

FUNGAL PLASMİDLER VE FONKSİYONLARI

Esengül A. Momol*

M. Timur Momol**

ÖZET

Bu derlemede funguslarda doğal olarak bulunan plasmidler tartışılmıştır. Saccharomyces cerevisiae dışında genelde bulunan fungal plasmidlerin mitokondri orijinli ve sirküler yapıda olduğu görülmüştür. Bununla beraber bazı lineer plasmidlerde bulunmuştur. Bu plasmidlerin çoğunun fonksiyonları bilinmemektedir. Ancak Neurospora ve Podospora bulunan plasmidlerin fungusun yaşlanmasında rolü olduğu açıklanmıştır. Bunun dışında fungal plasmidlerin patojenisite faktörleri olmadıkları belirlenmiştir.

GİRİŞ

Birçok prokaryot ve ökaryotlarda bulunan ekstrakromosomal elementler, ilk kez antibiyotiklere karşı direnç sağlayan faktörler olarak bakterilerde tanımlanmış ve Lederberg (1952) tarafından "plasmid" adı verilmiştir. Doğal olarak bulunan ökaryot plasmidlerinden fungal plasmidler detaylı olarak incelenmiştir. İlk kez belirlenen ökaryotik mikroorganizma plasmidi Saccharomyces cerevisiae'de bulunan plasmiddir ve elektron mikroskopunda belirlenen uzunluğu 2µm dir. Bu plasmidin varlığı 1970'li yıllara kadar ökaryotik mikroorganizmalar arasında özel bir durum olarak gözönüne alınmıştır. Ancak 1970'lerin sonuna doğru Zea mays (11) ve filamentus fungus Podospora anserina'da (18) plasmidler bulunmuştur.

Saccharomyces cerevisiae'de bulunan plasmid dışında fungal ve genelde ökaryotik plasmidler mitokondrial orijinden kaynaklanmışlardır. Ancak 2µm'lik plasmid nükleus orijinlidir. Doğal olarak Neurospora türleri (18), Podospora anserina (19), Claviceps purpurea (21) ve Fusarium oxysporum'da (3) bulunan plasmidlerin mitokondri orijinli olduğu belirlenmiştir.

* Akdeniz Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji Ana Bilim Dalı, Antalya.

** Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Antalya.

LINEER VE SİRKÜLER PLASMİDLER

Ökaryotlarda bulunan ekstrakromosomal elementlerin çoğu sirküler DNA'dan oluşmuştur. Lineer plasmidler azınlıkta olup transposonlarda olduğu gibi terminel tekrarlanan ters DNA sekansları içerirler. Bununla birlikte lineer plasmidler 5' terminalinde kovalent bağlarla bağlanmış proteinler bulunur (20). Funguslarda, lineer plasmidler ilk kez Ascobolus immersus'da bulunmuştur (1). Tudzynski tarafından (1983) Claviceps purpurea'da iki lineer plasmidin varlığı açıklanmıştır. Bu plasmidlerin mitokondriye homoloji göstermemelerine karşın, birbirlerine homolog oldukları saptanmıştır. Bazı mitokondri plasmidlerin mitokondri genomuna homoloji gösterdikleri belirlenmiştir. Bu tür plasmidlere örnek olarak Agaricus bisporus (Mohan, 1984) plasmidleri verilebilir. Rubidge (1986) 13 Fusarium türünde plasmid araştırmış sadece Fusarium merismoides'de lineer bir plasmid bulunduğunu kanıtlamıştır. Aynı yıl Kistler ve Leong (3) Fusarium oxysporum'un 3 forma speciales'inde F. oxysporum f.sp. conglutinans, f.sp. raphani, f.sp. matthioli da lineer plasmidlerin varlığını bildirmişlerdir. Yapılan hibridizasyon analizleri sonucu bu plasmidlerin nükleer ve mitokondri DNA ile bir homoloji göstermedikleri saptanmıştır.

FUNGAL PLASMİDLERİN FONKSİYONU

Funguslarda bulunan lineer plasmidlerin çoğunun fonksiyonu bilinmemektedir. Plasmidlerin kür edilmesi, heterokaryon formasyonu veya protoplast füzyonu gibi yöntemlerle bu plasmidlerin fonksiyonları araştırılmıştır.

Plasmidlerin kimyasallarla kür edilmesi birkaç fungusta başarılı olmuştur. Bunlardan biri Podospora anserina plasmidi olup, ethidium bromide muamele edilen miselde plasmidlerin kaybolduğu gözlenmiştir. Ayrıca bulunan plasmidlerin fungusun yaşlanma fenotipinde rolü olduğu açıklanmıştır (19). Benzer özellik Neurospora crassa nın kalilo adı verilen türünde gözlenmiştir. Bu türde bulunan ve kalDNA adı verilen 9-kb büyüklüğündeki plasmidin fungusun yaşlanıp ölmesinde rolü olduğu açıklanmıştır. Bu olayda kalDNA nın mtDNA ya entegre olmasıyla mitokondrinin fonksiyonunu bozarak ölüme neden olabileceği açıklanmıştır. Samac ve Leong (1988) Fusarium solani f.sp. cucurbitae de mitokondri orijinli iki lineer plasmidi ethidium bromide ile

kür etmeye çalışmışlardır. Plasmidleri kür edilen türlerin patojenisitelerinin azaldığını gözlemişlerdir. Ancak daha sonraki yayınlarında (15) plasmidlerin ethidium bromide ile muamelesinin nükleer DNA da mutasyon yarattığını bununda patojenisitenin azalmasında rolü olduğunu belirtmişlerdir. Patojenisiteye neden olan faktörlerin nükleer kaynaklı olduğu ve mitokondri orijinli plasmidlerin patojenisitede rolleri olmadığı genetik analizlerden ortaya çıkmıştır. Fusarium oxysporum f. sp. conglutinans da bulunan plasmidlerin kür edilme çalışmaları ise başarılı olamamıştır.

Plasmid DNA larının fonksiyonlarının araştırılması için kullanılan diğer method heterokaryon formasyonudur. Heterokaryon değişik genetik bilgiler içeren nükleusların bir sitoplasma içinde bulunması ile oluşan çok nükleuslu bir hücredir. Heterokaryon formasyonu Fusarium moniliforme (10), Verticillium dahliae (16) ve Cochliobolus heterostrophus (4) çalışılmıştır.

Son yıllarda eşeyli üremesi olmayan funguslarda genetik bilgilerin aktarımı protoplast füzyonu ile gerçekleşmiştir. Protoplastlar fungal hücre çeperinin % 60-80 ini oluşturan polisakkaritlerin Chitase, Gluconase veya Novozyme gibi hücre çeperini eriten enzimlerle muamelesi sonucu elde edilen hücrelerdir. Aspergillus niger ve Fusarium tricinctum ve Fusarium oxysporum da Novozyme enziminin kullanımı ile protoplast eldesi maksimum düzeyde gerçekleşmiştir (6). Protoplast füzyonu sonunda oluşan füzyon ürünlerinin belirlenmesi yöntemlerinden birisi mutant türler kullanılarak prototrofik türlerin seçilmesidir. Galbraith ve Galbraith (1979) protoplastları değişik floresans boya ile boyayarak füzyon ürünlerini floresans mikroskopunda incelemişlerdir. Floresans boya ile boyanan füzyon ürünleri flow cytometri adı verilen bir aletle elde edilebilir. Flow cytometri Euphorbia lathyris, Nicotiana glauca, ve Petunia türlerinden elde edilen protoplast füzyon ürünlerini ayırmada kullanılmıştır (12). Ancak fungal protoplast ürünleri ilk kez 1989 da değişik floresans boya ile boyanıp flow cytometri kullanılarak belirlenmiştir (8). Fusarium oxysporum mitokondri orijinli plasmidlerinin patojenik rolleri araştırılmış ancak bu plasmidlerin patojenik faktörler olmadıkları saptanmıştır (9).

SONUÇ

Genellikle funguslarda bulunan plasmidler mitokondri orijinlidirler. Ancak Saccharomyces cerevisiae de bulunan plasmidin nucleus orijinli olduğu belirlenmiştir. Plasmidlerin çoğunun yapısı sirküler DNA dan oluştuğu gibi lineer olanlarıda bulunmaktadır. Fungal plasmidlerin fonksiyonları kür etme, heterokaryon formasyonu ve protoplast füzyon gibi çeşitli yöntemlerle araştırılmıştır. Fonksiyonları açıklanan birkaç fungus plasmidi dışında, bulunan plasmidlerin patojenisitede rolleri olmadıkları açıklanmıştır.

SUMMARY

The majority of fungal plasmids are associated with mitochondrion. However, plasmid found in Saccharomyces cerevisiae is associated with nucleus. The majority of plasmids consist of circular DNA: linear plasmids are in the minority. The function of fungal plasmids can be investigated by using plasmid curing, heterokaryon formation and protoplast fusion. Podospora anserina and Neurospora have plasmids associated with ageing process. However, most fungal plasmids studied do not have pathogenic properties.

LİTERATÖR

1. Francou, F. 1981. Isolation and characterization of a linear DNA molecule in the fungus Ascobolus immersus. Mol. Gen. Genet. 184: 440-444.
2. Galbraith, D.W., ve Galbraith, J.E.C. 1979. A method for identification of plant protoplasts derived from tissue cultures. Z. Pflanzenphysiology 93: 149-158.
3. Kistler, H.C., ve Leong, S.A. 1986. Linear plasmid like DNA in the plant pathogenic fungus Fusarium oxysporum f. sp. conglutinans
4. Leach, J., ve Yoder, O.C. 1982. Heterokaryosis in Cochliobolus heterostrophus. Exp. Mycology 6: 364-374.

5. Lederberg, J. 1982. Cell genetics and heredity symbiosis. *Phys. Rev.* 32: 403-430.
6. Lynch, P.T., Collin, H.A., ve Isaac, S. 1985. Isolation and regeneration of protoplasts from Fusarium tricinctum and Fusarium oxysporum. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 85: 135-140.
7. Mohan, M., Meyer, R. J., Anderson, J. B., Horgen; P. A. 1984. Plasmid like DNAs in the commercially important mushroom genus Agaricus. *Curr. Genet.* 8: 615-619.
8. Momol, E. A., Martin, F. N., Kistler, H. C. 1989. Isolation and fusion of protoplasts from Fusarium oxysporum f. sp. conglutinans and Fusarium oxysporum f. sp. raphani. *Phytopathology* (Abst.) 79, 10: 1204.
9. Momol, E. A., Kistler, H. C. 1992. Mitochondrial plasmids do not determine host range in Crucifer-infecting strains of Fusarium oxysporum. *Plant Pathology* 41: 103-112.
10. Puhalla, J.E., ve Spieth, P.T. 1983. Heterokaryosis in Fusarium moniliforme. *Exp. Mycology* 7: 328-335.
11. Pring, D.R., Levings, C.S., Hu, W.L., ve Timothy, D.H. 1977. Unique DNA associated with mitochondria in the "S" type cytoplasm of male-sterile maize. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 74: 2904-2908.
12. Redenbaugh, K., Ruzin, S., Bartholomew, J., ve Bassham, J.A. 1982. Characterization and seperation of plant protoplasts via flow cytometry and cell sorting. *Z. Pflanzenphysiol.* 107: 65-80.
13. Rubidge, T. 1986. Survey of Fusarium species for plasmid like DNA and some evidence for its occurence in a strain F. merismoides. *Trans. Mycol. Soc.* 87: 463-466.
14. Samac, A.D., ve Leong, S. 1988. Two linear plasmids in mitochondria of Fusarium solani f.sp. cucurbitae. *Plasmid* 19: 57-67.

15. Samac, A.D., ve Leong, S. 1989. Lack of association of mitochondrial plasmids and pathogenicity in Nectria haematococca (Fusarium solani f. sp. cucurbitae). Molecular plant-microbe interaction 2: 128-131.
16. Sidhu, G.S. 1983. Sexual and parasexual variability in soil fungi with special reference to Fusarium moniliforme. Phytopathology 73: 952-955.
17. Stahl, L.I., Collins, R.A., Cole, M.D., ve Lambowitz, A.M. 1982. Characterization of two new plasmid DNAs found in mitochondria of wild type Neurospora intermedia strains. Nucleic Acid Research 10: 1439-1458.
18. Stahl, U., Lemke, P.A., Tudzynski, P., Kuck, U., ve Esser, K. 1978. Evidence for plasmid like DNA in a filamentous fungus, the ascomycete Podospora anserina. Mol. Gen. Genet. 162: 341-343.
19. Stahl, U. Kuck, U., Tudzynski, P., ve Esser, K. 1980. Characterization and cloning of plasmid like DNA of the ascomycete Podospora anserina. Mol. Gen. Genet. 178: 639-646.
20. Sor, F., Wesolowski, M., ve Fukuhara, H. 1983. Inverted terminal repetitions of two linear DNA associated with the killer character of the yeast Kluyveromyces lactis. Nucleic Acid Research 11: 5037-5044.
21. Tudzynski, P., Duvell, A., Esser, K. 1983. Extrachromosomal genetics of Claviceps purpurea. I. Mitochondrial DNA and mitochondrial plasmids. Curr. Genet. 7: 145-150.