

К. В. КОСИКОВ

**ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ГАМЕТОГЕНЕЗА  
(СПОРООБРАЗОВАНИЯ) У ДРОЖЖЕЙ РОДА *SACCHAROMYCES***

(Представлено академиком А. И. Опариным 4 VI 1948)

Полученные гибриды между *Saccharomyces ellipsoideus* × *S. globosus* (1), благодаря различиям исходных видов в способности сбраживать сахара и обильному спорообразованию во втором и третьем поколениях в культурах из одной споры, позволили провести генетический анализ механизма клеточного деления при спорообразовании. Изучение этих гибридов по их способности сбраживать сахара (2) показало, что расщепление во втором поколении по этим признакам связано с ядерной, хромосомной наследственностью. Расщепление во втором поколении гибридов изучалось преимущественно на культурах из одной споры, происходящих из четырехспоровых асков.

Известно, что при спорообразовании у сахаромикетов образуются не только 4-споровые аски, но также 1-, 2-, 3- и очень редко 5- и 6-споровые аски. Представляет общебиологический интерес выяснить вопрос, как идет расщепление в асках с различным количеством спор. Имеется ли и здесь необходимость предположить во всех случаях редукционное деление и связанное с ним соответствующее расщепление?

Вследствие трудности объекта цитологически исследовать деление ядер и поведение хромосом при спорообразовании у сахаромикетов до сих пор не удалось, поэтому генетические данные по этому вопросу представляют особенный интерес.

Виды *Saccharomyces ellipsoideus* и *S. globosus* хорошо скрещиваются между собой путем копуляции прорастающих спор. По отношению к сахарам эти виды значительно отличаются друг от друга. *S. ellipsoideus* сбраживает: глюкозу, галактозу, рафинозу, сахарозу и мальтозу. *S. globosus* сбраживает только глюкозу и галактозу. Гибридные клетки первого поколения сбраживают все сахара, какие сбраживает *S. ellipsoideus*, т. е. в первом поколении проявляется полное доминирование по ферментативным способностям. При расщеплении во втором поколении гибридов в предыдущих исследованиях нами было установлено, что способность сбраживать рафинозу наследуется всегда совместно со способностью сбраживать сахарозу. Это согласуется с общеизвестным фактом, что сахароза и рафиноза гидролизуются одним и тем же ферментом дрожжей — сахаразой. Способность сбраживать сахарозу и мальтозу наследуется независимо. Исходя из этих данных, для решения поставленного вопроса было использовано расщепление гибридов только по двум признакам: по сбраживаемости сахарозы и мальтозы.

Расщепление асков, получение гибридов путем соединения изолированных спор и изоляции спор второго и третьего поколений гибридов проводились по методу Винге (3) с некоторыми видоизменениями. В качестве среды для размножения применялось сусло 7 Балл. Определение

способности сбраживать сахара проводилось в трубках Дунбара. Соответствующий сахар в количестве 2% готовился на несколько измененной среде Ридера, а именно:  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  1,5 г, аспарагин 1,73 г, NaCl 0,5 г,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,7 г,  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  0,4 г,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1,0 г,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0,1 г, автолизат дрожжей 5%, вода водопроводная, автоклавированная при 1 атм. и профильтрованная через бумажный фильтр до 1 л. Наблюдение за способностью сбраживать сахара проводилось в течение 10 суток. Зараженная среда в трубках Дунбара ежедневно перемешивалась. Если за этот период времени выделения  $\text{CO}_2$  не наблюдалось, культура считалась неспособной сбраживать испытуемый сахар.

Из гибридной культуры первого поколения было изолировано и рассечено асков: 4-споровых 45, 3-споровых 36, 2-споровых 24 и 1-споровых (споры прорастали в неповрежденном аске) 20. Большая часть асков оказалась с неполностью жизнеспособными спорами. Такие аски были исключены из опыта. В результате с полностью жизнеспособными спорами было отобрано асков: 4-споровых 7, 3-споровых 3, 2-споровых 4, 1-споровых 10. Данные по расщеплению этих асков в отношении сбраживания сахарозы и мальтозы представлены в табл. 1.

Таблица 1

Данные по расщеплению в различных типах асков во втором поколении гибрида *Saccharomyces ellipsoideus* × *S. globosus* (культуры из одной споры)

Типы асков	№ асков	I культуры, сбраживающие сахарозу и мальтозу	II культуры, сбраживающие только сахарозу	III культуры, сбраживающие только мальтозу	IV культуры, не сбраживающие ни сахара- розу, ни маль- тозу
1-споровые . . . . .	1				+
	2				+
	3				+
	4		+		
	5	+		+	
	6	+			
	7		+		
	8	+			
	9		+		
	10	+	+		
2-споровые . . . . .	1	+			+
	2		+		+
	3		+	+	+
	4		+	+	+
3-споровые . . . . .	1		+	++	
	2	++	+	++	
	3	+	+	+	+
4-споровые . . . . .	1	++			++
	2	++	++	++	++
	3	+	+	+	+
	4		++	++	+
	5		++	++	++
	6	+	+	+	+
	7		++	++	++
Итого . . . . .		12	17	15	11

Из табл. 1 видно, что во всех исследованных типах асков (1-, 2-, 3- и 4-споровых) при спорообразовании идет расщепление по изучавшимся

признакам. Среди 1-споровых асков были обнаружены все 4 возможные типы гамет (спор), характерные для дигибридного скрещивания: исходные родительские (I и IV группы) и две промежуточные (II и III группы). То же самое было обнаружено и в отношении 2-, 3- и 4-споровых асков.

Анализ расщепления в 4-споровых асках показывает, что в каждом аске образуются 2 споры обладающие и 2 споры не обладающие любым из двух признаков — сбраживание сахарозы или мальтозы. Это согласуется с расщеплением, ожидаемым при редукционном делении хромосом с последующим образованием 4 гаплоидных спор. В 3-, 2- и 1-споровых асках происходит тот же процесс, что и в 4-споровых, только здесь, очевидно, после редукционного деления и образования 4 гаплоидных ядер, не каждое из них дает начало споре, часть ядер отмирает, в результате чего и образуются аски с меньшим числом спор, чем 4. Но одна спора содержит только гаплоидное число хромосом.

Если во всех случаях при образовании спор имеет место редукционное деление, то культуры из одной споры должны быть гомозиготны по изучавшимся признакам.

Для проверки этого предположения был проведен анализ гибридов третьего поколения.

В культуре из одной споры второго поколения, полученной из 1-спорового аска № 5 и образовавшей достаточное количество асков различных типов, было изолировано 20 спор, которые дали отдельные культуры — третье поколение гибрида. Все 20 культур хорошо сбраживали и сахарозу и мальтозу, как и их родители второго поколения. В культуре из 1-спорового аска № 1 было изолировано и отобрано 15 спор; все они дали культуры, не сбраживающие ни сахарозу, ни мальтозу, как и их родители второго поколения. В культуре из 2-спорового аска № 1 (сбраживает сахарозу и мальтозу) было изолировано 20 спор; все они дали культуры, сбраживающие и сахарозу и мальтозу. В культуре из 3-спорового аска № 2 (сбраживает сахарозу и мальтозу) было изолировано 18 спор; все они дали культуры, сбраживающие и сахарозу и мальтозу. В культуре из 4-споровых асков было изолировано 62 споры из всех 4 групп расщепления. Все они дали культуры, сбраживающие те же сахара, как и их исходные родители второго поколения. Таким образом, на проверку расщепления в третьем поколении было исследовано 13 культур из одной споры. Из этих 13 культур было изолировано 135 спор. Проверка на сбраживаемость сахаров показала, что ни одна из 13 исследованных культур внутри себя не дала расщепления, т. е. все они оказались гомозиготными по изучавшимся признакам.

На способность сбраживать сахара было изучено 54 культуры, каждая из которых образовалась из одной вегетативной гибридной клетки. Эти гибридные клетки, в свою очередь, произошли в результате ряда последовательных делений путем почкования от первичной гибридной клетки первого поколения. Оказалось, что все культуры из таких вегетативных гибридных клеток сбраживали как сахарозу, так и мальтозу, т. е. расщепления в данном случае не наблюдалось. Поэтому следует считать, что все вегетативные клетки, происшедшие от первичной гибридной клетки путем вегетативного размножения, по своей генетической структуре соответствуют первому поколению гибрида.

Проведенные исследования показали, что:

1. При вегетативном размножении гибридных клеток первого поколения, когда диплоидная клетка путем почкования образует такую же диплоидную клетку, расщепления по изучавшимся признакам среди культур, полученных из одной клетки, не обнаружено.

2. Во втором поколении (спорообразование) расщепление обнаружено в 1-, 2-, 3- и 4-споровых асках, причем характер расщеп-

ления позволяет предположить наличие редукционного деления для всех типов асков, в результате чего образуются гаплоидные споры.

3. В третьем половом поколении расщепления не обнаружено; культуры из одной споры по изучавшимся признакам оказались гомозиготными.

Следует подчеркнуть, что приведенные здесь данные по расщеплению получены на однородной среде при одинаковых, стандартных условиях опыта. Проведенные мной предварительные опыты по выращиванию гибридов на различных средах и в различных условиях культивирования показали, что таким путем можно изменить закономерно наблюдаемые отношения при расщеплении, хотя степень и характер проявления измененных признаков в этом случае будет значительно отличаться от обычного.

Институт генетики  
Академии Наук СССР

Поступило  
13 V 1948

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> К. В. Косиков, Микробиология, **16**, в. 5 (1947). <sup>2</sup> В. И. Кудрявцев и К. В. Косиков, Микробиология, **16**, в. 6 (1947). <sup>3</sup> O. Winge and O. Laustsen, Comp. Rend. Labor. Carlsberg, sér. physiol., **22**, No. 6 (1937).