

Kreuzung von *Aspergillus nidulans*

Nicole Sievers, Miriam Krüger und Reinhard Fischer

A*sp**er**g**i**l**l**u**s* *n**i**d**u**l**a**n**s* ist ein filamentöser Schlauchpilz (Euascomycet), der ubiquitär im Boden verbreitet ist und auch im Labor sehr leicht kultiviert werden kann. Dieser Pilz eignet sich neben anderen Pilzarten, wie *Schizosaccharomyces* (die Spaltheefe) oder *Neurospora* (der Brot- oder Bäckerschimmel), sehr gut für genetische Untersuchungen. Er kann sich asexuell durch Konidiosporen und sexuell durch Ascosporen vermehren. Der sexuellen Sporenbildung kann eine Paarung unterschiedlicher Stämme vorangehen, was in Kreuzungsexperimenten ausgenutzt wird. Bei einer Kreuzung kann man beispielsweise Mutanten verwenden, die Defekte in Genen der Pigmentbiosynthese aufweisen, wodurch sie leicht phänotypisch unterschieden werden können (Abbildung 1). Die unterschiedlichen Phänotypen treten direkt wieder bei den Nachkommen einer Kreuzung auf, da es sich bei *A. nidulans* um einen haploiden Organismus handelt. Neben den Mutationen in den Genen für die Pigmentbiosynthese kommen bei *A. nidulans* viele weitere Mutanten vor, in denen bestimmte Enzyme von Stoffwechselwegen defekt sind. Diese können durch Kultivierung der Stämme auf Selektivmedien festgestellt werden (siehe unten).

Im folgenden wird eine Kreuzung mit zwei verschiedenen *A. nidulans*-Stämmen beschrieben. Das Experiment soll dazu beitragen, die Begriffe Neukombination, Rekombination, Heterokaryosis und Epistasie anschaulich zu vermitteln.

Vorbereitungen

Auswahl der Stämme

Für eine *A. nidulans*-Kreuzung werden vorzugsweise Stämme benutzt, die Mutationen in Genen für unterschiedliche Stoffwechselwege besitzen, Auxotrophiemarker. Die verwendeten *A. nidulans*-Stämme SMI45 und

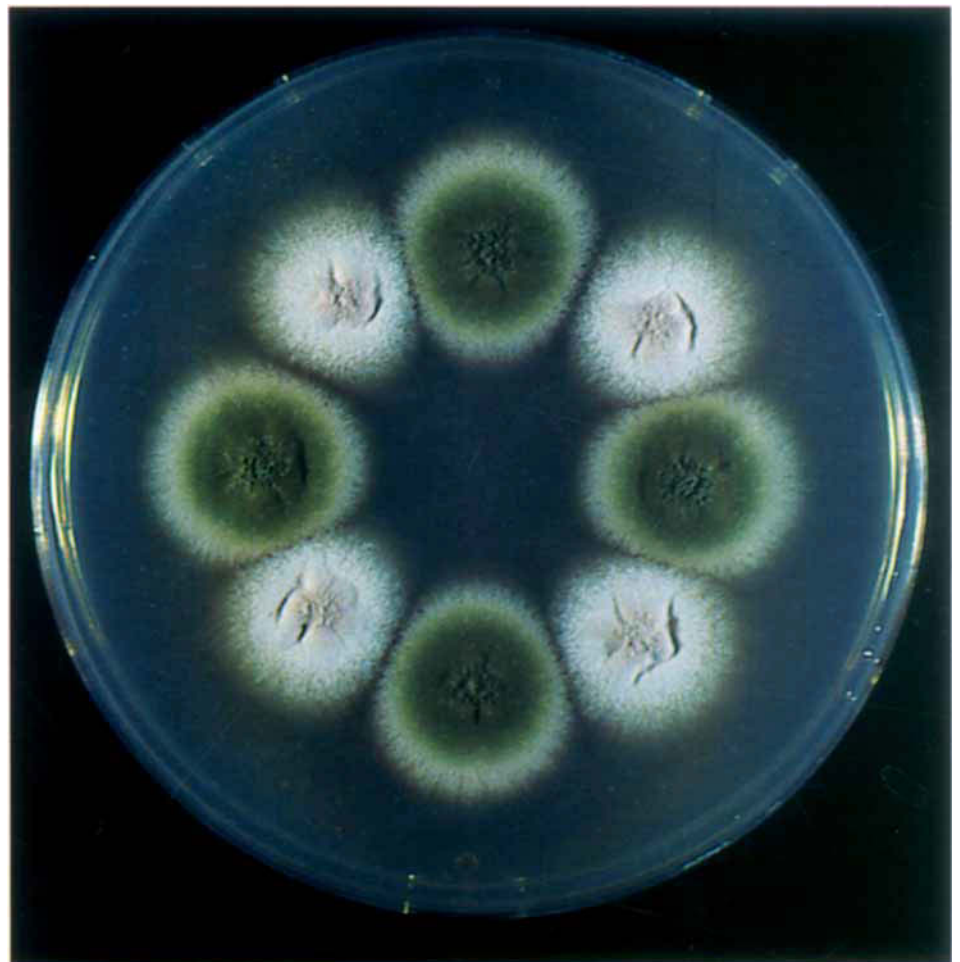


Abb. 1. Die *A. nidulans*-Stämme SMI45 und SSN16 nach zwei Tagen Wachstum auf einer Agarplatte. Die Farbe des grünen Stammes entspricht dem Wildtyp-Phänotyp. Der weiße Stamm hat einen Defekt in der Pigmentbiosynthese der Konidiosporen.

SSN16 können bei den Autoren angefordert werden. Die für diese Anwendung konstruierten Stämme sind Nachkommen von Mutanten, die in der Stammsammlung *Fungal Genetic Stock Center*, Kansas City, USA erhältlich sind. Weitere Informationen zu den Ursprungsstämmen können unter folgender Adresse bezogen werden:

Department of Microbiology
University of Kansas Medical Center
Kansas City, KS 66160-7420, USA
Tel.: 001-913-588-7044
Fax: 001-913-588-7295
E-mail: fgsc@kuhub.cc.ukans.edu
Internet: <http://skyways.lib.ks.us/research/fgsc/main.html>

Die Arbeiten mit *A. nidulans*-Stämmen und -Mutanten können unter üblichen mikrobiologischen Bedingungen durchgeführt werden. Besondere Sicherheitsvorkehrungen sind nicht nötig. Obwohl die Sporen von *A. nidulans* nicht sehr leicht verbreitet werden, sollten größere Sporenmengen in den Versuchen vermieden werden. Beimpfte, ausgewertete Agarplatten sollten umgehend autoklaviert und damit abgetötet werden.

In dem vorgestellten Experiment werden zwei Stämme verwendet, die jeweils einen Defekt in der Biosynthese von Pyridoxalphosphat (das defekte Gen wird mit *pyroA4* bezeichnet und mit *pyro*⁻ abgekürzt) oder von Folsäure (das defekte Gen *pabaA1* wird mit *paba*⁻ abgekürzt, *p*-aminobenzoic acid) aufweisen. Zusätzlich zu den Auxotrophiemarkern zeichnen sich die beiden Stämme jeweils durch unterschiedliche Farben aus:

- SSN16-Genotyp: *pyroA4*
Phänotyp: grün, kann nicht auf Medien ohne Pyridoxalphosphat wachsen;
- SMI45-Genotyp: *pabaA1, γA2 (yellow); wA3 (white)*
Phänotyp: weiß, kann nicht auf Medien ohne *p*-Aminobenzoessäure wachsen.

Kultivierung

Zur Kultivierung dieser Mutanten werden Agarplatten mit Nährmedien hergestellt, auf denen die beiden zu kreuzenden Stämme wachsen können. Das Nährmedium besteht aus einem Minimalmedium (MM), supplementiert mit den Vitaminen Pyridoxin-HCl (*pyro*) und *p*-Aminobenzoessäure (*paba*). Für die Kreuzung werden Medien ohne Vitamine benutzt (MM). Daneben werden für die Auswertung zusätzlich Selektivplatten benötigt, in denen nur je eines der Vitamine zugesetzt wird, mit MM/*pyro* und MM/*paba* bezeichnet.

Minimalmedium (MM), Angabe für einen Liter:

50 ml Salz-Stammlösung
20 g Glucose

1 ml der benötigten Vitaminstammlösung(en); mit Leitungswasser auf einen Liter auffüllen (wenn entionisiertes Wasser benutzt wird, muß dem Medium eine Spurenelementlösung zugesetzt werden), wenn möglich, mit 5N NaOH einen pH von etwa 6,5 einstellen, 15 g Agar (geringere Qualitäten sind ausreichend, kein besonderer Hersteller) zugeben und

20 min autoklavieren (oder im Schnellkochtopf kochen). Je 500 ml Medium werden in einen 1 Liter Erlenmeyerkolben gefüllt und mit Aluminiumfolie verschlossen.

Das sterile Medium wird in Petrischalen (Ø 9 cm) gegossen, wobei die Schalen ziemlich voll gefüllt werden sollten (bis etwa 4 mm unterhalb des Rands).

Salz-Stammlösung:

120 g NaNO₃; 10,4 g KCl; 10,4 g MgSO₄ × 7 H₂O; 30,4 g KH₂PO₄; Stammlösung in einem Liter Wasser lösen

Vitamin-Stammlösungen:

0,1 g Pyridoxalphosphat in 100 ml Wasser gelöst; 0,1 g *p*-Aminobenzoessäure in 100 ml Wasser gelöst

Folgende Minimalmedien werden angesetzt:

1,0 Liter MM/*pyro/paba*
0,5 Liter MM/*pyro*
0,5 Liter MM/*paba*
0,5 Liter MM

Des weiteren werden benötigt: durch Ausglühen sterilisierte Impföse und/oder -draht oder sterile Holz-Zahnstocher, durch Abflammen mit Alkohol sterilisierter Drigalsky-Spatel (Glasstab, siehe Skizze),



37 °C Inkubator. (Falls kein Inkubator vorhanden ist, können die beimpften Platten auch bei Raumtemperatur (etwa 25 °C) inkubiert werden.)

Die Stämme werden aus der Stammhaltung, den *Silica-stocks* (Anleitung siehe unten), herangezogen, indem man einige Silicakörner auf eine Platte mit MM/*pyro/paba* streut. Nach zwei Tagen Inkubation bei 37 °C sind Kolonien mit reifen Konidiosporen ausgewachsen, die mit einer sterilen Impföse oder sterilen Zahnstochern wieder überimpft werden können.

Kreuzung von SSN16 und SMI45

Zur Einleitung einer erfolgreichen Kreuzung zweier Stämme müssen zunächst deren Hyphenzellen fusionieren. Dadurch gelangen haploide Zellkerne beider Partner in eine Hyphe, ohne daß die Kerne miteinander verschmelzen (Heterokaryon). Diese Hyphe kann zu heterokaryotischem Mycel auswachsen und auch asexuelle Konidiosporen bilden.

Nur in einigen der Hyphenzellen kommt es zur Kernverschmelzung (Karyogamie) und zur Bildung von diploiden Zellkernen. Die diploide Phase ist nur von kurzer Dauer und auf diese reproduktiven Zellen beschränkt. Aus den diploiden Zellen entwickeln sich die Asci, in denen durch meiotische und eine anschließende mitotische Teilung der diploiden Kerne haploide Ascosporen gebildet werden. Letztere können einen beispielsweise durch Neukombination und Rekombination veränderten haploiden Chromosomensatz besitzen. Werden die Ascosporen auf geeignete Nährmedien übertragen, so keimen sie aus und bilden Kolonien.

Die beiden Stämme, SSN16 und SMI45, werden zunächst auf einer Platte mit MM/*pyro/paba* alternierend mit einem Zahnstocher angeimpft, so daß die Pilzhyphen aufeinander zuwachsen können. Berührt sich nach etwa zwei Tagen das ganz junge Hyphenmycel (Abbildung 1), werden Agarblöckchen aus den Kontaktbereichen mit einer sterilen Impfnadel ausgeschnitten (Abbildung 2 a) und auf Medium (Agarplatten) übertragen, auf dem keiner der beiden Kreuzungspartner aufgrund seiner Auxotrophie alleine wachsen kann (MM ohne Vitamine). Diese Platten werden verschlossen, mit Klebeband (Tesa-band) umklebt und bei 37 °C inkubiert. Das Umkleben der Platten verhindert ein Austrocknen der Kulturen und schränkt den Gasaustausch ein, so daß der Kohlendioxidpartialdruck im Innenraum ansteigt. Dies begünstigt die Einleitung des sexuellen Zyklus.

Nach etwa 2 – 4 d wird zunächst das Heterokaryon sichtbar. Im Gegensatz zum haploiden Mycel von *A. nidulans* wachsen diese Hyphen eher in den Agar hinein und scheinen vom Entstehungsort zu „fliehen“ (Abbildung 2 b). Das Heterokaryon kann sich zunächst auch asexuell vermehren, wobei die gebildeten Konidiophoren aus langen Sporenketten bestehen. Diese verleihen den Konidiophoren ein längliches Aussehen (Abbildung 2 c). Im Vergleich dazu haben Konidiophoren, die aus einem haploiden Mycel hervorgegangen sind, ein rundliches Erscheinungsbild. Wenn zwei Stämme mit unterschiedlicher Sporenfarbe das Heterokaryon bilden, können auch die Konidiophoren verschiedene Farben aufweisen. Man beobachtet sowohl Konidiophoren mit der jeweiligen Sporenfarbe der Eltern als auch gemischtfarbige. Da die Konidiosporen jeweils einkernig sind, können sie nur die Farbe von einem Elternteil annehmen. Wenn in einem Konidio-

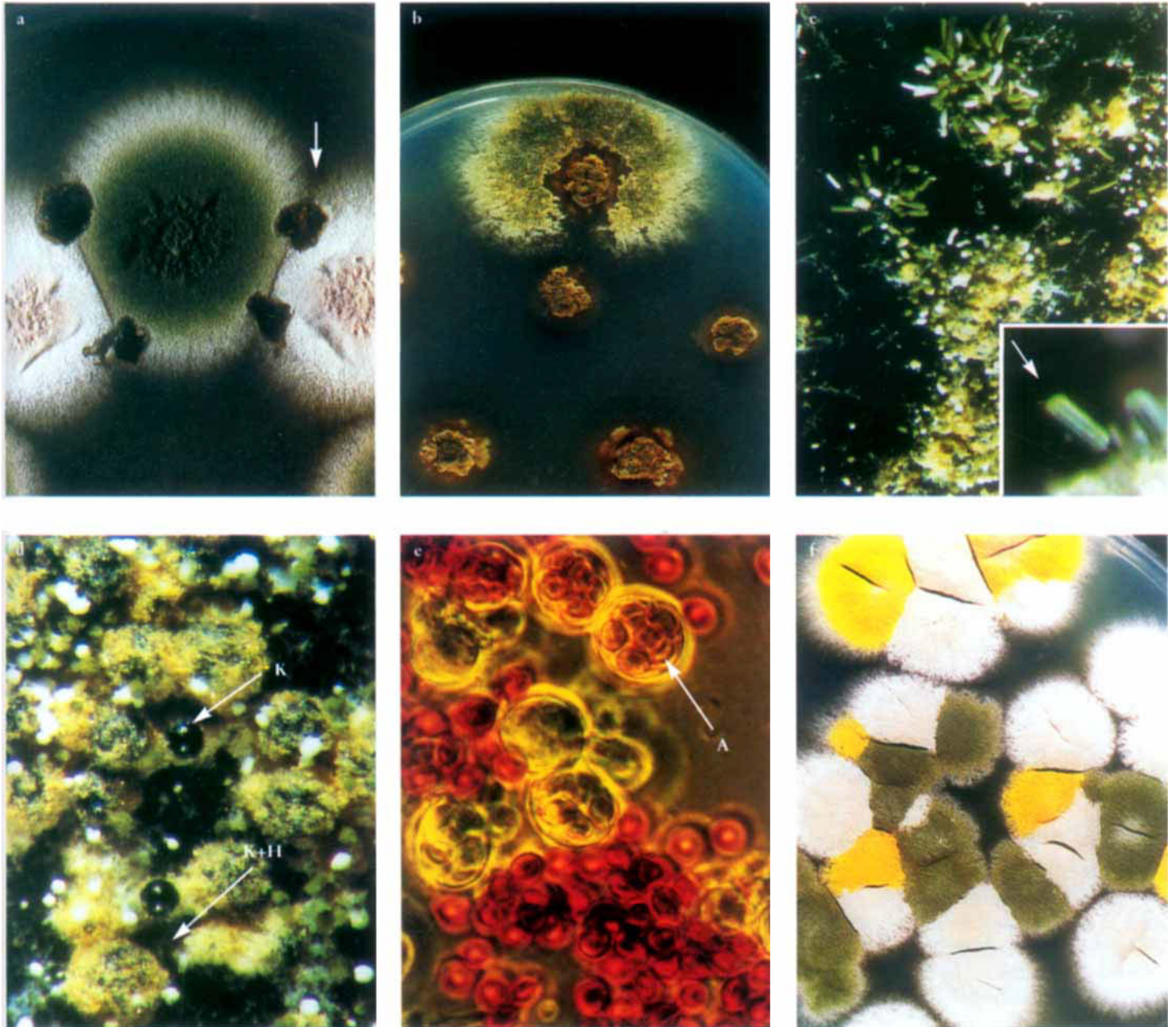


Abb. 2. Kreuzung zweier *A. nidulans*-Stämme. (a) Agarblöckchen wurden aus den Randbereichen der zusammengewachsenen Kolonien mit dem jungen Hyphenmycel herausgeschnitten (Pfeil). Durch Fusion von Hyphen beider Stämme kommt es zur Bildung eines Heterokaryons auf Selektivmedium. (b) Nur von einem Agarblöckchen wurde ein stabiles Heterokaryon gebildet. (c) Die bis zu 150 μm langen Konidiophoren sind weiß oder grün gefärbt (Beobachtung dieses Mycels bei 40facher Vergrößerung). In seltenen Fällen findet man gemischtfarbige Konidiophoren, zum Beispiel grüne mit weißen Streifen (kleines Bild, Pfeil). (d) Nach 10 – 14 Tagen haben sich Kleistothecien (etwa 0,5 mm im Durchmesser) gebildet, die zunächst noch von Hülle-Zellen (K+H) umgeben sind. Später liegen die schwarz glänzenden Kleistothecien (K) frei vor. (e) Asci (A) und Ascosporen bei 400facher Vergrößerung. Die Sporen sind von zwei Ringen umgeben. (f) Nachkommen der Kreuzungspartner.

phor Kerne beider Elternstämme zur Sporenbildung führen, werden verschiedenfarbige Sporenketten gebildet, was zu „gestreiften“ Konidiophoren führt (Abbildung 2 c, kleines Bild; Abbildung 3).

Nach weiteren 7 – 14 d Inkubation bilden sich aus einigen heterokaryotischen Hyphenkompartimenten diploide Zellen. Es kommt also zur Karyogamie. Aus diesen Zellen bilden sich viele Asci, die in einem Fruchtkör-

per, dem Kleistothecium, vereinigt sind. In den Asci erfolgt eine Meiose und eine anschließende Mitose, so daß acht haploide Ascosporen gebildet werden können.

Ernten der Ascosporen

Sind die Kleistothecien reif, ragen sie schwarz glänzend aus ihren „Nestern“, den „Hülle-Zellen“, heraus und können unter dem Binokular mit einer sterilen Impfnadel entnommen werden (Abbildung 2 d). Die Fruchtkörper werden durch vorsichtiges Hin- und Herrollen auf einer Agarplatte von anhaftenden Konidien und Hülle-Zellen befreit (Zellen, die haften bleiben, können auch zu Kolonien auskeimen und so die Zahlen der Nachkommen verfälschen). Dann wird je ein Kleistothecium in einem Eppendorfgefäß, das 500 µl steriles Wasser enthält, zerquetscht. Dies geschieht zunächst am besten in einem kleinen Tröpfchen am Rande des Gefäßes. Färbt sich das Tröpfchen durch die austretenden Ascosporen rot, so sind diese reif (Abbildung 2 e). Aus jeder Ascospore kann auf Nährmedium eine neue Kolonie wachsen (Abbildung 2 f). Bei der Auswahl der Kleistothecien sind die großen den kleineren vorzuziehen, da diese relativ sicher aus beiden Kreuzungspartnern entstanden sind („hybride“ Kleistothecien). Die kleinen Kleistothecien entstehen oft nur aus einem Elternteil, weil *A. nidulans* auch in Abwesenheit eines Kreuzungspartners den sexuellen Entwicklungszyklus durchlaufen kann (homothallich). Beide Phänomene können in einer Kreuzung nebeneinander vorkommen.

Auswertung

In einem Kleistothecium reifen mehrere zehntausend Ascosporen heran. Für die Auswertung der Kreuzung werden deshalb unterschiedliche Verdünnungen der Ascosporensuspension mit einem Drigalskyspatel auf Agarplatten plattiert (beispielsweise 50 µl einer 1 : 50-Verdünnung). Das verwendete Medium muß ein Wachstum aller, auch der durch Neu- und Rekombination entstandenen Stämme, erlauben (MM/pyro/paba). Nach drei Tagen sind aus den Ascosporen Kolonien herangewachsen, durch deren unterschiedliche Farben man leicht eine erfolgreiche Kreuzung erkennen kann (Abbildung 2 f).

Epistasis

In unserem Fall ergibt sich noch eine schöne Besonderheit: Neben den zu erwartenden grünen und weißen Stämmen (entsprechend den Farben der Elternstämme) erscheinen zusätzlich gelbe Kolonien. Das läßt sich dadurch erklären, daß sich in dem weißen

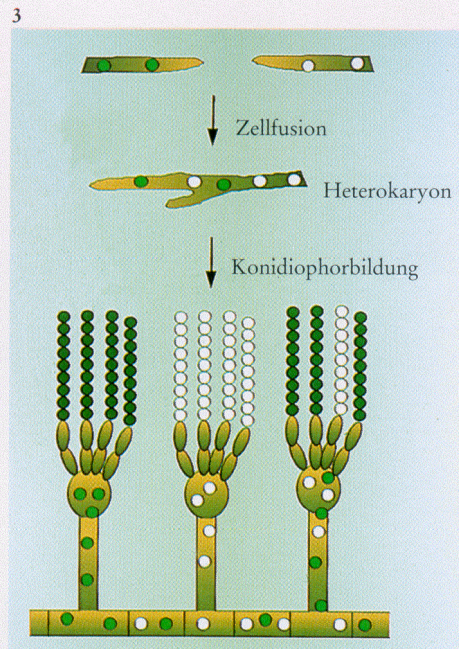


Abb. 3. Schematische Darstellung der Konidiophorbildung im Heterokaryon. Bilden sich Konidiophoren aus heterokaryotischen Hyphen, so können entweder nur Kerne jeweils eines Elternstammes in den Konidiophor einwandern, oder beide Kerntypen sind an deren Entwicklung beteiligt. Dementsprechend werden die Konidiophorköpfchen grün, weiß oder „gestreift“. Beide Konidiophortypen kommen in einem Heterokaryonmycel nebeneinander vor, wobei die gemischten Konidiophoren seltener zu beobachten sind.

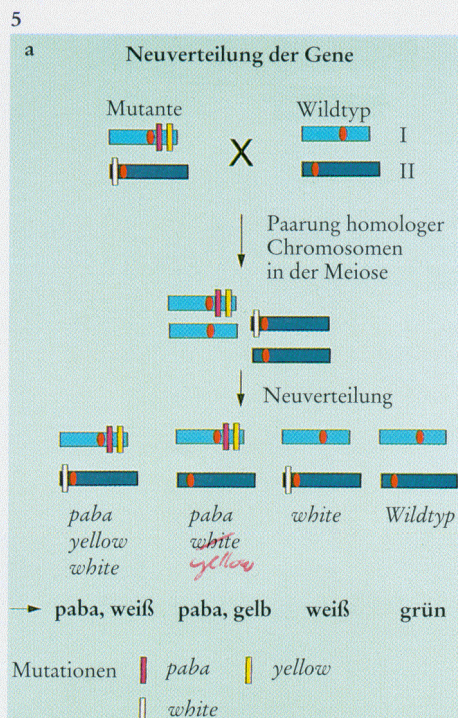
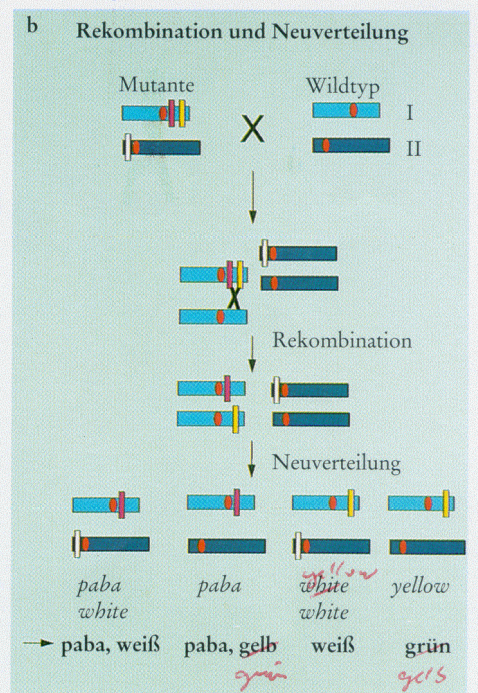


Abb. 4. Schema der acht Chromosomen von *A. nidulans*. Die Lage der in der Kreuzung verwendeten Marker sowie die Lage der Centromere der Chromosomen (roter Punkt) sind gekennzeichnet. Die Größe der jeweiligen Chromosomen wurde in Megabasen angegeben (1 MB = 10⁶ Basenpaare).

Abb. 5. Schematische Darstellung der (a) Neuverteilung der Gene und (b) der Rekombination und Neuverteilung während der Meiose. Die Genotypen der Nachkommen sind unter den jeweiligen Chromosomenkombinationen aufgeführt. Die entsprechenden Phänotypen sind fett gedruckt (Zeile markiert mit einem Pfeil).



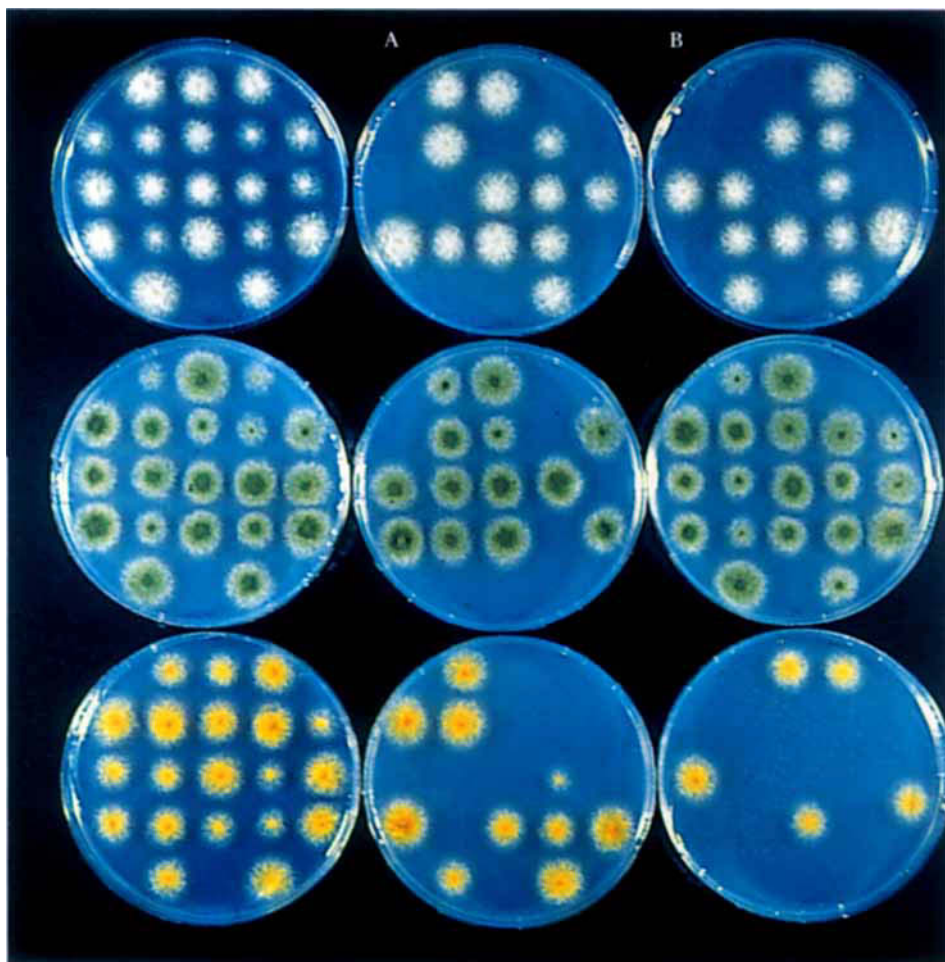


Abb. 6. Auswertung der Kreuzung auf Selektivplatten. Die erste Spalte zeigt die Kontrollplatten MM/paba/pyro. Spalte A zeigt die Selektivplatten MM/paba (Neuverteilung des Gens *pyro*) und Spalte B die Selektivplatten MM/pyro (Neuverteilung des Gens *paba*). Die Zahl der auxotrophen (nicht wachsenden) Stämme spiegelt die in der Meiose (Abb. 5) vorhergesagten Genotypfrequenzen wider.

Stamm SMI45 zusätzlich zum Defekt des *white*-Gens (Chromosom II) noch eine Mutation des *yellow*-Gens (Chromosom I) verbirgt (Abbildung 4). Der Defekt des gelben Gens wird nur in Gegenwart eines intakten *white*-Gens sichtbar, da die Genprodukte in folgender Reihenfolge an der Synthese des grünen Konidiosporenpigments beteiligt sind:

(weiß – *wA3* → gelb – *yA2* → grün)

Ein Defekt in **einem** dieser Gene macht sich durch die Farbe der jeweiligen Edukte in der Pigmentsynthese bemerkbar. Sind jedoch **beide** Gene defekt, so bleibt die Farbe der Kolonien weiß, da ein gelbes Produkt erst gar nicht gebildet wird. Weiß ist also epistatisch über gelb. Das Auftauchen von gelben Kolo-

nien in unserem Experiment kann durch Neuverteilung der Chromosomen erklärt werden (Abbildung 4, Abbildung 5 a).

Neuverteilung und Rekombination

Oft kann schon auf einer dieser Platten eine signifikante Verteilung der Farbmarker festgestellt werden. Um die Verhältnisse genau zu bestimmen, sollten jedoch mindestens 100 Kolonien betrachtet werden. Bei der Kreuzung in diesem Experiment ergeben sich durch Neuverteilung der Chromosomen folgende Zahlenverhältnisse: 50 % weiße, 25 % grüne und 25 % gelbe Kolonien, da alle Farbmarker unabhängig voneinander vererbt werden (Abbildung 2 f; Abbildung 5 a).

Für eine weitere Charakterisierung der durch Kreuzung neu entstandenen Stämme werden die Kolonien auf Selektivmedien überimpft; so kann die Verteilung der Auxotrophiemarker analysiert werden. Aus der Kombination der Analysen von Farb- und Auxotrophiemarkern läßt sich ein Gesamtbild der Neuverteilung der Chromosomen und der Rekombinationsereignisse zwischen einzelnen Markern erstellen.

Die mit einem Raster versehenen Platten (Selektionsmedien) werden nacheinander mit einem sterilen Zahnstocher oder einer Impfnadel beimpft, beispielsweise zuerst MM/paba (es wachsen keine Pyridoxin-auxotrophen Stämme), dann MM/pyro (es wachsen keine *p*-Aminobenzoesäure-auxotrophen Stämme) und zum Schluß als Kontrolle wieder MM/pyro/paba. Dabei ist darauf zu achten, daß an einer bestimmten Position im Raster jeweils von der gleichen Ausgangskolonie angeimpft wird. (Praktischer Tip: Agarplatten beim Beimpfen mit der offenen Seite nach unten halten und möglichst wenig Impfmateriale übertragen. Sehr wenige Sporen reichen für das Beimpfen der drei Rasterplatten völlig aus.) In Abbildung 6 sind die Zahlenverhältnisse der Auxotrophiemarker dargestellt. Die Verhältnisse lassen sich wie folgt erklären:

Spalte A:

In allen Fällen ist das *pyro*-Gen unabhängig durch Neuverteilung der Chromosomen vererbt worden, denn es liegt auf Chromosom IV und ist mit keinem anderen Marker gekoppelt (Abbildung 4, Abbildung 5 a). In 50 % aller getesteten Kolonien ist das *pyro*-Gen defekt (*pyro*⁻), das heißt, diese Kolonien können nicht auf MM/paba-Platten, in denen Pyridoxalphosphat fehlt, wachsen.

Spalte B:

Gelbe Kolonien: Die beiden Gene *yellow* und *paba* liegen auf Chromosom I nahe beisammen (Abbildung 4). Theoretisch müßten daher alle gelben Stämme auch gleichzeitig *paba*⁻ sein, das heißt *p*-Aminobenzoesäure-auxotroph. Durch crossing-over, also durch Rekombination homologer Chromosomen bei der Paarung während der Meiose, können aber die jeweiligen defekten und intakten Genorte ausgetauscht werden (Abbildung 5 b). Dies geschieht mit einer Häufigkeit, die proportional zum Abstand der Gene auf dem Chromosom ist. Bei den verwendeten Genen *yellow* und *paba* wird eine Rekombinations-

häufigkeit von 10 – 15 % erwartet. Ein entsprechender Anteil der gelben Kolonien wird also auf *paba*-Mangelmedium wachsen können. Der Abstand der Gene zueinander kann in einer Einheit folgendermaßen ausgedrückt werden:

Eine Rekombinationsfrequenz von 1 %, gemessen an der Gesamtzahl der untersuchten Kreuzungsnachkommen (bezüglich eines Merkmals), entspricht 1 centiMorgan (cM).

Um eine möglichst große Genauigkeit der relativen Abstände der Gene zueinander zu ermitteln, müssen möglichst viele Kolonien (100 oder mehr) analysiert werden.

Grüne Kolonien: Theoretisch müssen alle grünen Nachkommen das Chromosom I aus dem Elternstamm SSN16 erhalten haben und somit alle auf *paba*-Mangelmedium wachsen können (Chromosom I aus SMI45 hat die *yellow*-Mutation). Durch oben genannte Rekombinationsereignisse sind aber *paba*⁻-Mutanten entstanden, und zwar mit der gleichen Frequenz, wie in den gelben Stämmen *paba*⁺-Stämme zu finden sind.

Weißer Kolonien: Da das *paba*-Gen auf einem anderen Chromosom liegt als das *white*-Gen, sind jeweils 50 % der weißen Kolonien *paba*⁻, das heißt, hier erfolgt eine unabhängige Vererbung. Zu bedenken ist allerdings, daß sich in 50 % aller weißen Nachkommen wiederum das defekte *yellow*-Gen verbirgt. Dieses ist, wie oben erklärt, zu etwa 90 % an das defekte *paba*-Gen gekoppelt. Da sich in den anderen 50 % der Stämme aber eine komplementäre Kopplung mit 90 % *paba*⁺-Stämmen ergibt, werden diese Rekombinationen phänotypisch nicht sichtbar. Ob in einem weißen Stamm zusätzlich das Gen *yellow* defekt ist, könnte durch eine entsprechende Rückkreuzung mit dem grünen Elternstamm herausgefunden werden.

Silica-Stocks

Für die Stammhaltung werden *Silica-Stocks* angelegt. Hierzu wird Kieselgel (wird beispielsweise als Trocknungsmittel bei neuen elektrischen Geräten in kleinen Beutelchen verwendet) in Form kleiner Körner zunächst in Eppendorfgefäßen portioniert, autoklaviert und bei 80 °C getrocknet. Danach wird eine 7 %ige sterile Milchpulverlösung ange-setzt und ein kleiner Tropfen auf eine *Aspergillus*-Kolonie gegeben. Der Tropfen wird dann vorsichtig, zum Beispiel mit Hilfe einer

Impföse, einige Male auf der Kolonie bewegt. Wenn sich genügend Konidiosporen an das Tröpfchen adsorbiert haben, wird der Tropfen in die auf Eis gelagerten Eppendorfgefäße, die das Kieselgel enthalten, überführt. Die Stocks werden solange durchmischt, bis alle Flüssigkeit vom Silicagel absorbiert ist. So können die Stämme im Kühlschrank über mehrere Jahre gelagert werden. (Praktischer Tip: Nach einigen Tagen testen, ob die Stocks lebensfähig sind. Erst dann die Ursprungskulturen durch Autoklavieren abtöten.)

Zusammenfassung

In dem Kreuzungsexperiment wird deutlich, daß *A. nidulans* hervorragend für genetische Studien geeignet ist. In diesem Experiment wird auf einfache Weise gezeigt, wie die Phänomene Neukombination, Rekombination, Heterokaryosis und Epistasie aus den Ergebnissen einer Kreuzung abgeleitet werden können.

Die Vorteile dieses Organismus liegen klar auf der Hand: *A. nidulans* ist ein einfach zu kultivierender und zu handhabender Schimmelpilz. Er ist leicht zu überimpfen. Kreuzungen sind leicht durchzuführen. Es muß nicht auf etwaige Kreuzungstypen geachtet werden, wie bei *Saccharomyces cerevisiae* oder *Neurospora crassa*. Der Pilz ist ein haploider Organismus, das heißt, der Effekt einer Mutation im Genom ist unmittelbar in der ersten Generation sichtbar, unabhängig davon, ob es sich um eine dominante oder rezessive Mutation handelt. Des weiteren verfügt *A. nidulans* über eine ganze Reihe von Markern, die Kreuzungsexperimente in großem Umfang, aber auch eine Menge anderer Analysen erlauben. Die Möglichkeiten reichen von weiteren klassisch genetischen Untersuchungen, wie der Erzeugung von künstlichen diploiden Stämmen, der Lokalisierung neuer Gene auf den Chromosomen, bis hin zu molekulargenetischen Methoden, wie beispielsweise dem Transformieren von auxotrophen Stämmen für die Klonierung von Genen oder die Erzeugung neuer, interessanter Mutanten. Vor allem die Etablierung der molekularbiologischen Methoden in filamentösen Pilzen birgt große Potentiale für neue biotechnologische Anwendungen.

Mapping of genes in *Aspergillus nidulans*

The filamentous fungus *Aspergillus nidulans* reproduces asexually by conidiospores and

sexually by ascospores. The sexual cycle allows crossing of different mutant strains and thus mapping of genes on the eight linkage groups. More than 350 loci have been mapped until today. Differently coloured strains are very useful tools to analyze the progeny of a cross and to illustrate epistasis and the genetic consequences of meiosis: New combination and recombination of genes.

Zu den Autoren

Die Autoren sind den Lesern bereits von dem Artikel „Molekularbiologie der Sporentägerentwicklung des Schimmelpilzes *Aspergillus nidulans*“ in diesem BIUZ-Heft bekannt.