

**ARAŞTIRMA MAKALESİ /RESEARCH ARTICLE**

**MİKROKÜLTÜRÜ YAPILAN *NITZSCHIA PALEA*'NİN  
TARAMALI ELEKTRON MİKROSKOPTA İNCELENMESİ**

**Köksal PABUCCU <sup>1</sup>**

**ÖZ**

Bu araştırmada Bacillariophyta bölümünden *Nitzschia palea* 'nın (Tokat-Türkiye civarından alınan örneklerden) kültür ortamında kültürü yapılmış ve taramalı elektron mikroskopta (SEM) incelenmiştir. Mikrograf analizlerinde, kutup nodülünün farklı morfolojik yapıya sahip olduğu gözlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler :** *Nitzschia palea*, Diyatome kültürü, SEM.

**OBSERVATION OF MICROCULTURED- *NITZSCHIA PALEA*  
IN SCANNING ELECTRON MICROSCOPE (SEM)**

**ABSTRACT**

In this research, *Nitzschia palea* from Bacillariophyta division (in samples which received from surroundings Tokat-Turkey) have been cultured in culture medium and investigated in scanning electron microscope (SEM). In analysis of micrograph have been observed that polar nodule has different morphological structure.

**Keywords:** *Nitzschia palea*, Diatom cultured, SEM.

**1. GİRİŞ**

Silisli algler olarak bilinen diyatomelerin morfolojik açıdan detaylı bir şekilde incelenmesi ancak taramalı elektron mikroskopta gerçekleştirilmektedir. Şekil bakımından büyük zenginlik gösteren bu algler, morfolojileri itibariyle diğer alg gruplarından çok farklıdır. Hücrelerinde içerdikleri bol miktardaki silis, hücre çeperlerinde farklı desenler meydana getirmektedir. Frustul denilen hücre çeperi, üst üste kapanan kapaklı bir yapı gösterir. Valva görünüşlerinde diyatomeler, silis yapılı çizgileri itibariyle simetri ya da asimetri gösterebilirler. Özellikle pennat diyatomelerdeki bilateral simetri, onların teşhislerde çok önemlidir (Altuner vd., 2002).

*Nitzschia* genusuna ait türler üzerinde gerek SEM'de gerekse AFM'de çeşitli morfolojik araştırmalar yapılmıştır (Halse, 1995; Higgins et

al., 2003; Lundholm et al., 2003; Tarabajo et al., 2004). Ancak genellikle doğal ortamdan alınan türlerin incelenmesi şeklinde olmuştur. Bu çalışmada ilk kez kültür ortamında mikrokültürü yapılarak üretilen *Nitzschia palea* 'nın SEM'de incelenmesi gerçekleştirilmiş ve frustul yapısının ortaya konulması amaçlanmıştır.

**2. MATERYAL VE METOT**

Petri kapları 26°C'de iklim dolabında, ortalama 155µmol/m<sup>2</sup>/s aydınlatmada genellikle 12:12 saat aydınlık:karanlık (L:D) periyodunda inkübe edilmiştir. Bir ay sonunda agar üzerinde belirginleşen tüm farklı koloniler öze yardımı ile alınarak tekrar katı besiyerlerinde tek bir takson izole olana kadar devam edilmiştir. Diyatomelerin izolasyonunda ilaveten, mekanik izolasyon yöntemi de kullanılmıştır. İzole olan diyatomelerin devamlılığı için ise BG11, Allen

<sup>1</sup> Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Taşlıçiftlik Kampüsü, 60250, Tokat.  
E-mail: [kpabuccu@gop.edu.tr](mailto:kpabuccu@gop.edu.tr)

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

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

ve f/2 katı ve sıvı besiyerlerine aşılmıştır (Rippka *et al.* 1988b). İzole edilen hareketli türlerin devamlılığı için katı besiyerlerinin yanında, örnekler sıvı besiyerlerine de aktarılmışlardır. Besiyerine aktarımı yapılan diyatomeler, Sanyo MLR 351 marka iklim dolabında yukarıda belirtilen şartlarda gelişmeye bırakılmıştır. Zaman zaman gelişimi artırmak amacıyla zenginleştirme çözeltileri ilave edilmiştir (Lobban *et al.*, 1988). Diyatomelerin gelişmeleri için 1. ortamdan ayrı şekilde yürüyen 2. bir ortam (DM ortamı) daha hazırlanmış ve gelişmeler bu ortamda da takip edilmiştir. Diyatomelerin gelişme durumları, fert ve populasyon sayıları, ışık mikroskobu altında ve thoma lamında gözlenerek, yoğunlukları tayin edilmiştir (Descy, 1979). Bu bulgular burada verilmeyip, başka bir yayında konu edilecektir. Ortamdan alınan diyatomelerin elektron mikroskopta detaylı olarak incelenmesi amacıyla organik madde muhtevalarından arındırılması gerekmektedir. Bunun için H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile arındırma yöntemi kullanılarak diyatomelerin ekstraktı hazırlanmıştır (Hasle, 1978). Organik içeriklerinden arındırılmış diyatomeler, elektron mikroskopta incelenmek üzere, karbon yapıştırıcı ve lamellerle birlikte alüminyum stiplere yerleştirilerek üzerleri, SPI supplies Sputter kaplama cihazında, elektroliz yöntemiyle altın plaka ile kaplanmış ve daha sonra JSM Jeol 5400 marka scanning elektron mikroskopta 5 kw-10 kw-15kw, 10<sup>-4</sup> torr vakum altında incelenmiştir. Diyatomelerin teşhislerinde ilgili kaynaklardan yararlanılmıştır (Clair 1978, Simonsen *et al* 1978; Horst *et al.*, 1980a,b; Natour, 1980; Niels, 1980; Parra *et al.*, 1980; Silvia, 1980; Carter-Bailey, 1980; Patrick-Reimer, 1966, 1975; Husted, 1930; Cleve-Euler, 1951; Round *et al.*, 1990; Hakansson, 1988).

### 3.BULGULAR

#### Genus: *Nitzschia* Hassall

1845'de ilk kez A.H. Hassall tarafından History of British Freshwater Algae'de tanımlanan *Nitzschia* genusu, bünyesinde birçok türe sahiptir. *Nitzschia*' da hücreler tek ya da, nadiren yıldız veya zincir şeklinde, koloni halindedir. Bazen de hücreler müsülaj içerisinde bulunurlar. Frustuller eşit ve çift kutupludur. Türlerin valva yapısının asimetrik oluşuna bağlı olarak rafe sistemi, genellikle merkezin dışındadır. Valva dış çizgisi asimetrik ve dorsoventral bir şekilde gözükabilir. Eğer doğru görüş açısında, dikey düzlemde bakılırsa, yapıları genellikle simetriklerdir. Fakat bu görünüş ancak yatay eksende görülebilir. Genellikle kutup nodülleri iyi bir şekilde uzantı gösterir. Enine strialar bazen görülebilir, fakat genelde bunlar çok has-

sas ve çok ince yapılar olduğu için, ışık mikroskobunda iyi çözümlenemezler. Rafe sistemi fibulardan oluşmuş fibulattır ve genellikle valva kenarı boyunca devam eder, ancak birkaç türde bazı durumlar dışında (örneğin *N. filiformis*, *N. obtusa*'da) rafe, valva üzerinde aynı pozisyonunu korumaktadır. Rafenin kendisi görünmez bir şekildedir ve varlığı sadece dolaylı bir şekilde anlaşılabilir. Fibula, sadece birkaç türde, genelde küçük ve ayrık bir yapıdadır ve valvanın tamamı boyunca genişlemektedir. Merkezi rafe mevcut olup olmaması önemli bir taksonomik karakterdir. Merkezi rafe genellikle ışık mikroskobunda, merkezde, subrafe kanalının kenarında fark edilebilir. İki valvanın rafe sistemi aynı kenarda uzayabilir (*Hantzschoid simetri*), veya karşı kenarda uzayabilir (*Nitzschioid simetri*). Denizel ortama ait bazı türlerde genellikle her biri bir kutupta bulunan, iki kloroplast mevcuttur. Her bir kloroplast genellikle basit yapıdadır ve valva ya da kuşağa sıkıştırılmıştır.

Hassas yapısı ve pek çok türün benzer morfolojiye sahip olması itibarıyla *Nitzschia*, adlandırması ve taksonomisi itibarıyla zor bir genustur. 1975'den beri türlerin sınırı devamlı değiştirilmektedir. Son zamanlarda bazı genuslar birbirlerine ve *Nitzschia*'ya yakın bulunmadıkları için, *Nitzschia*'dan ayrılmaktadır (örneğin *Tryblionella*, *Psammodictyon*) (Round, 1990).

#### *Nitzschia palea* (Kützinger) W. Smith (1856)

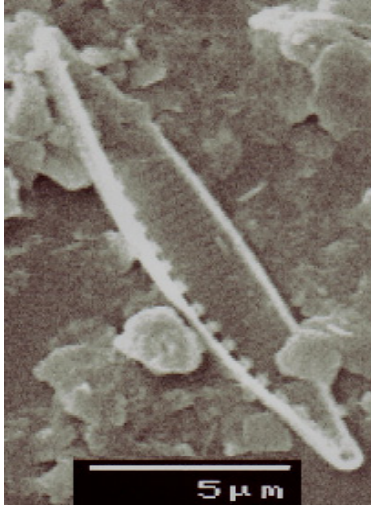
Tek tek yaşayan hücrelerin boyları genellikle 20-65 µm, enleri 2,5-5 µm'dir. 10 µm'da 10-15 fibulae, ve 10 µm'da 40 stria bulunmaktadıdır (Husted, F.,1930). Frustuller eş kutuplu ve bilateral simetridir. Hücreler valva veya girdle (kuşak) şeklinde durur ve rafenin fark edilmesi daima valva görünüşünde olmaktadır. Valvalar bilateral simetrik olarak genellikle lanceolat(doğrusal mızraksı)tır (Şekil 1.a, b), fakat bazen mızraksı yapı da gösterebilir. Kutuplar kısa, gaga veya burun şeklindedir (Şekil 1c,d). Nadir durumlarda (daha küçük valvalarda) şekli, kama şeklini de andırabilir. Valvanın merkezi kısmı paralel veya biraz dışbükeydir, fakat asla iç bükey değildir. Striaları ışık mikroskobunda görmesi zor olabilir. Rafe sistemi fibulattır (Şekil 2.e) ve ışık mikroskobunda fark edilmesi zordur. Fibula küçük nokta şekilli ve/veya kare biçimindedir(Şekil 1.f). Fibulanın merkezi kısmı diğerlerinden çok farklı olarak geniş değildir, merkezi rafe sonlanmaz. Bir früstülde her iki valvanın rafe sistemi kenarlara doğru uzanır (*Nitzschioid simetri*). Her bir hücrede bulunan iki kloroplasttan her biri bir kutba doğru gider.

#### 4.TARTIŞMA VE SONUÇ

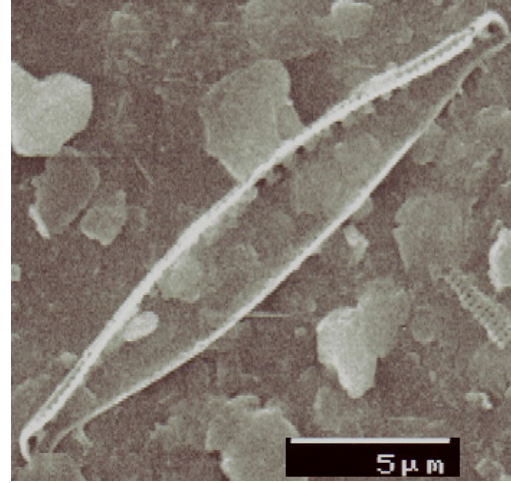
Bu araştırmada mikrokültürü yapılan *Nitzschia palea* (Kützing) W. Smith türü taramalı elektron mikroskopta incelenmiştir. Frustul yapısına valva ve kuşak (girdle) görüntülerde bakılmıştır (Şekil 1.a-f). Merkezi ve kutup nodüllerinin yapısına, stria ve puntkaların sayısına bakılmış, morfolojik olarak incelenmiştir. Ultrastrüktürel olarak diğer pennat diyatomeer gibi bilateral simetri göstermekle birlikte rafesinin farklı bir yapı arzemesi *Nitzschia* türüne has bir özelliktir (Round, et al., 1990). Tüm *Nitzschia* türlerinde mevcut olan marjinal rafe *N. palea*'nın SEM analizinde de rahat bir şekilde seçilmiştir. *Hantzschia* genusunda mevcut olan rafe yapısına benzer bir durum görülse de *Nitzschia* türleri puntkaları itibariyle valvada daha belirgin durmaktadır. Özellikle *N. sinuata* var. *tabellaria*'da puntkaların yapısı daha belir-

gindir ve *Hantzschia*'daki ince punkta yapısı yoktur (Mann, 1980). *Pseudonitzschia*'da görülen ve kutup nodülünün sonuna kadar ulaşmayan stria durumu *N. palea*'da mevcut değildir (Halse, 1995). Strialar kutup nodülünün uç kısmına kadar devam etmektedir (Şekil 1.c.d).

Morfolojik yapısı itibariyle kültür ortamında stabil ve uygun şartlara maruz kalmasına rağmen çevresel olarak *N. palea*, çevresel olumsuzluklara dayanıklı bir tür olarak karşımıza çıkmaktadır. Çoğu alg türlerine ve diğer canlılara zehir etkisi yapan bakır elementine, az sayıda diyatome türü dayanabilmektedir. *N. palea* bu türlerin başında gelmektedir ve çevresel olumsuzluklara oldukça dayanıklı bir forma sahiptir (Schroeder, 1939; Tarabajo, et al., 2004). Bu indikatör özelliği sayesinde, akuatik ortamların karakteri hakkında bilgi verme amacıyla kullanılabilir.



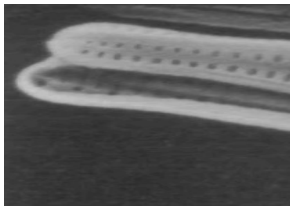
Şekil 1.a



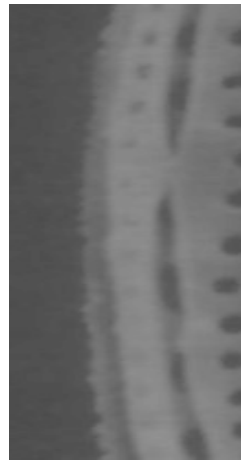
Şekil 1.b



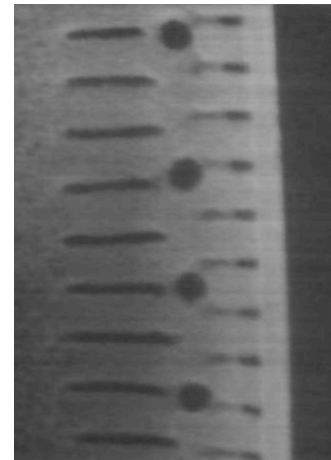
Şekil 1.c



Şekil 1.d



Şekil 1.e



Şekil 1.f

Şekil 1. a-f *Nitzschia palea*, frustul detay görüntüleri

**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). *Tohumusuz Bitkiler Sıstematiği*, 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 Enzimolog.*, 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, 191-198.
- Cleve- Euler, A. (1951). Die Diatomeen Von Schweden Und Finnland. Almquist und Wiksells Boktryckeri Ab., Stockholm, P.1003.
- Descy, 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 Pagebrother (Norwich) Ltd. 3,136.
- Halse, G.R. (1995). *Pseudonitzschia pungens* and *P. multiseries* Nomenclature History, Morphology and Distribution, *J. Phycology.* 31, 428-435.
- Higgins, M., Sader, J., Mulvaney, P. ve Wetherbee, R. (2003), Probing The Surface of Living Diatoms with Atomic Force Microscopy: The Nanostructure And Nanomechanical Properties of The Mucilage Layer. *J. Phycol.* 39, 722-734.
- Horst, L.B. (1980a). New Species , Combinations End Synonyms in the Genus *Nitzschia*, *Bacillaria* .3, 41-47.
- Horst, L.B. (1980b). Zur Systematischen Bewertung Der Bantfrörmigen Kolonien *Navicula* und *Fraglaria*. *Nova Hedwigia.* 33,723.
- Hustedt, F. (1930). *Bacillariophyta*, Heft 10 Pascher, Die Susswasser Flora Mitteleuropas. Gustav Fischer Pub. Jena, Germany, p 340.
- Lobban, C. S., Chapman, D. J. Kremer, B. P. (1988). *Experimental Phycology A Laboratory Manual*, Chambridge Univ.Press, P.2941.
- Lundholm, N., Halse, G. R. ve Hoefemdem K., (2003). A Study of the Pseudo-Nitzschia Pseudodelicatissima/Cuspidata Complex Bacillariophyceae): What is P. pseudodelicatissima? *J. Phycol.*39, 797-813.
- Mann, D.G. (1980). *Hantzschia Fenestrata* Hust. Bacillariophyta- *Hantzschia* or *Nitzschia* ? *Br. Phycol. J.* 15, 249-60.
- Natour, R.M. ve Nienhuis, H. (1980). Some Phytoplanktonic Studies in Agaba Gulf of Jordan. *Nova Hedwigia*, 33, 433-441.
- Niels, F. (1980). Diatoms in Egypt. *Nova Hedwigia*, 33, 629.
- Parra, At All. (1980). Remarks on A Bloom of *Microcystis Aeruginosa* Kuetzing. *Nova Hedwigia*, 33, 971.
- Patrick, R. Reimer, C.W. (1966) The Diatoms of The United States, Volume 1, The Academy of Philadelphia, Monorg I., p 688.
- Patrick, R. ve Reimer, C.W. (1975). The Diatoms of The United States. Acad. Sci., Philadelphia, Monorg, II, P 213.
- Rippka, R. (1988 a). 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, p. 747.

Schroeder, H. (1939) Die Algen Flora Der Mulde Pflanzenforschung, 21, 1-88.

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.

Tarabajo, R., Eillen, C. Quintana, X. (2004). The Effects of Some Environmental Variables on the Morphology of *Nitzschia frustulum* (Bacillariophyta), In Relation Its Use As a Bioindicator, *Nova Hedwigia*, Volume 79, Numbers 3-4, pp. 433-445(13).



**Köksal PABUÇCU**, Atatürk Üniversitesi Kazım 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.

