета просвещения, Москва, Россия. тел. 89243215162, e-mail: egorshchelkanov@mail.ru
