

ARAŞTIRMA MAKALESİ /RESEARCH ARTICLE

**MİKROKÜLTÜRÜ YAPILAN *CYCLOTELLA COMTA*'NIN
TARAMALI ELEKTRON MİKROSKOPTA İNCELENMESİ**

Köksal PABUCCU¹

ÖZ

Bu araştırmada Bacillariophyta bölümünden *Cyclotella comta* 'nın, (Tokat-Türkiye civarından alınan örneklerden) kültür ortamında kültürü yapılmış ve taramalı elektron mikroskopta (SEM) incelenmiştir. Çalışmada *C. comta*, ultrastrüktürel açıdan detaylandırılmıştır. Mikrograf analizlerinde, frustulun farklı morfolojik yapıya sahip olduğu gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Cyclotella comta*, Diyatome kültürü, Morfoloji, SEM.

**OBSERVATION OF MICROCULTURED- *CYCLOTELLA COMTA*
IN SCANNING ELECTRON MICROSCOPE (SEM)**

ABSTRACT

In this research, *Cyclotella comta* from Bacillariophyta division (in samples which received from surroundings Tokat-Turkey) have been cultured in culture medium and investigated in scanning electron microscope (SEM). At study have been detailed *C. comta* in point of ultrastructure. In analysis of micrograph have been observed that frustule has different morphological structure.

Keywords: *Cyclotella comta*, Diatom cultured, Morphology, SE.

1. GİRİŞ

Diyatomeler şekil bakımından fevkalade zenginlik gösteren, küçük, esmer renkli, tek hücreli veya koloni halinde yaşayan alglerdir. Diğer alglerden çok farklı yapıdadırlar. En önemli özellikleri, hücrelerinde bol miktarda silis ihtiva etmeleri ve hücre çeperlerinin bir biri üzerine kapanan, kapaklı kutu biçiminde bir yapı göstermeleridir. Bu durum onların sınıflandırmasında da etkilidir. Hücre çeperinin ana maddesi pektin olup, buna % 95'e kadar değişebilen oranda silis iştirak eder. Diyatomelerin hücre çeperlerine kabuk (=frustul) adı verilir. Üstteki büyük olan kabuğa 'epiteka', altta küçük olanına

da 'hipoteka' denir. Bir diyatome kabuğunun ön ve alt yüzeyden görünüşüne 'valva' görünüşü, yandan görünüşüne kuşak görünüşü denir. Epiteka ve Hipoteka, sayısı türlere göre değişen ara bandlarla birbirlerine bağlanır. Valvada çeşitli noktalı sıralar, kaburgamsı çıkıntılar ve delik benzeri süsler mevcuttur. Çeşitli şekillerde olan bu süsler, tür ve cinsler için karakteristiktir. *Cyclotella comta*'da olduğu gibi, bu süslerin kabuğun ortasında bulunan bir noktanın etrafında ışınsal doğrultuda dizildiği tiplere sentrik, süslerin bir eksensel çizgiye göre simetrik veya asimetric iki taraflı (bilateral) olarak dizildiği tiplere de pennat diyatomeler adı verilir (Altuner vd., 2002).

¹Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Taşlıçiftlik Kampüsü, Tokat.
E. mail: kpabuccu@gop.edu.tr

Bu araştırma, TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir (TBAG-105T344)

Geliş: 29 Ağustos 2007; **Düzeltilme:** 11 Şubat 2008; **Kabul:** 14 Temmuz 2008

Bu çalışmada *Cyclotella comta*'nın kültür ortamında mikrokültürü yapılarak, taramalı elektron mikroskopta morfolojik açıdan incelenmesi amaçlanmıştır. *Cyclotella* genusuna mensup diğer türlerle farklarının aydınlatılması açısından, bu türün ultrastrüktürel yapısının detaylandırılması önemlidir.

2. MATERYAL VE METOT

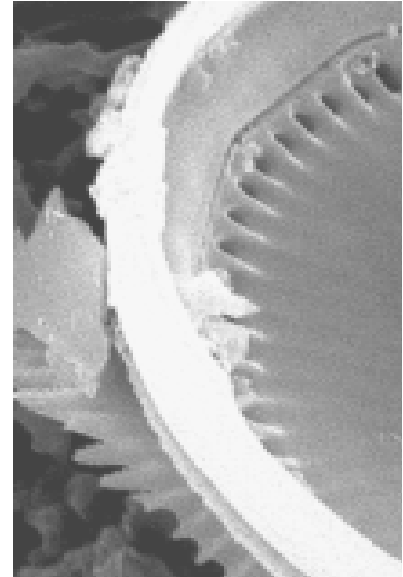
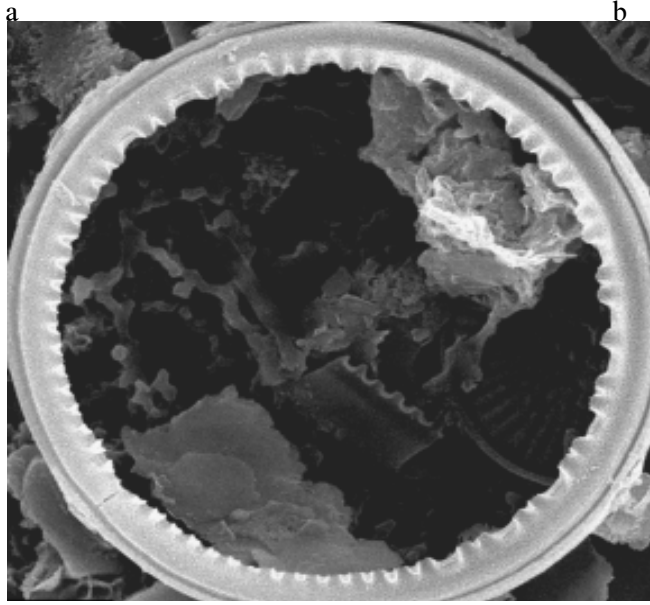
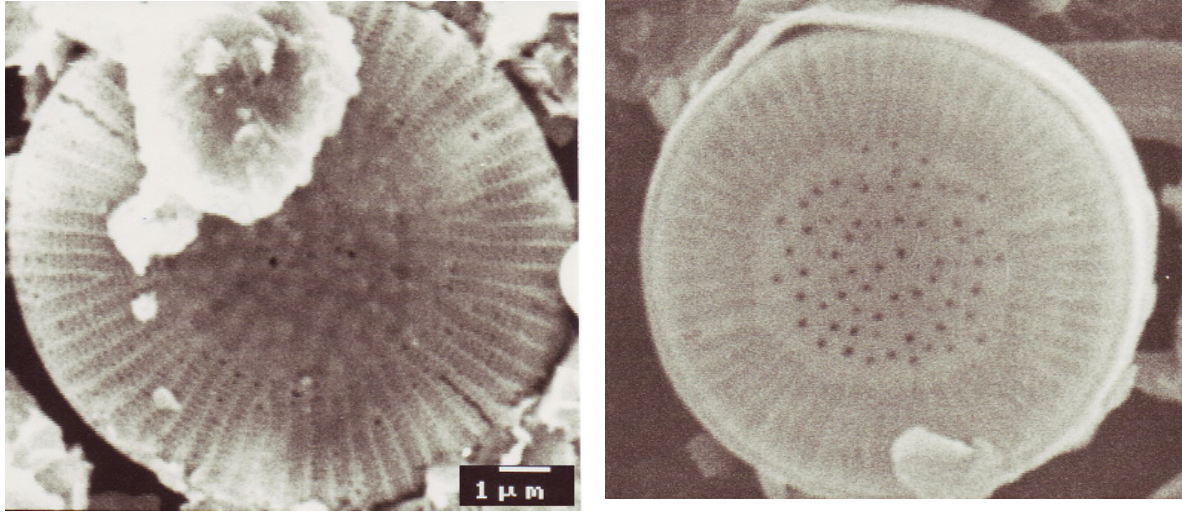
Tokat civarındaki ırmak ve göllerin, bentik ve pelajik bölgelerinden alınan örnekler, bir litrelik plastik kaplarla laboratuara getirildi ve bu habitatlardaki türler içinden seçilen bazı diyatomeleler, ışık mikroskobu altında hamilton şırınga ve mikropipet yardımıyla, uygun gelişme ortamlarına aktarıldı. Akuatik ortam dışında, uygun bir yerden alınan 100 gr toprak örneği, 1 lt saf su ile sulandırılıp uygun sıcaklık ve ışıkta bir hafta bekletilerek toprak diyatomelelerinin çoğalması sağlanarak akuatik ortamda olduğu gibi uygun gelişme ortamına aktarıldı. Sucul (bentik, pelajik) ve karasal (terrestrial) habitatlardan izole edilen farklı örneklerden birer ml alınarak her biri %1 agar ile katılaştırılmış BG11, Allen ve f/2 ortamlarına ekildi (Allen M. 1968, Rippka et al 1988a, Castenholz 1988) ve tüm besiyeri üzerine yayıldılar. Petri kapları 26°C'de iklim dolabında, ortalama 155µmol/m²/s aydınlatmada genellikle 12:12 saat aydınlık:karanlık (L:D) periyodunda inkübe edildiler. Bir ay sonunda agar üzerinde belirginleşen tüm farklı koloniler öze yardımı ile alınarak tekrar katı besiyerlerinde tek bir takson izole olana kadar devam edildi. Diyatomelelerin izolasyonunda ilaveten, mekanik izolasyon yöntemi de kullanıldı. İzole olan diyatomelelerin devamlılığı için ise BG11, Allen ve f/2 katı ve sıvı besiyerlerine aşılandılar (Rippka et al., 1988b). Özellikle izole edilen hareketli türlerin devamlılığı için katı besiyerlerinin yanında, örnekler sıvı besiyerlerine de aktarıldılar. Besiyerine aktarımı yapılan diyatomeleler, Sanyo MLR 351 marka iklim dolabında yukarıda belirtilen şartlarda gelişmeye bırakıldı. Zaman zaman gelişimi artırmak amacıyla zenginleştirme çözeltileri ilave edildi (Lobban et al., 1988). Diyatomelelerin gelişmeleri için 1. ortamdan ayrı şekilde yürüyen 2. bir ortam (DM ortamı) daha hazırlandı ve gelişmeler bu ortamda da takip edildi. DM ortamı (Diatom medium) tatlısu diyatomelelerinin kültürü konusunda sıkça kullanılan bir ortam olup, çalışmanın aksamaması amacıyla başvurulmuştur (Sukatar, 2002). Diyatomelelerin gelişme durumları, fert ve populasyon sayıları, ışık mikroskobu altında ve thoma lamında gözlenerek, yoğunlukları tayin edildi (Descy,1979) . Ancak bu bulgular burada verilmeyip, başka bir yayında konu edilecektir. Ortamdan alınan diyatomelelerin elektron mik-

roskopta detaylı olarak incelenmesi amacıyla organik madde muhtevalarından arındırılması gerekmektedir. Bunun için H₂O₂ ile arındırma yöntemi kullanılarak diyatomelelerin ekstraktı hazırlandı (Hasle, 1978). Organik içeriklerinden arındırılmış diyatomeleler, elektron mikroskopta incelenmek üzere, karbon yapıştırıcı ve lamellerle birlikte alüminyum stuplara yerleştirilerek üzerleri, SPI supplies Sputter kaplama cihazında, elektroliz yöntemiyle altın plaka ile kaplandı ve daha sonra JSM Jeol 5400 marka scanning elektron mikroskopta 5 kw-10 kw-15kw, 10⁻⁴ torr vakum altında incelendi. Diyatomelelerin teşhislerinde ilgili kaynaklardan yararlanıldı (Clair, 1978; Simonsen, et al., 1978; Horst, et al., 1980a,b; Natour, 1980; Niels, 1980; Parra et al., 1980; Silvia, 1980; Carter-Bailey, 1980; Cramer, 1982; Patrick-Reimer 1966, 1975; Husted, 1930; Cleve-Euler, 1951; Round et al., 1990).

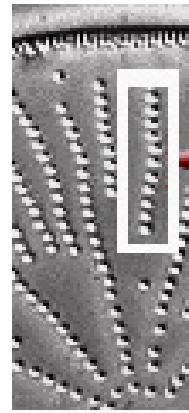
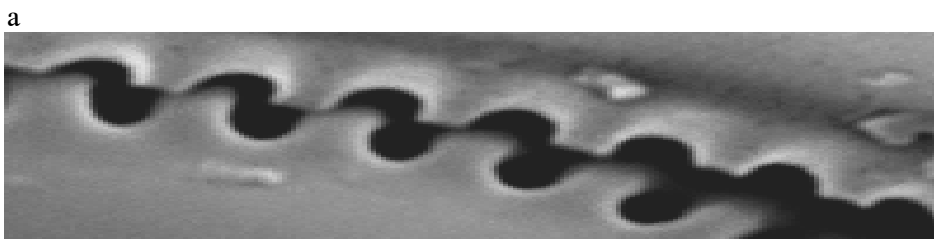
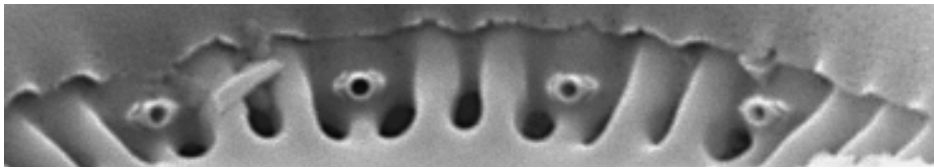
3. BULGULAR

Cyclotella comta (Ehr.) Kütz.

Valva büyüklüğü yaklaşık olarak 15-50 µm çapında bir sentrik diyatomele olan *Cyclotella comta*, tambur şeklinde bir yapı göstermektedir. İç içe geçmiş kapaklardan epivalvada 10 µm da yaklaşık 13-15 ışınal demetler bulunmaktadır (Şekil 1). Epivalva hipovalvanın üzerine kapaklı kutu şeklinde kapanmıştır. Demetler hipovalvada da bariz bir şekilde görülmektedir (Şekil 2). Valvanın merkezinde 10 µm da yaklaşık 40 tane hava deliği bulunmaktadır. Kovuksu deliklerden epivalvada da bulunmaktadır (Şekil 1-2). Organik maddenin zamanla dibe çökmesiyle ya da zooplanktonlar tarafından tüketilmesi sonucu valvanın sadece dış çemberinin kaldığı durumlarda 'valva bağlacı'nın daha belirgin ortaya çıktığı gözlenmiştir (Şekil 1, c). Ayrıca, valva bağlacı da hipovalvanın iç kısmında daha detaylı bir şekilde incelenmiş (Şekil 2.a,b), valva üzerindeki fasiküller de detaylandırılmıştır (Şekil 2.c).



Şekil 1.a. *Cyclotella comta* epivalva görüntüsü b. hipovalva görüntüsü c. İçi boşalmış valva çemberi d. Hipovalvada valva bağlacının görüntüsü



Şekil 2.a,b. Valva ve valva bağlacının detaylı görüntüleri, c. Fasikül (Dikdörtgen içine alınmış kısım)

4. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Cyclotella sp., hücre çapı oldukça küçük olan, sentrik bir diyatomedir. Valva küçük bir tambur şeklindedir. Dairesel valva yüzeyi halka şeklinde ışınal noktalardan oluşmaktadır. Bu noktalar diken, tanecik ya da siğil şeklinde olur. Hücreler, su üzerinde durabilmeye ya da herbivorların tüketmesine engel olmaya yarayan, boynuzumsu sert kıl şeklindeki yapılara sahiptir. Her bir hücrede disk şeklinde bir çok plastit mevcuttur. *Cyclotella*'nın yaklaşık yüz türü mevcuttur. Muhtemelen bunlardan en yaygın tür *Cyclotella meneghiniana*'dır (Round et al., 1990).

Bu çalışmada *Cyclotella comta*'nın kültürü yapılmış ve elektron mikroskopta morfolojik açıdan incelenmiştir. Valva büyüklüğü yaklaşık olarak 15-50 µm çapında bir sentrik diyatome olan *C. comta* da diğerleri gibi tambur şeklinde bir yapı göstermektedir (Şekil 1.a,b) (Hustedt, 1930). Valva üzerinde mevcut olan hava porlarının daha çok merkezi kısımda yer aldığı gözlenmektedir. Kovuk şeklindeki porların varlığı da dikkat çekmiştir (Şekil 1.a). Diğer centrik diyatome türlerinde de bu hava porlarının daha ziyade merkezde yapılanma gösterdiği görülmüştür. Özellikle *Stephanodiscus* genusuna mensup türlerde bariz bir şekilde por ve kovuksu hava deliklerinden bol miktarda bulunmaktadır (Yang ve Duthie, 1993). *Cyclotella bodanica* türünde porlar bile radyal simetriyi açıkça göstermektedir. Ayrıca fasiküllerin dağılımı daha çok valvanın marjinal kısmında yoğunlaşmaktadır (Hakansson, 1988). Fasikül denilen ve merkezden dışarıya doğru radyal simetri gösteren demetsi yapılar, küçük puntalardan meydana gelmektedir. Fasiküller de yine porlar gibi centrik diyatome türlerinin bazılarında, özellikle *Cyclotella astrea*'da dikotomik dallanma şeklinde karşımıza çıkmaktadır (Hustedt, 1930).

C. comta türünde karşımıza çıkan diğer bir yapı da, valva bağlaçlarının tıpkı bir saatin çarklarını andırmasıdır. Bu açıdan daha farklı bir yapı göstermektedir (Şekil 2.a,b). Valva bağlaçları genellikle tüm diyatome türlerinde görülür, ancak centrik diyatomelerde bu yapı radyal simetriyi tamamlar biçimde bir şekil arz etmektedir.

Genellikle tüm *Cyclotella* türleri gibi optimum gelişmeyi ılık suda gösterirler (Kolbe, 1932; Pabuçcu, 2003). Bazen tek tek, bazen de koloni halinde birbirine tutunarak uzun zincirler oluşturan *C. comta* da diğer *Cyclotella* türleri gibi akuatik omurgasızların önemli besin kaynağını teşkil ederler.

KAYNAKLAR

- Allen, M.M. (1968). Simple Conditions For Growth of Unicellular Blue-Green Algae on Plates, *J. Phycol.* 4, 1-4.
- Altuner, Z., Pabuçcu, K., Türkekul, İ., 2002, Tohumuz Bitkiler Sistematigi I. Cilt (Algler), Altan Yayınevi, Ankara.
- Carter, J.R. ve Bailey, A.E. (1980). A Taxonomic Study of Diatoms From Standing Freshwaters In Shetland. *Nova Hedwigia*, 33, 513.
- Castenholz, R.W. (1988). Culturing Methods For Cyanobacteria. *Methods in Enzymology*, 167, 68-93.
- Clair, L.L.St. ve Rushforth, S.R. (1978). The Diatom Flora of the Goshen Playa and Wiet Meadow, *Nova Hedwigia*. 29, 191.
- Cleve- Euler, A. (1951). Die Diatomeen Von Schweden Und Finnland. Almquist Und Wiksells Boktryckeri Ab., Stockholm, P.1003.
- Desey, J.P. (1979). A New Approach to Water Quality Estimating Using Diatoms. *Nova Hedwigia* 64, 305-323.
- Hakansson, H. (1988). A Study of Species Belonging to the *Cyclotella Bodanica/Comta* Complex (Bacillariophyceae). in Round, F. E. [Ed.] Proceedings Of The 9th International Diatom Symposium. Biopress Ltd. & Koeltz Scientific Books, Koenigstein, Germany, pp. 329-54.
- Hasle, G.R. (1978). Some Specific Preparations, Phytoplankton Manual. Printed By Page-brother (Norwich) Ltd. 3,136.
- Horst, L.-Bertalot. (1980a). New Species , Combinations and Synonyms in the Genus *Nitzschia*, *Bacillaria*. 3, 41-47.
- Horst, L.Bertalot. (1980b). Zur Systematischen Bewertung Der Bantfrörmigen Kolonien *Navicula* und *Fraglaria*. *Nova Hedwigia*, 33, 723.
- Hustedt, F. (1993) Bacillariophyta, Heft 10 Pascher, Die Susswasser Flora Mitteleuropas. Gustav Fischer Pub. Jena, Germany, P 340, 1930 *Hydrobiologia*, 269-270, No. 1, October, 1993.

- Yang ve Duthie, H.C., Morphology and Ultra-structure of Teratological Forms of The Diatoms *Stephanodiscus Niagarae* and *S. Parvus* (Bacillariophyceae) From Hamilton Harbour (Lake Ontario, Canada).
- Kolbe, R. W. (1932). Grundrissen Einer Allgemeinen Ökologie Der Diatomeen Ergebnisse Der Biologie, Berlin, 8.221-348.
- Lobban, C. S., Chapman, D. J. ve Kremer, B. P. (1988). Experimental Phycology A Laboratory Manual, Chambridge Univ.Press, P.2941.
- Natour, R.M. ve Nienhuis, H. (1980). Some Phytoplanktonic Studies in Agaba Gulf of Jordan. *Nova Hedwigia*, 33, 433.
- Niels, F. (1980). Diatoms in Egypt. *Nova Hedwigia*. 33, 629.
- Pabuçcu, K. (2001). Göl Ekosisteminde Diatomeleri Etkileyen Faktörler, I. Ulusal Eğirdir Sempozyumu, Eylül 2001, Isparta.
- Parra, (1980). Remarks on A Bloom of *Microcystis Aeruginosa* Kuetzing. *Nova Hedwigia*. 33, 971.
- Patrick, R. ve Reimer, C.W. (1975). The Diatoms of The United States. Acad. Sci, Phyladelphia, Monorg, Ii, p 213.
- Patrick, R. ve Reimer, C.W., The Diatoms of The United States, 1966, Volume1, The Academy of Phyladelphia, Monorg I, p 688.
- Rippka, R. (1988) Isolation and Purification of Cyanobacteria. *Methods in Enzimology*. 167, 3-27.
- Rippka, R. (1988b). Recognition and Identification of Cyanobacteria. *Methods in Enzimology*. 167, 28-67.
- Round, F.E., Crawford, R.M. ve Mann, D.G. (1990). The Diatoms, Biology & Morphology of The Genera, Cambridge University Press, pg.747.
- Silvia, A. ve Bruno, F. (1980). Contribution The Knowledge of Freshwater Algae From Lake Hamun-I Puzak (Iran). *Nova Hedwigia*. 33, 873.
- Simonsen, R. ve Lange- Bertalot, H. (1978). A Taxonomic Revision of The *Nitzschia*

Lanceolata Grunow, J. Gramer , Pub . D-3306, Lehre, Germany.

Sukatar ve Atakan (2002). Alg Kültür Yöntemleri, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Seri No:184, Bornova, İzmir.



Köksal PABUÇCU, Atatürk Üniversitesi Kazı Karabekir Eğitim Fakültesi Biyoloji Bölümünü bitirdikten sonra, aynı üniversitede yüksek lisansını yaptı. (1993). Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde Uzman olarak göreve başladı (1994). 2000 yılında Gazi Üniversitesi'nde doktorasını tamamladı. 2008 yılında Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünde Yardımcı Doçent oldu. Alg sistematigi, ekolojisi ve alg kültürü üzerine çalışmalarını devam ettirmektedir.

