

## Intranucleäre Meiose bei *Agaricus bisporus*

Von Ch. Thielke

Bei niederen Organismen sind intranucleäre Kernteilungen mehrfach festgestellt worden. Sie sind auch bei niederen Pilzen und ebenfalls bei Ascomyceten gefunden worden, während Basidiomyceten einen etwas veränderten Modus der Kernteilung aufweisen sollen (Frank 1974). Beobachtungen über die Mitosen in lebenden Mycelien verschiedener Basidiomyceten sowie elektronenoptische Untersuchungen an meiotischen Basidien von *Coprinus* konnten jedoch nachweisen, daß zumindest bei einigen Objekten die Kernteilungen im Innern einer permanent vorhandenen Kernmembran ablaufen (Thielke 1973 und 1974). Nachdem auch für den Kulturchampignon schon einige Hinweise auf einen vergleichbaren Modus der Meiose vorgelegt wurden (Thielke 1971), schien es angebracht, weitere Befunde von diesem Objekt zusammenzutragen. Es kommt hinzu, daß in den letzten Jahren eine Reihe von elektronenoptischen Studien über die meiotische Basidie erschienen ist (Clemençon 1969; McLaughlin 1971; Radu, Steinlauf und Koltin 1974; Setliff, Hoch und Patton 1974; Gull und Newsam 1975 a u. b), so daß es jetzt wichtig wäre zu prüfen, ob die Befunde von verschiedenen Arten sich wenigstens für die *Agaricales* verallgemeinern lassen.

### Material und Methode

Von *Agaricus bisporus* wurde der gleiche Stamm verwendet, der schon 1967 zur Untersuchung diente. Er wurde auf Pferdemitbeeten im Institut herangezogen. Die Fixierung des Hymeniums erfolgte für 60 min. in Glutardialdehyd (pH 7,1) mit daran anschließender Behandlung in 1 % OsO<sub>4</sub> für ebenfalls 60 min. bei 20°C. Während der Entwässerung in Aceton wurde eine Stückkontrastierung mit 1 % Uranylacetat gelöst in 70 % Aceton vorgenommen. Die Dünnschnitte wurden außerdem mit Bleicitrat kontrastiert und dann mit den Elmiskopen I,<sup>+</sup> II,<sup>+</sup> sowie mit dem Elmi 51 untersucht.

Beim Kulturchampignon erfolgt die Reifung der Basidien über einen Zeitraum von mehreren Tagen. Man kann daher in Serienschnitten alle Entwicklungsstadien nebeneinander finden. Da jedoch bei älteren Pilzen die zahlreichen hartwandigen Sporen bei der Herstellung der Schnitte störten, wurden vorwiegend solche Fruchtkörper verwendet, bei denen das Velum sich gerade öffnete. Bei chiasmatischen Basidien sind die Chancen,

---

\* Herrn Prof. Dr. E. Wiesenberger, Fachbereich Chemie, danke ich für den Arbeitsplatz an diesen Instrumenten.

Medianschnitte durch die Kernspindeln zu erhalten, auf Querschnitten durch die Basidien größer; es wurde deshalb meistens diese Schnittrichtung benutzt.\*

## Ergebnis

Bei diesen Untersuchungen zeigten sich die Kerne in einer für die einzelnen Teilungsstadien charakteristischen Lage. Die noch haploiden Kerne liegen ebenso wie die diploiden im mittleren Niveau der Basidien. Die meiotischen Teilungsstadien sowie die postmeiotischen Kerne sind stets im oberen Bereich der dann stärker gestreckten Basidie zu finden.

Alle Interphasekerne besitzen einen an der inneren Kernmembran haftenden Nucleolus sowie ein der äußeren Kernmembran anliegendes Centrioläquivalent, das als „centriolar plaque“, „spindle pole body“, „microtubuli organizing centre“ u. a. beschrieben worden ist (McLaughlin 1971; Setliff, Hoch und Patton 1974; Gull und Newsam 1975). Dieses Organell ist z. T. durch seine kinetische Funktion gekennzeichnet (Girbardt 1973). So läßt sich vermuten, daß die Kopulation der haploiden Kerne dadurch eingeleitet wird, daß die Kernmembranen dort miteinander zuerst Kontakt bekommen, wo sie durch die Centrioläquivalente zueinander geführt wurden. Auffällig häufig sind Stadien zu finden, in denen diese Körper an den auf gleicher Ebene befindlichen haploiden Kern opponiert zueinander stehen (Abb. 1a). Da sowohl haploide als auch diploide Kerne nur einen Nucleolus besitzen, ist die eben vollzogene Kernfusion in günstigen Anschnitten daran zu erkennen, daß innerhalb eines Kernes vorübergehend zwei Nucleolen auftreten (Abb. 1b). Der diploide prämeiotische Kern ist außerdem an seiner besonderen Größe zu erkennen, die unmittelbar vor der ersten meiotischen Teilung stark zunimmt und damit ein größeres Volumen bekommt, als es der Summe zweier haploider Kerne entspricht. Die erste Teilung des diploiden Kernes ist meiotisch. Als Kennzeichen der einsetzenden Meiose tritt später in solchen Kernen ein synaptischer Komplex auf, der sich von dem anderer Pilze und anderer Eukaryonten nicht unterscheidet. Auch bei diesem Objekt ist eine Querverbindung zwischen der zentralen Achse und den seitlichen Elementen in Form von periodisch sich verdichtenden Filamenten vorhanden (Abb. 1c). In den diploiden Basidien trägt die Kernaußenseite zunächst noch ein Centrioläquivalent, das meistens in einer Vertiefung der perinucleären Zisterne liegt; in günstigen Anschnitten ist es in hantelförmigem Stadium zu erkennen, das in gleicher Form auch bei anderen Arten und auch vor der Mitose nachgewiesen wurde (Lerbs und Thielke 1969; Thielke 1971; McLaughlin 1971; Girbardt 1973; Gull und Newsam 1975). Dabei scheinen die beiden globulären Enden die speziellen Zentren für die Ausbildung von Mikrotubuli zu sein, während das elektronendichte Zwischenstück bei der Teilung allmählich verschwindet. Die Spindelachse entsteht zwischen den auseinanderweichenden Plaques. Sie besteht – wie es an entsprechend orientierten Schnitten nachgezählt werden kann – aus einem Bündel von 30–40 Mikrotubuli, die an den zu Spindelpolen gewordenen Centrioläquivalenten direkt inserieren. Dabei wird eine Verlagerung vorgenommen, derart, daß nun der gesamte, zunächst asymmetrisch ausgebildete Spindelkörper innerhalb der geschlossenen Kernmembran liegt (Abb. 2a). Offenbar kann sich die Kernmembran so flexibel verhalten, daß eine Invagination des Spindelapparates möglich ist; eine lückenlose Folge der entsprechenden Stadien konnte jedoch bisher nicht dargestellt werden.

\* Für die präparativen Arbeiten danke ich Frau A. Lederer

Während der späten Prophase erscheint das chromosomale Material als elektronendichte Struktur, z. T. von Mikrotubuli durchsetzt, stets aber von Kernmembranen umgeben. Da keine vollständigen Schnittserien vorliegen, nach denen ein Modell des Meiosekernes hergestellt werden könnte, läßt sich die Frage nicht entscheiden, ob mehrere freie Chromosomen hier vorkommen, oder ob – wie es für die Mitose mehrerer Pilze angenommen wird (Diskussion s. Day 1972) – das gesamte Material innerhalb eines Stranges organisiert ist. Eine Äquatorialplatte scheint zu fehlen. Aus diesem Grund läßt sich auch der Zeitpunkt der Metaphase schwer bestimmen. Sicher ist jedoch, daß ein Teil der Mikrotubuli kontinuierlich von einem Pol zum anderen hinüberführt (Abb. 2a), während daneben andere existieren, die an nur einem Pol inserieren und mit dem anderen Ende am Chromatin haften (Abb. 2b). In der Telophase I ist dann das chromosomale Material an den jeweils nach außen orientierten Centrioläquivalenten kondensiert. Diese befinden sich zu diesem Zeitpunkt wieder außerhalb der Kernmembran und sind dann stets dicht am Plasmalemma lokalisiert (Abb. 2c).

Da dieser gesamte Prozeß im Innern einer kontinuierlichen Kernhülle stattfindet, muß die Membran der Tochterkerne sich direkt von der des prämeiotischen Kernes herleiten lassen. Da das Volumen der beiden Tochterkerne zusammen sehr viel geringer ist, als es dem prämeiotischen entspricht, wird nicht die gesamte Membran des Mutterkernes verbraucht. Daher sind Membranreste noch oft in der Mitte der Zelle als Verbindung zwischen den beiden Telophasekernen bzw. ihrer Folgestadien erhalten (Abb. 3a). Gelegentlich schließen sie noch einen Raum ein, der zwar Ribosomen enthält, jedoch frei von Mitochondrien ist (Abb. 3b). Er läßt sich als Restkern auffassen, dessen Ribosomen aus dem aufgelösten Nucleolus des Mutterkernes stammen. Die Hülle dieses Restkernes läßt sich noch nachweisen, wenn die zweite meiotische Teilung einsetzt. Sie umfaßt (in Abb. 3a) die rechte Teilungsfigur mit Spindelpolen, Mikrotubuli und Chromatin, führt außerdem zum linken Teilungskern hinüber, der nun seitlich im Schnitt getroffen ist. Dabei kommt es vermutlich durch Faltenbildung zu einer Parallellagerung dieser Membranflächen. Das entsprechende gilt für die Situation in Fig. 4a, die zugleich der Beweis dafür ist, daß beide Teilungsspindeln synchron auftreten. Auch diese zweite Teilung verläuft im Innern von geschlossenen Kernmembranen. Sie scheint mitotisch zu sein, da bisher niemals synaptische Komplexe zu diesem Zeitpunkt gefunden wurden. Die Centrioläquivalente befinden sich während der meiotischen Interphase außerhalb der Kernmembranen. Sie werden jetzt wieder nach innen verlagert; dort fungieren sie erneut als Spindelpole. An ihnen inserieren die Mikrotubuli der Spindelachse sowie diejenigen, die an der Verteilung des chromosomalen Materials beteiligt sind (Abb. 4b). Die zweite Telophase entspricht dann wieder völlig der ersten. Es kommt wieder zu einer Rückverlagerung der Centrioläquivalente nach außen. Dabei ist zu erkennen, daß offenbar diese Verlagerung als Evagination abläuft. Die außen liegende Kernmembran wird vermutlich abgefaltet, umschließt vorübergehend das Centrioläquivalent völlig und verschwindet dann allmählich, bis ein Zustand erreicht ist, der dem in Abb. 2c dargestellten entspricht (Abb. 4c).

### Diskussion der Ergebnisse

Die verschiedenen meiotischen Stadien der Basidien sind durch eine jeweils charakteristische Lage der Kerne gekennzeichnet, wie sie für andere Basidiomyceten mit chiasmatischen Basidien geschildert wurden (Clemençon 1969; Setliff, Hoch und Patton 1974). Die Reifung erfolgt nicht synchron wie bei *Coprinus* (Raju und Lu 1971; Lerbs 1971; Thielke 1974); man kann also in den Schnitten alle Stadien nebeneinander finden.

Intranucleäre Spindelapparate wurden auch bei der Mitose der Basidiomyceten beobachtet. Da die Mitosen in vegetativen Mycelien sich *in vivo* verfolgen lassen, ist die Möglichkeit gegeben, die Geschwindigkeit dieses Vorganges zu kontrollieren. Er kann innerhalb von 3–7 Minuten vollendet sein (Thielke 1973). In solchen Fällen ist eine persistierende Kernmembran wahrscheinlich von ökonomischem Wert.

Bei der Mitose in somatischen Zellen konnte die Existenz einer persistierenden Kernmembran auch daran erkannt werden, daß der gesamte Kernraum turgeszent bleibt. Es muß also auch während der Invagination des Centrioläquivalents zu Beginn der Teilung und während der Evagination zur Zeit der Telophase ein vollständiger Abschluß erreicht werden. Da die Meiose nicht *in vivo* beobachtet werden kann, ist die Turgeszenz des Kerninnenraums nicht zu beweisen und lediglich in Analogie zur Mitose anzunehmen. Wenn dann trotzdem einige elektronenoptische Arbeiten dieser Annahme widersprechen (Lu 1966; Lerbs 1971; McLaughlin 1971), dann mag das auf artefizielle Veränderungen während der Fixierung zurückzuführen sein. Eine besondere Flexibilität der Kernmembran muß dort vorliegen, wo zu Beginn der 1. und der 2. meiotischen Teilung das Centrioläquivalent von außen nach innen wandert und wo in den Telophasen die Rückverlagerung erfolgt. Diese Flexibilität könnte die Ursache einer Fixierungsstabilität sein, so daß dann von einer lokal begrenzten Öffnung der Kernmembran gesprochen wird (Setliff, Hoch und Patton 1974). Die in Abb. 2a b u. 4a vorhandene Diskontinuität der Membranen beruht wahrscheinlich ebenfalls auf der Bildung solcher Artefakte.

Die Tatsache, daß Kernteilungen innerhalb der geschlossenen Kernmembran durchgeführt werden, kann recht gut die Berichte erklären, daß das Spindelgift Colchicin bei Pilzen ganz allgemein so schwer angreifen kann (Bellinger 1956, Girbardt 1971). Nach eigenen unveröffentlichten Untersuchungen sind verschiedene Pilze imstande, auf Nährböden auch dann unbeeinflusst weiterzuwachsen, wenn diese 0,1–1,0% Colchicin enthalten. Die permanent vorhandene Kernmembran erschwert offenbar den Zugang dieser Substanz zur Spindel.

Zur Morphologie des chromosomalen Materials lassen sich vorerst noch keine Angaben machen. Bezüglich der Mitose wurden verschiedene Modelle diskutiert (Day 1971). Danach scheinen die Chromosomen der Pilze sich auch insofern abweichend zu verhalten, als es bei ihnen nicht zur Bildung einer Metaphaseplatte kommt. In Übereinstimmung mit den Befunden an *Poria* (Setliff, Hoch u. Patton 1974) läßt sich jedoch feststellen, daß das chromosomale Material auch im Interphasekern dort an der Kernmembran inseriert ist, wo außen das Centrioläquivalent assoziiert ist (Abb. 3c).

Der Nachweis des synaptischen Komplexes spricht eindeutig dafür, daß die erste Teilung nach der Karyogamie eine Reduktionsteilung ist. Ganz gleichartige Strukturen wurden bei vielen anderen Organismen und speziell auch bei mehreren Basidiomyceten nachgewiesen (Lu 1966; Volz, Heintz, Jersild u. Niederpruem 1968, McLaughlin 1970; Rau, Steinlauf u. Koltin 1974; Thielke 1971, 1974; Gull u. Newsam 1975 b).

### Zusammenfassung

Im Hymenium von *Agaricus bisporus* reifen die Basidien nicht synchron. Beide meiotischen Kernteilungen laufen innerhalb der geschlossenen Kernmembran ab. Die Reduktionsteilung ist daran zu erkennen, daß – wie bei anderen Organismen – während der Prophase normal strukturierte synaptische Komplexe auftreten. Kontrastreiche Centrioläquivalente liegen zur Zeit der Interphase außen an der Kernmembran. Mit Ausbildung

des Spindelapparates werden sie als Spindelpole nach innen verlagert und wandern dann, nach Abschluß der Kernteilung, in der Telophase erneut durch die Kernmembran hindurch wieder nach außen.

## Literatur

BELLINGER, H. (1956) – Kerndarstellungen bei Schimmelpilzen mittels verschiedener Färbungen und Versuche zur Polyploidisierung mit Colchicin. Zbl. Bakt. II 109, 13–16.

CLEMENCON, H. (1969) – Reifung und endoplasmatisches Retikulum der Agaricales-Basidie. Z. f. Pilzkunde 35, 295–304.

DAY, A. W. (1972) – Genetic implications of current models of somatic nuclear division in fungi. Canad. J. Bot. 50, 1337–1347.

FRANKE, W. W. (1974) – Structure, biochemistry and functions of the nuclear envelope. Intern. Rev. Cytol. Suppl. 4, 71–236.

GIRBARDT, M. (1971) – Submikroskopische Cytologie der Pilzzelle. Fortschr. Bot. 33, 19–32.

GIRBARDT, M. (1973) – Die Pilzzelle. In Grundlagen der Cytologie, G. Fischer, Jena, 441–460.

GULL, K. and R. J. NEWSAM (1975a) – Meiosis in Basidiomycetous Fungi I. Fine structure of spindle pole body organisation. Protoplasma 83, 247–257.

GULL, K. and R. J. NEWSAM (1975b) – Meiosis in Basidiomycetous Fungi II. Fine structure of the synaptonemal Complex. Protoplasma 83, 259–268.

MCLAUGHLIN, D. J. (1970) – Some aspects of hymenial fine structure in the mushroom *Boletus rubinellus*. Am. J. Bot. 57, 745.

MCLAUGHLIN, D. J. (1971) – Centrosomes and microtubules during meiosis in the mushroom *Boletus rubinellus*. J. Cell. Biol. 50, 737–745.

LERBS, V. (1971) – Licht- und elektronenoptische Untersuchungen an meiotischen Basidien von *Coprinus radiatus* (Bolt) Fr. Arch. Mikrobiol. 77, 308–330.

LERBS, V. und Ch. THIELKE (1969) – Die Entstehung der Spindel während der Meiose von *Coprinus radiatus*. Arch. Mikrobiol. 68, 95–98.

LU, B. C. (1966) – Fine structure of meiotic chromosomes of the basidiomycete *Coprinus lagopus*. Exp. Cell. Res. 43, 224–227.

RADU, M., R. STEINLAUF and Y. KOLTIN (1974) – Meiosis in *Schizophyllum commune*. Arch. Mikrobiol. 98, 301–310.

RAJU, N. B. and B. C. LU (1971) – Meiosis in *Coprinus* III. Timing of meiotic events in *Coprinus lagopus* (sensu Buller). Canad. J. Bot. 48, 2183–2186.

SETLIFF, E. C., H. C. HOCH and R. F. PATTON (1974) – Studies on nuclear division in basidia of *Poria latemarginata*. Canad. J. Bot. 52, 2323–2333.

THIELKE, Ch. (1967) – Die Feinstruktur der Basidien des Kulturchampignons. Arch. Mikrobiol. 59, 405–407.

THIELKE, Ch. (1971) – New investigations on the structure of mushrooms. IX. Internat. Congr. of Mushroom Science 285–293.

THIELKE, Ch. (1973) – Intranucleäre Mitosen in homokaryotischen und dikaryotischen Mycelien der Basidiomyceten. Arch. Mikrobiol. 94, 341–350.

THIELKE, Ch. (1974) – Intranucleäre Spindel und Reduktion des Kernvolumens bei der Meiose von *Coprinus radiatus* (Bolt) Fr. Arch. Mikrobiol. 98, 225–237.

VOLZ, P. A., C. HEINTZ, R. JERSILD and D. J. NIEDERPRUEM (1968) – Synaptonemal Complexes in *Schizophyllum commune*. J. Bact. 95, 1476–1477.

### Abbildungsunterschriften

**Abkürzungen:** ce = Centrioläquivalent, chr = chromosomales Material, n = Zellkern, nc = Nucleolus, nm = Kernmembran, sp = Spindel, sy = synaptischer Komplex, va = Vakuole.

Maßstab ist jeweils gleich 1  $\mu\text{m}$ .

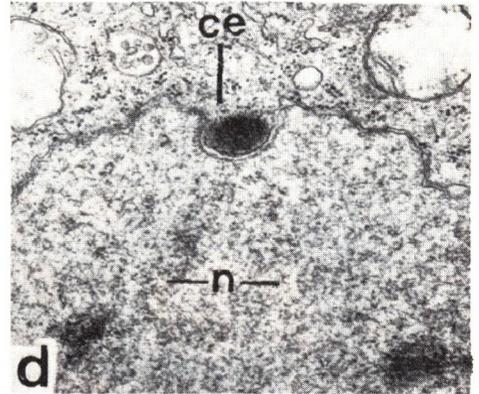
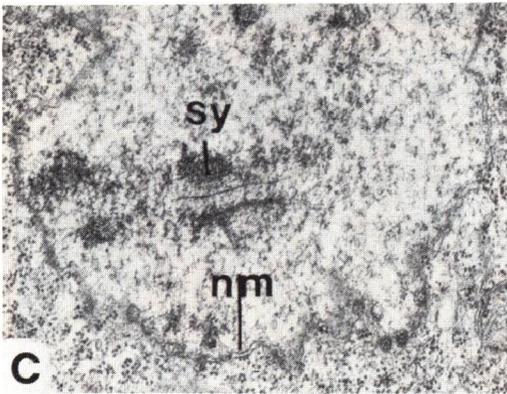
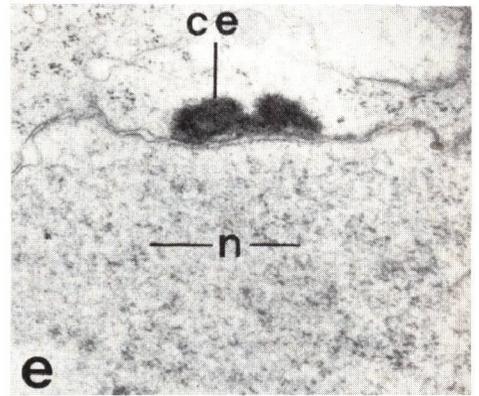
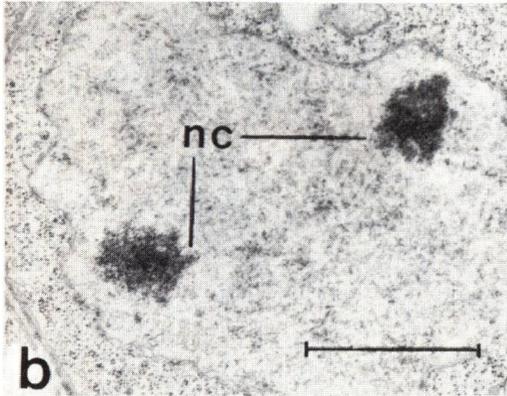
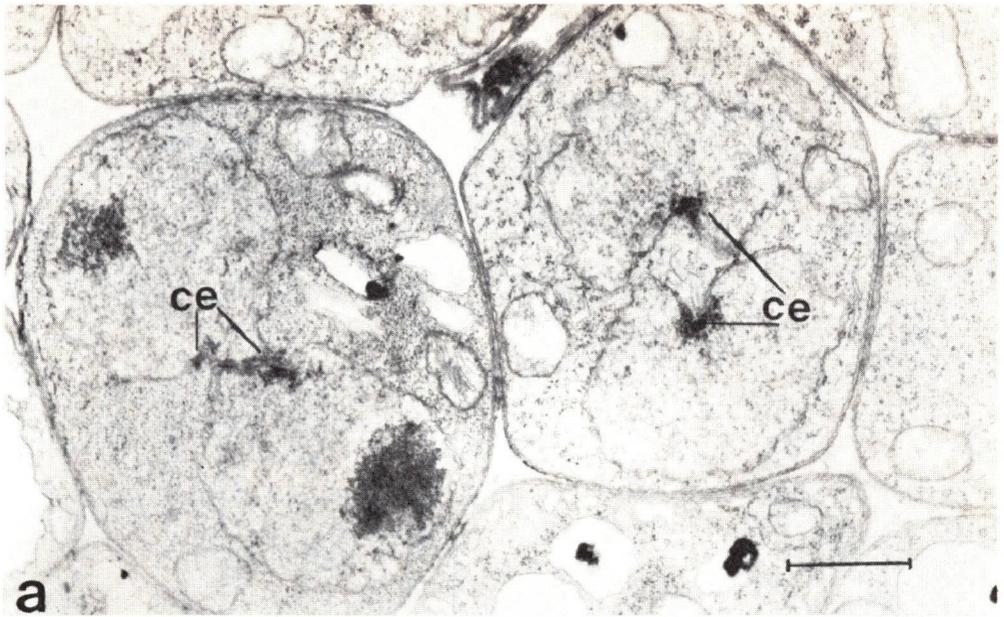
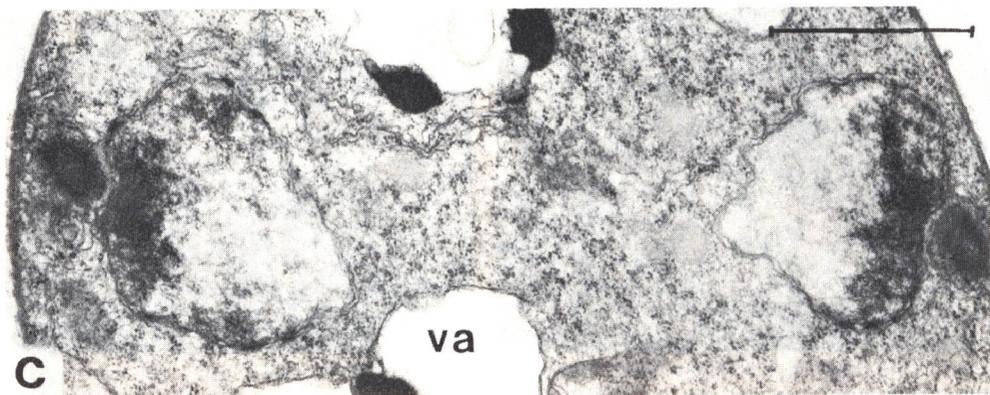
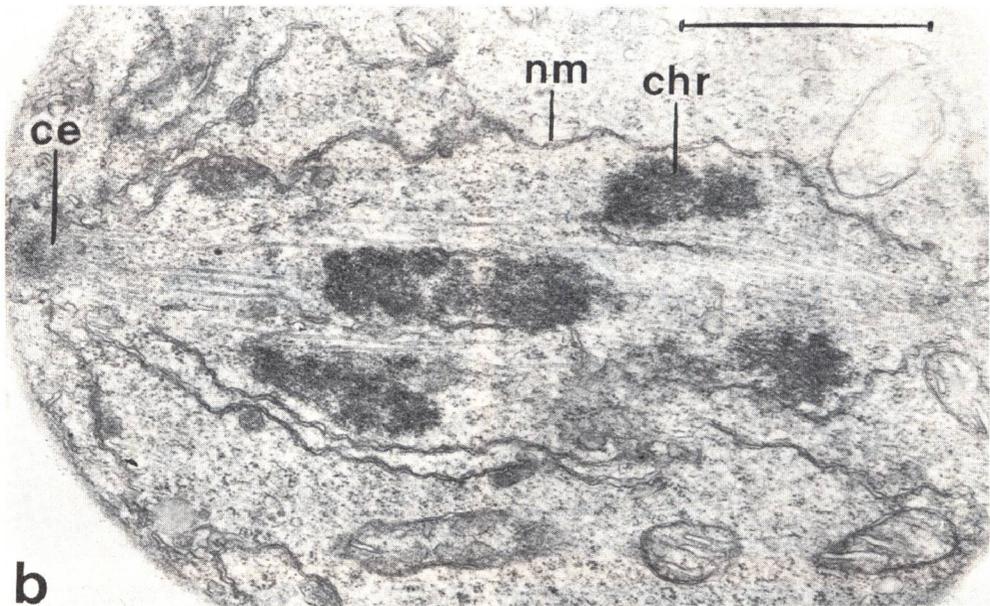
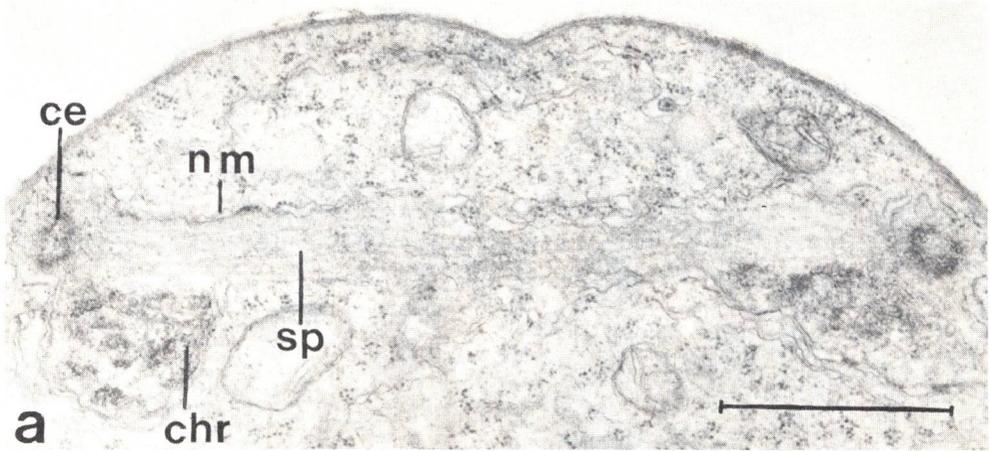


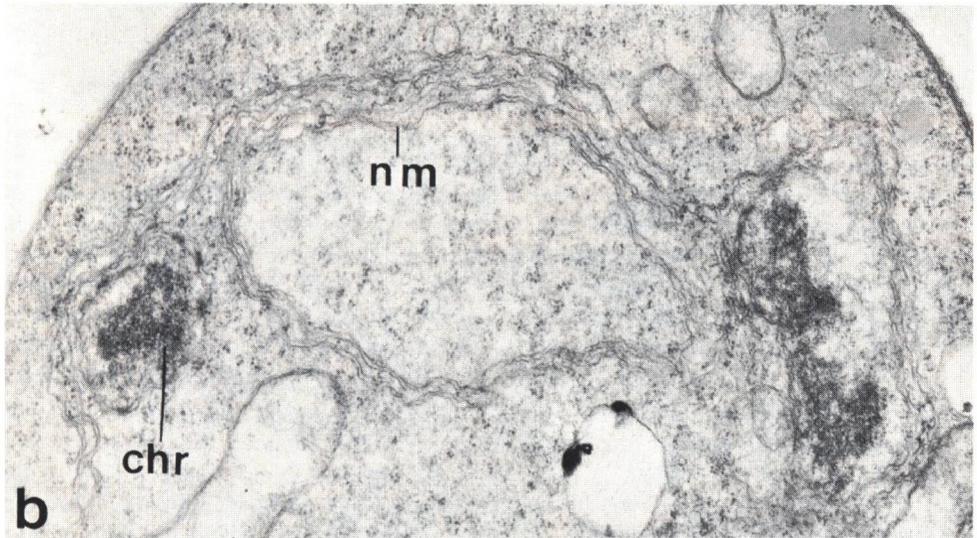
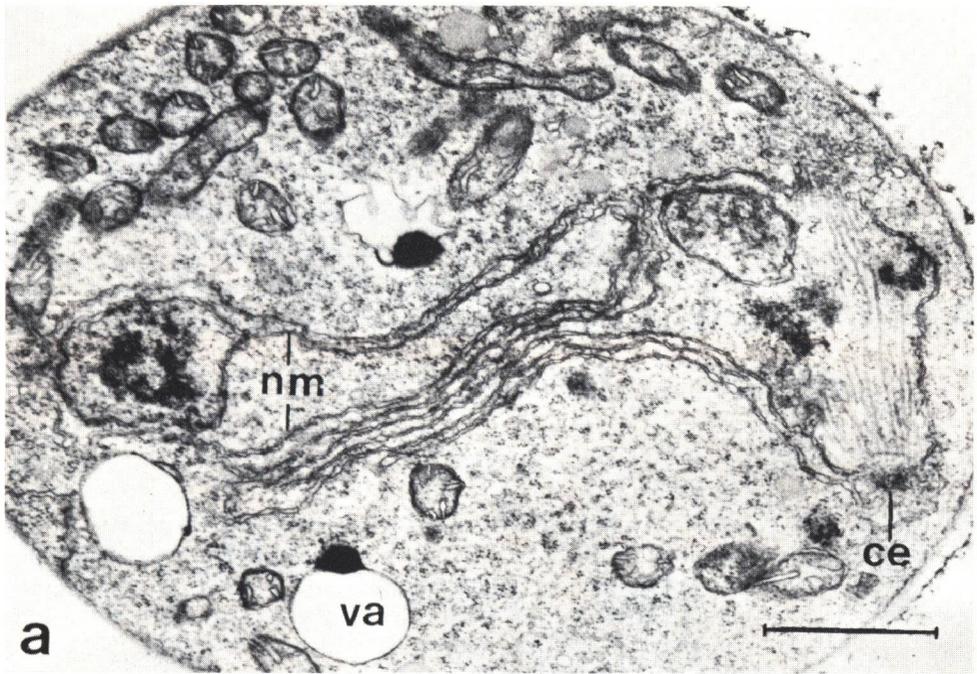
Abb. 1 a: Querschnitt durch prämeiotische Basidien mit noch haploiden Kernen (Aufnahme: Frau Arnhild Lederer).  
 b: Diploider Kern mit zwei Nucleolen.  
 c: Synaptischer Komplex innerhalb des Zellkerns.  
 d: Centrioläquivalent in einer Vertiefung der Kernmembran.  
 e: Centrioläquivalent mit globulären Enden an der Kernmembran.



**Abb. 2 a:** Querschnitt durch die meiotische Basidie, Spindel mit beiden Spindelpolen, an denen chromosomales Material innerhalb der Kernmembran angeschnitten ist.

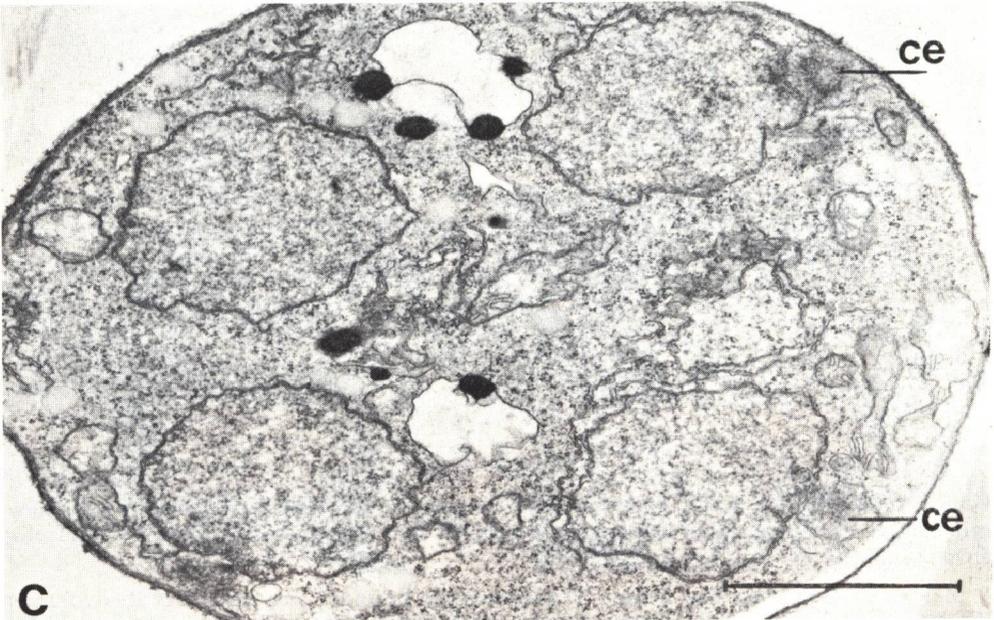
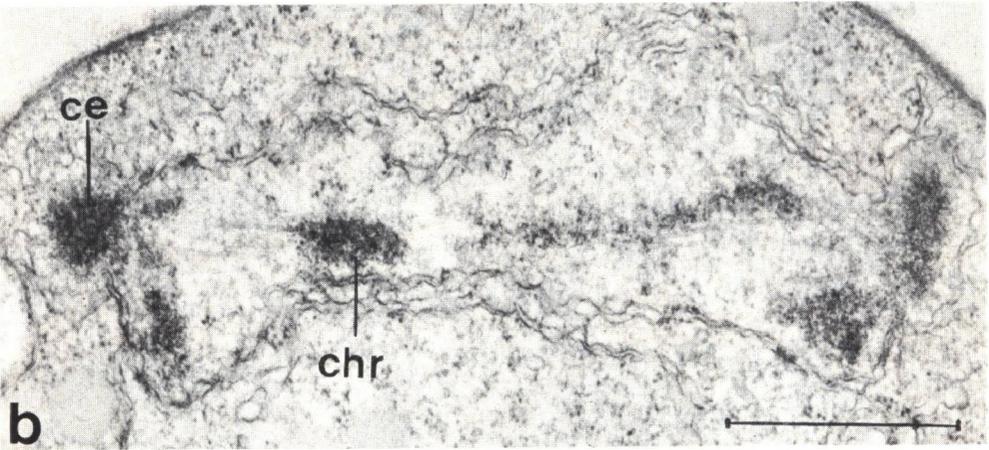
**b:** Fast medianer Schnitt durch einen meiotischen Kern mit einem Spindelpol (links) und Mikrotubuli, die am chromosomalen Material inserieren.

**c:** Telophase I mit nach außen orientierten Centrioläquivalenten.



**Abb. 3 a:** Meiose II: Beide Teilungskerne sind durch die Membranen des Mutterkerns miteinander verbunden. Im rechten Teilungskern sind die Mikrotubuli der Spindelachse längs getroffen.

**b:** Meiose II: Zwischen den beiden Teilungskernen befindet sich noch das Restvolumen des Mutterkerns.



**Abb. 4 a:** Meiose II: Beide Teilungskerne sind durch Membranen miteinander verbunden. Je ein intranucleärer Spindelpol (= ce) ist angeschnitten.

**b:** Meiose II: Der gesamte Teilungskern ist mit den Spindelpolen von der Kernmembran umgeben.

**c:** Vier postmeiotische Kerne; die Centrioläquivalente befinden sich wieder außerhalb

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Zeitschrift für Pilzkunde](#)

Jahr/Year: 1976

Band/Volume: [42\\_1976](#)

Autor(en)/Author(s): Thielke Charlotte

Artikel/Article: [Intranucleäre Meiose bei \*Agaricus bisporus\* 57-66](#)