

Fruiting body initiation in the basidiomycete *Coprinus cinereus*

Doctoral Thesis

Author(s):

Liu, Yi

Publication date:

2001

Permanent link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-004132257>

Rights / license:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#)

DISS ETH Nr.14084

Fruiting body initiation in the basidiomycete

Coprinus cinereus

A dissertation submitted to the
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY ZUERICH
for the degree of
DOCTOR OF NATURAL SCIENCES

presented by

Yi Liu

M.Sc. Biotechnology Wageningen Agriculture University (NL)

born on September 10, 1971

from P.R. China

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Markus Aebi, examiner

Prof. Dr. Linda Thöny-Meyer, co-examiner

PD Dr. Ursula Kües, co-examiner

Zurich 2001

Summary

The basidiomycete *Coprinus cinereus* initiates fruiting body formation in the dark by localized intense branching in the vegetative aerial mycelium. The resulting hyphal complex is called a primary hyphal knot and is about 30 μm in diameter (chapter 3). The primary hyphal knot consists of numerous short hyphae that may twist around each other. It may arise from a single hypha or from two or more neighboring hyphae. Primary hyphal knots have two developmental potentials. When a light signal is given, they transform into compact aggregated secondary hyphal knots, which are the first fruiting body specific structures. In an alternating light/dark rhythm, secondary hyphal knots undergo the whole developmental processes, leading the differentiated primordia to mature fruiting bodies. However, when light is absent, primary hyphal knots develop into multicellular resting structures, called sclerotia.

Two galectins, Cgl2 and Cgl1, β -galactoside binding lectins, are expressed synchronously to the formation of primary and secondary hyphal knots, respectively. Expression of Cgl2 increases during primordium development up to the stage of karyogamy and meiosis (corresponding to approximately 5-8 mm sized primordia). High expression of Cgl1 correlates with hymenium differentiation. At the postmeiotic stage, both galectin genes are not expressed. The temporal and spatial expression patterns of the *cgl* genes provide us with molecular markers to follow the early processes during fruiting body formation (chapter 3).

Specific mutations at both mating-type loci enable *C. cinereus* homokaryon AmutBmut (*A43mut B43mut pab-1*) to develop mature fruiting bodies without mating to another strain. We made use of this self-compatibility of homokaryon AmutBmut to generate a collection of developmental mutants. Mutants defective in forming primary hyphal knots (*pkn*) or secondary hyphal knots (*skn*) were identified (chapter 2). Examination of galectin expression in these mutants indicates that Cgl2 expression and primary hyphal knot formation are two independent but synchronous events (chapter 3).

Mutant 6-031 (*A43mut B43mut skn pab-1*) is developmentally arrested at the transition state from primary to secondary hyphal knots. This defect is caused by a single mutation in a recessive allele (*skn1*). Using a SIB-selection transformation procedure, cosmid 40-5A was isolated from a *C. cinereus* genomic DNA library that complemented the defect. The responsible complementing gene (*cfs1*) on this cosmid encodes a protein highly similar to bacterial cyclopropane fatty acid synthases, a

specific family of S-adenosyl-methionine (SAM) dependent C-methyltransferases. In *E. coli*, this enzyme catalyzes the formation of a cyclopropane ring by transferring a methyl group from SAM to a *cis*-double bond in the unsaturated fatty acid chains of membrane phospholipids, thereby modifying the membrane characteristics. The *cfs1* allele of mutant 6-031 carries a T to G transversion, resulting in an amino acid substitution (Y441D) in the C-terminus of the gene product. Computer programs predict that this region spans the membrane and contributes to enzymatic catalysis. The mutant *cfs1* allele was unable to complement the fruiting deficiency in strain 6-031, suggesting an essential role of gene *cfs1* in fruiting body initiation in *C. cinereus* (chapter 4).

Riassunto

Il basidiomicete *Coprinus cinereus* inizia la formazione del corpo fruttifero al buio attraverso un'intensa ramificazione localizzata nel micelio vegetativo aereo. Il complesso ifale risultante è chiamato nodo ifale primario ed ha un diametro di circa 30 μm (capitolo 3). Il nodo ifale primario è costituito da numerose ife corte che possono avvolgersi l'una all'altra. Può originarsi da un'ifa singola o da due o più ife vicine. I nodi ifali primari hanno due potenzialità di sviluppo. Quando viene fornito un segnale luminoso, si trasformano in aggregati compatti detti nodi ifali secondari, che sono le prime strutture specifiche di fruttificazione. In presenza di cicli giorno/notte, i nodi ifali secondari iniziano l'intero processo di sviluppo, che porta i primordi differenziati a corpi fruttiferi maturi. In assenza di luce, invece, i nodi ifali primari si sviluppano in strutture multicellulari di conservazione, chiamate sclerozi.

Due galectine, Cgl2 e Cgl1, lectine leganti β -galattoside, sono espresse sincronicamente al momento della formazione dei nodi ifali primari e secondari, rispettivamente. L'espressione di Cgl2 aumenta durante lo sviluppo del primordio fino allo stadio di cariogamia e meiosi (corrispondente a primordi della dimensione di circa 5-8 mm). Un'elevata espressione di Cgl1 è correlata con la differenziazione dell'imenio. Entrambi i geni delle galectine non sono espressi allo stadio postmeiotico. I pattern di espressione temporale e spaziale dei geni *cgl* ci forniscono un marcatore molecolare per seguire i processi precoci durante la formazione del corpo fruttifero (capitolo 3).

Mutazioni specifiche ad entrambi i *loci* dei fattori riproduttori mettono in grado l'omocarion AmutBmut di *C. cinereus* (*A43mut B43mut pab-1*) di sviluppare corpi fruttiferi maturi senza accoppiamento con un altro ceppo. Abbiamo utilizzato l'autocompatibilità dell'omocarion AmutBmut per generare una collezione di mutanti dello sviluppo. Sono stati identificati mutanti difettivi della formazione dei nodi ifali primari (*pkn*) o dei nodi ifali secondari (*skn*) (capitolo 2). L'esame dell'espressione delle galectine in questi mutanti indica che l'espressione di Cgl2 e la formazione dei nodi ifali primari sono due eventi indipendenti ma sincroni (capitolo 3).

Il mutante 6-031 (*A43mut B43mut skn pab-1*) è arrestato nello sviluppo a livello della transizione da nodi ifali primari a secondari. Questo difetto è causato da una mutazione singola in un allele recessivo (*skn1*). Utilizzando una procedura di trasformazione che prevede una selezione di tipo SIB, da una libreria di DNA genomico di *C. cinereus* è stato isolato il cosmide 40-5A che complementa il difetto. Il gene responsabile della

complementazione (*cfs1*) su questo cosmide codifica una proteina molto simile alle sintetasi batteriche di acidi grassi ciclopropanati, una specifica famiglia di C-metiltransferasi, dipendenti dalla S-adenosil-metionina (SAM). In *E. coli*, questo enzima catalizza la formazione dell'anello del ciclopropano mediante il trasferimento di un gruppo metilico dalla SAM ad un doppio legame in *cis* nelle catene di acidi grassi insaturi dei fosfolipidi di membrana, modificando di conseguenza le caratteristiche della membrana. L'allele *cfs1* del mutante 6-031 porta una transversione da T a G, risultante nella sostituzione di un amminoacido (Y441D) nel terminale carbossilico del prodotto proteico. Studi sulle banche dati indicano che questa regione attraversa la membrana e contribuisce alla catalisi enzimatica. L'allele mutante *cfs1* non ha la capacità di complementare il difetto di fruttificazione nel ceppo 6-031, suggerendo un ruolo essenziale del gene *cfs1* nell'iniziazione del corpo fruttifero in *C. cinereus* (capitolo 4).