



Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi

<https://dergipark.org.tr/tr/pub/yyufbed>



Araştırma Makalesi

Van Topraklarından İzole Edilen *Colpoda* (Ciliophora, Colpodea) Türleri Üzerinde Morfolojik ve Moleküler Filogenetik Araştırmalar

Pelin ERİŞEN¹, İsmail YILDIZ^{*2}

¹ Söke Anadolu Lisesi, 09200, Söke, Aydın, Türkiye

² Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 65080, Van, Türkiye

Pelin ERİŞEN, ORCID No: 0000-0003-4448-6287, İsmail YILDIZ, ORCID No: 0000-0001-9986-0358

*Sorumlu yazar e-posta: iyildiz@yyu.edu.tr

Makale Bilgileri

Geliş: 21.04.2023

Kabul: 04.09.2023

Online Aralık 2023

DOI:10.53433/yyufbed.1285464

Anahtar Kelimeler

Colpoda,
Filogeni,
Morfoloji,
Toprak siliyatları,
Van

Öz: Bu makalede Van topraklarından izole edilen *Colpoda* Ö. F. Müller 1773 cinsine ait dört siliyat türünü hem morfolojik hem de 18S rDNA gen dizisine dayalı filogenetik olarak inceledik. *C. lucida*, *C. magna* ve *C. maupasi* morfolojik olarak literatür verileri ile uyumludur. Morfolojik karakterleri bakımından daha önce tanımlanmış herhangi bir popülasyon ile eşleşmeyen bir popülasyon ise *Colpoda* sp. olarak sunuldu. *C. lucida* ve *C. magna* Türkiye siliyat faunasına ilk kez bu çalışma ile kaydedilmiştir. Filogenetik analizlerde (ML ve BI) *Colpoda* cinsi üyeleri dış grup olarak kullanılan türlerden tam destek ile ayrılmıştır. Bu çalışmada izole edilen *C. lucida* ve *C. magna* filogenetik ağaçlarda daha önce tanımlanmış türdeşleri ile birlikte konumlanırken *C. maupasi* popülasyonunun morfolojik olarak benzer olmamasına karşın *C. eucaudata* ile daha yakın konumlanmıştır. *C. lucida* türdeşlerinin bazal pozisyonunda onlardan genetik olarak farklılaşmış olarak yer almaktadır. *Colpoda* sp. ise diğer hemcinslerinden farklı bir kol üzerinde *Colpoda* sp. (JF747216) popülasyonu ile kardeş pozisyonda ve ondan genetik olarak uzak pozisyonda konumlanmıştır. *Colpoda* sp.'nin filogenetik pozisyonu ve genetik farklılığı onun yeni tür olmaya aday olduğuna işaret etmektedir.

Morphological and Molecular Phylogenetic Investigations on *Colpoda* (Ciliophora, Colpodea) Species Isolated from Van Soils

Article Info

Received: 21.04.2023

Accepted: 04.09.2023

Online December 2023

DOI:10.53433/yyufbed.1285464

Keywords

Colpoda,
Morphology,
Phylogeny,
Soil ciliates,
Van

Abstract: In the present paper, we have investigated four ciliate species belonging to the genus *Colpoda* O. F. Müller, 1773 isolated from Van soil and examined both morphologically and molecular phylogenetically based on the 18S rDNA gene sequence. *C. lucida*, *C. maupasi* and *C. magna* are compatible morphologically with literature data. One population, which did not match any previously defined species in terms of morphological characters, was presented as *Colpoda* sp. *C. lucida* and *C. magna* were recorded for the first time in the ciliate fauna of Turkey with this study. In the phylogenetic analyses (ML and BI), the members of the genus *Colpoda* separated from the species used as the outgroup with full support. In the phylogenetic trees, the *C. lucida* and *C. magna* species isolated in this study clustered together with the same species described previously, while the *C. maupasi* population was more closely located with *C. eucaudata*, although not morphologically similar. *C. lucida* was located in the basal position of the other populations of the same species and slightly genetically differentiated from them. The *Colpoda* sp. isolated in this study is located on a different arm from its congeners, in a sister position with the *Colpoda* sp. (JF747216) population and in a genetically distant position from it. It's phylogenetic position and genetical difference from other populations of the *Colpoda* sp. from other populations indicating a candidate to be a new species.

Bu çalışma Doç. Dr. İsmail YILDIZ danışmanlığında tamamlanan Pelin ERİŞEN'in yüksek lisans tezinden üretilmiştir.

1. Giriş

Siliyatlar hayat döngülerinin tamamında veya en az bir döneminde sil taşımaları ile karakterize edilen tek hücreli ökaryotik mikroorganizmalar olup suyun ya da nemin bulunduğu her türlü habitatta yaşarlar (Lynn & Small, 2000; Lynn, 2008). Diğer yaşam formlarıyla simbiyotik ilişkiler kuran üyeleri bulunmakla birlikte büyük çoğunluğu serbest yaşarlar (Göçmen, 2014). Serbest yaşayanlar her çeşit sucul ve karasal ortamlarda yayılmış olmasına karşın, gözle görülemeyecek kadar küçük boyutlara sahip olmaları, preparasyonlarının zor ve zaman alıcı olması ve bu alanda uzmanlaşmış araştırmacıların az olması gibi sebeplerden ötürü uzun yıllar bu organizmalar ile ilgili çalışmalar ihmal edilmiştir (Foissner, 1999; Foissner ve ark., 2002; Chen ve ark., 2021; Li ve ark., 2021; Yıldız, 2021).

Mikroskobun keşfi ile varlığından haberdar olduğumuz sucul serbest siliyatlar ile ilgili çalışmalar 100-150 yıl kadar öncesine dayanmakta olup bu organizmaların sadece sulara yaşadıkları düşünülmüştür. Yirminci yüzyılın son çeyreğinde toprak zerreciklerinin etrafındaki su filminde aktif olarak yaşayan siliyat faunasının varlığı gösterilmiş, çok sayıda toprak siliyat türü tanımlanmıştır (Foissner ve ark., 2002).

Siliyatların taksonomisi ve filogenisi ile ilgili araştırmalar uzun bir süre morfolojik karakterlere dayalı olarak yürütülmüştür. Diğer protozoon grupları ile karşılaştırıldığında siliyatlar daha zengin morfolojik karakter çeşitliliğine sahip olmakla birlikte tek hücreli bir organizmadan filogeniyi yansıtmak yeterli karakter elde etmek güçtür. Günümüzde morfolojik verilere ilave olarak çeşitli gen bölgelerinin karşılaştırmasına dayalı moleküler çalışmaların bu alana dahil edilmesiyle siliyatların filogenisi yeniden oluşturulmaya çalışılmaktadır (Jang ve ark., 2017; Wang ve ark., 2017; Chen ve ark., 2021; Li ve ark., 2021).

Colpoda kolpoditler arasında tür çeşitliliği en yüksek cinsi oluşturur (Foissner, 1993). Bu organizmalar ile ilgili farklı coğrafik bölgelerde çok sayıda morfolojik çalışma bulunmakla birlikte moleküler filogenetik çalışma oldukça sınırlıdır. Yapılan literatür taramaları sonucuna göre ülkemizde kolpodit siliyatlar ile ilgili sadece iki çalışma mevcut olup, bu çalışmalarda (Çınar, 2011; Kaya & Şenler, 2012) morfoloji ile sınırlıdır. Ülkemizde henüz kolpodit siliyatlar ile ilgili moleküler filogenetik çalışma yapılmamıştır. Van ilindeki toprak örneklerinden izole edilen *Colpoda* cinsine ait siliyatlar üzerinde gerçekleştirilen bu morfolojik ve moleküler filogenetik çalışma, ülkemizde bu organizmalar üzerinde gerçekleştirilen ilk çalışma olma özelliğindedir.

2. Materyal ve Yöntem

Bu çalışmanın materyalini Van ili (Tuşba, İpekyolu ve Edremit ilçeleri) topraklarından izole edilen *Colpoda* cinsine ait siliyatlar oluşturmaktadır.

2.1. Örneklerin alınması ve kültür yapımı

Toprak örnekleri nemli kalma periyodu uzun, organik maddece zengin, bitkisel döküntülerin bulunduğu ortamlardan alındı. Örnekleme, yüzeyden 5-10 cm derinliğe kadar olan üst toprak tabakası sıyırılarak yapıldı. Alınan toprak örnekleri gölgede, oda sıcaklığında 30 gün kadar kurutulduktan sonra paketlenerek siliyat kültürlerinde kullanılmak üzere nemsiz ve karanlık ortamda saklandı (Foissner ve ark., 2002; Vd'ačný & Foissner, 2012). Kuru toprak örnekleri Petri kaplarında saf su ile doyurularak kültürler hazırlandı. Kolpoditlerin besin kaynaklarından olan bakterilerin üremesini teşvik etmek için kültür ortamına irmik, buğday ve pirinç gibi çeşitli karbonhidrat kaynakları ilave edilerek oda sıcaklığında 3-10 gün inkübasyona bırakıldı.

2.2. Morfolojik yöntemler

Kültürlerinin 3. gününden itibaren Petri kaplarından alınan sıvı stereo mikroskop altında (Leica S8) küçük büyütme (10X-80X) canlı olarak gözlemlendi. Kılcal pipetler ile toplanan siliyatlar yüksek büyütme (100-1000X) faz-kontrast ve diferansiyel interferans-kontrast özellikli Zeiss Axio Imager 2 mikroskobu altında incelendi, canlı hücre ölçümleri alındı, amaca uygun olanların görüntüleri kaydedildi. Siliyatların oral ve somatik siliyatür, kortikal yapı, nüklear organizasyon gibi ayrıntılı morfolojik karakterlerinin belirlenmesi için çeşitli gümüş boyama teknikleri uygulandı (Foissner & Xu,

2007; Vd'ačný & Foissner, 2012; Foissner, 2014). Hazırlanan preparasyonlardan amaca uygun olanların görüntüleri kaydedildi, çeşitli morfolojik karakterlere ilişkin ölçüm ve sayımlar alındı, elde edilen sayısal veriler istatistiksel olarak değerlendirildi, sonuçlar çizelgeler şeklinde özetlendi.

Siliyatların çeşitli morfolojik karakterlerine ait çizimler, canlı ve preparasyonlardan alınan görüntüler ile gözleme dayalı kaba el çizimleri kullanılarak bilgisayar ortamında Adobe Photoshop CS5 (Adobe System Inc.) programı kullanılarak yapıldı.

2.3. Moleküler filogenetik yöntemler

Kültür sıvılarından toplanan canlı hücrelerin besin vakuollerinde olası sindirilmemiş yabancı hücresel yapıların bertaraf edilmesi için, 3-4 saat sterilize edilmiş kültür sıvısında bekletildiler. Bu süre sonunda hücreler 4-5 kez sterilize edilmiş saf sudan geçirildikten sonra yaklaşık 1 µL su ile birlikte, her bir tüpte 1 hücre olacak şekilde 200 µL'lik tüplere aktarıldılar. Tüpler DNA izolasyonu yapıncaya kadar -54 °C'de derin dondurucuda 2-6 ay muhafaza edildi. Genomik DNA'nın izolasyonu Gong ve ark. (2007) ile Yıldız (2021)'a göre yapıldı. Siliyatların 18S rDNA gen bölgeleri EukA, EukB primerleri kullanılarak PZR (polimeraz zincir reaksiyonu) ile çoğaltıldı (Medlin ve ark., 1988). PZR'unda Yıldız (2018)'in bildirildiği koşullar kullanıldı. Hedef DNA bölgesinin çoğaltıldığını doğrulamak için PZR ürünü DNA belirteci eşliğinde agaroz jel elektroforezinde koşuruldu. Her bir kolpodit türü için 2 PZR ürünü dizilemek üzere seçildi. Nükleotid dizileri, PZR primerleri ve bir iç primer (SR7R) kullanılarak BM Laboratuvar Sistemlerinde okundu.

Elde edilen nükleotid dizi parçalarının kalitesi ve güvenilirliği CodoneCode Aligner programında kontrol edildi, düşük kaliteli ve belirsiz kromatogram içeren baş ve son bölümler manuel olarak kesilerek nükleotid diziden uzaklaştırıldı. Her bir kolpodit türü için 6 adet güvenilir DNA dizi parçasının hizalanmasından elde edilen konsensüs dizisi filogenetik analizlerde kullanılmak üzere kaydedildi. Her bir kolpodit popülasyonu için elde edilen konsensüs GenBank (NCBI) verileri ile hizalanarak diğer popülasyonlar ile benzerlikleri kontrol edildi.

Bu çalışmada izole edilen siliyatların filogenetik analizleri için mevcut gen dizileri ile birlikte NCBI'dan elde edilen *Colpoda* cinsine ait 19 türün gen dizisi ile dış grup olarak kullanılan *Cyrtolophosis* Stokes, 1885, *Pseudocyrtolophosis* Foissner, 1989, *Microdiaphanosoma* Wenzel, 1953 ve *Aristerostruma* Kahl, 1926 cinslerine ait türlerin gen dizileri kullanıldı. NCBI'den elde edilen gen dizilerinin kayıt numaraları (assesion number) Şekil 5'de gösterilmiştir. Filogenetik ağaçta kullanılan gen dizileri Mega 7 programında hizalandı. Nükleotid dizilerinin hizalanmasında ClustalW algoritması kullanıldı (Tamura ve ark., 2013; Kumar ve ark., 2016). Hizalanmış gen dizilerinde ileri derecede değişkenlik gösteren ve hatalı hizalanma olasılığı bulunan nükleotid pozisyonları GBlocks programı kullanılarak hizalanmış dizilerden ayıklandı (Talavera & Castresana, 2007).

Filogenetik analizler maksimum olabilirlik (ML) ve Bayesian çıkarsaması (BI) yaklaşımları ile gerçekleştirilmiştir. ML analizi, IQ-Tree programı kullanılarak (Nguyen ve ark., 2015; Hoang ve ark., 2018) ve model test analizi ile belirlenen GTR+F+I+G4 model kullanılarak 1000 bootstrap olarak yapıldı. Bayesian analizi ise JModel-Test 2.1.7 yazılımı ile AIC parametresi kullanılarak seçilen modele göre (GTR+G+I) 3.000.000 jenerasyon olarak MrBayes 3.2.6 yazılımı kullanılarak yapıldı (Posada, 2008; Darriba ve ark., 2012; Ronquist ve ark., 2012).

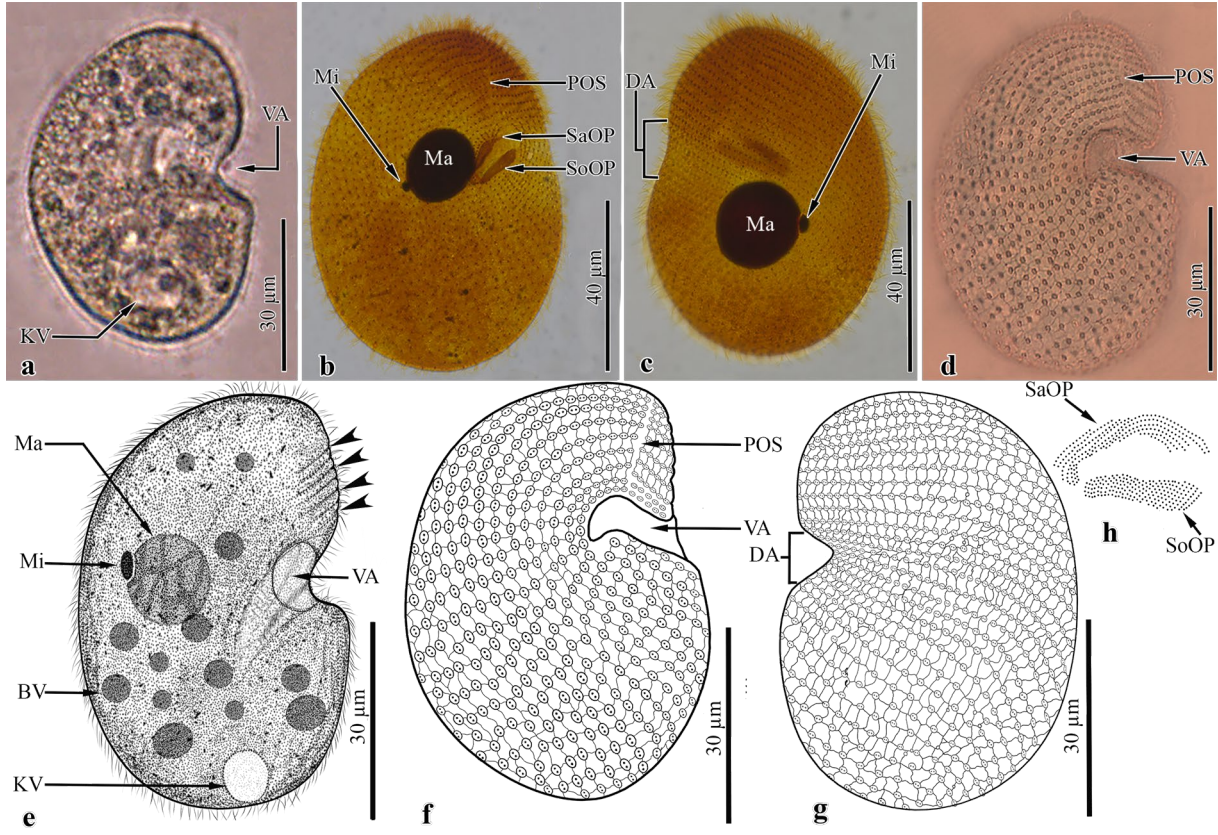
3. Bulgular

Bu çalışmada *Colpoda lucida* Greff, 1888, *Colpoda magna* Gruber, 1879, *Colpoda maupasi* Enriques 1908 ve *Colpoda* sp. olmak üzere 4 kolpodit popülasyonu izole edilmiş olup bu organizmaların morfolojik ve filogenetik özellikleri aşağıdaki gibidir.

3.1. *Colpoda lucida* Greff, 1888

Canlı hücre boyutları ortalama 64×50 µm dir. Her iki lateralden böbrek veya fasulye görünümündedir (Şekil 1a, 1e, Çizelge 1). Postoral kısım preoralden hafifçe daha geniştir. Sol lateral düz, sağ lateral ise konveks, hücre 1:3-1:4 oranında lateral olarak yassılaştırmıştır. Preoral bölgede 7-8 çıkıntıdan oluşan omurga yapısı mevcuttur (Şekil 1e). Vestibüler açıklığın sol tarafından başlayıp spiral olarak posteriyör dorsale doğru yönelen orta derinlikte diyagonal arka sahiptir (Şekil 1c, 1g). Çapları 2-

10 µm arasında değişen küresel biçimli besin vakuollerine sahiptir (Şekil 1e). Posteriyörde terminal olarak konumlanmış tek veziküler yapıda kontraktıl vakuol bulunur (Şekil 1a, 1e).



Şekil 1. *Colpoda lucida*'nın fotoğraf (a-d) ve çizimleri (e-f). a: sağ lateral canlı; b, c: sağ ve sol lateral siliyatürü; d, sağ lateral gümüş çizgiler sistemi; e, canlı; f, g, sağ ve sol lateral siliyatürü; h: oral polikinetid organizasyonu. BV: besin vakuölü; DA: diyagonal ark; KV: kontraktıl vakuol; Ma: makronükleus; Mi: mikronükleus; POS: preoral sütür; SaOP: sağ oral plikinetid; SoOP: sol oral polikinetid; VA: vestibüler açıklık; ok başları: yivli omurga yapısı.

Çizelge 1. *Colpoda lucida*'nın morfometrik özellikleri

Morfometrik karakterler	\bar{x}	Max	Min	SS	VK	N
Hücre uzunluğu*, µm	63.55	78.75	52.50	6.16	9.70	62
Hücre genişliği*, µm	65.61	95.00	45.00	9.45	14.41	74
Hücre genişliği/hücre uzunluğu*, (%)	48.91	61.25	37.91	5.79	11.85	61
Hücre genişliği/hücre uzunluğu*, (%)	46.68	62.50	30.00	7.91	16.96	74
Hücre genişliği/hücre uzunluğu*, (%)	77.06	94.73	66,66	4.90	6.36	61
Hücre genişliği/hücre uzunluğu*, (%)	71.36	91.67	50.00	8.65	12.13	74
Vestibüler açıklığın apekten uzaklığı, µm	27.33	43.00	16.00	4.71	17.23	60
Makronükleus uzunluğu, µm	13.57	18.00	9.00	2.21	16.27	46
Makronükleus genişliği, µm	11.30	16.00	8.00	1.69	14.90	46
Makronükleus uzunluğu/makronükleus genişliği	1.21	1.63	1.00	0.17	14.07	46
Mikronükleus uzunluğu, µm	2.63	4.00	2.00	0.61	23.20	32
Mikronükleus genişliği, µm	1.81	3.00	1.00	0.53	29.52	32
Sağ lateral somatik kineti sayısı	18.86	24.00	13.00	3.14	16.63	22
Sol lateral somatik kineti sayısı	19.15	23.00	14.00	2.79	14.59	13
Sağ oral polikinetid uzunluğu	14.11	20.00	11.00	3.22	22.81	9
Sol oral polikinetid uzunluğu	13.00	17.00	10.00	2.49	19.19	10
Sol oral polikinetiddeki sil sırası sayısı	24.36	31.00	18.00	3.59	14.72	14

* Üst satır verileri canlı hücrelerden, al satır verileri gümüş impregnasyonu preparasyonlardan elde edilmiştir.

Oral aparey vestibüler açıklığın kaidesinde, ekvatorial düzlemin hafifçe anteriyöründe ventral olarak konumlanmıştır (Şekil 1a, 1d-f). Vestibüler açıklığın içerisinde ve onun sağ ve sol duvarında konumlanmış, oral polikinetidlere sahiptir (Şekil 1b). Sağ ve sol oral polikinetidler birbirlerine paralel ve vücut eksenini ile yaklaşık 45° açı yapacak şekilde konumlanmışlardır. Sol oral polikinetid raket biçimli 24 kadar kinetozom sırasından oluşur, sağ oral polikinetidin kinetozomları daha düzensizdir (Şekil 1h).

Nükleer aparey oval ya da küresel biçimli bir makronükleus ile makronükleusa yakın ya da onun girintisi içerisinde konumlanmış küresel bir mikronükleustan oluşur (Şekil 1b, 1c, 1e).

Hücre yüzeyini örten somatik siller 6-7 µm uzunluğunda olup hücre eksenine spiral olarak düzenlenmiş 18-19 dikinetid sıradan (kineti) oluşmuştur (Şekil 1b-d, 1f, 1g, Çizelge 1). Sağ ve sol lateraldeki kinetiler oral açıklığın anteriyöründe karşı karşıya gelerek preoral süturu oluşturur (Şekil 1b, 1f). Post oral sil sırası 8-10 kadardır (Çizelge 1). Kortikal yapıdaki gümüş çizgilenmeler sistemi halkasal motifler ve granüller içeren ve dikdörtgenlerden oluşan ağısı biçimlidir (cucullus tip) (Şekil 1d, 1f, 1g).

3.2. *Colpoda magna* (Gruber, 1879) Lynn, 1978

Canlı hücreler ortalama 225×130 µm boyutlarında, somun ekmeğini andırır (Şekil 2a-c, 2i-k, Çizelge 2). Vestibüler açıklıktan başlayıp spiral şekilde posteriyöre doğru uzanan derin diyagonal arkta dolaylı hücre üç boğumdan oluşmuş gibi görünüme sahiptir (Şekil 2b, 2c, 2i-k). Posteriyör uçta yer alan son boğum (postoral kese) kontraktıl vakuölü içerir (Şekil 2j, 2k). Sitoplazma renksiz ve yoğun granüllü olup kontraktıl vakuölün çevresinde bulunan yağ vezikülleri ve kristal benzeri yapılardan dolayı küçük büyütmelelerde koyu kahve rengi görünüm arz eder. Ayrıca sitoplazma içerisinde çeşitli büyüklüklerde, küresel biçimli, içerisinde sindirilmekte olan bakteri, alg ya da küçük protozoonların bulunduğu besin vakuölleri bulunur (Şekil 2a-c, 2i).

Postoral kese içerisinde terminal olarak konumlanmış tek kontraktıl vakuöl 10-15 kadar toplama kanalına sahiptir (Şekil 2a, 2j, 2k). Toplama kanallarının bazıları anteriyör uca kadar ulaşır ve tek boşaltım açıklığı ile posteriyör kutuptan dışarı açılır.

Vestibüler açıklık ekvatorial düzlemin hafifçe anteriyöründe konumlandır (Şekil 2b-d, 2f, 2i). Vestibüler çöküntünün içerisinde yerleşmiş olan sağ ve sol oral polikinetidler birbirlerine paralel olarak konumlanmış olup, bu polikinetidler hücrenin ana eksenine paralel olarak orijinlenip ventrale doğru kıvrılarak iki hilal yapısı oluştururlar (Şekil 2d, 2g, 2l). Sol oral polikinetid yaklaşık 65 kinetiden oluşur. Sağ oral polikinetid düzenli kineti yapısı oluşturmaz ve sol oral polikinetiden daha uzundur.

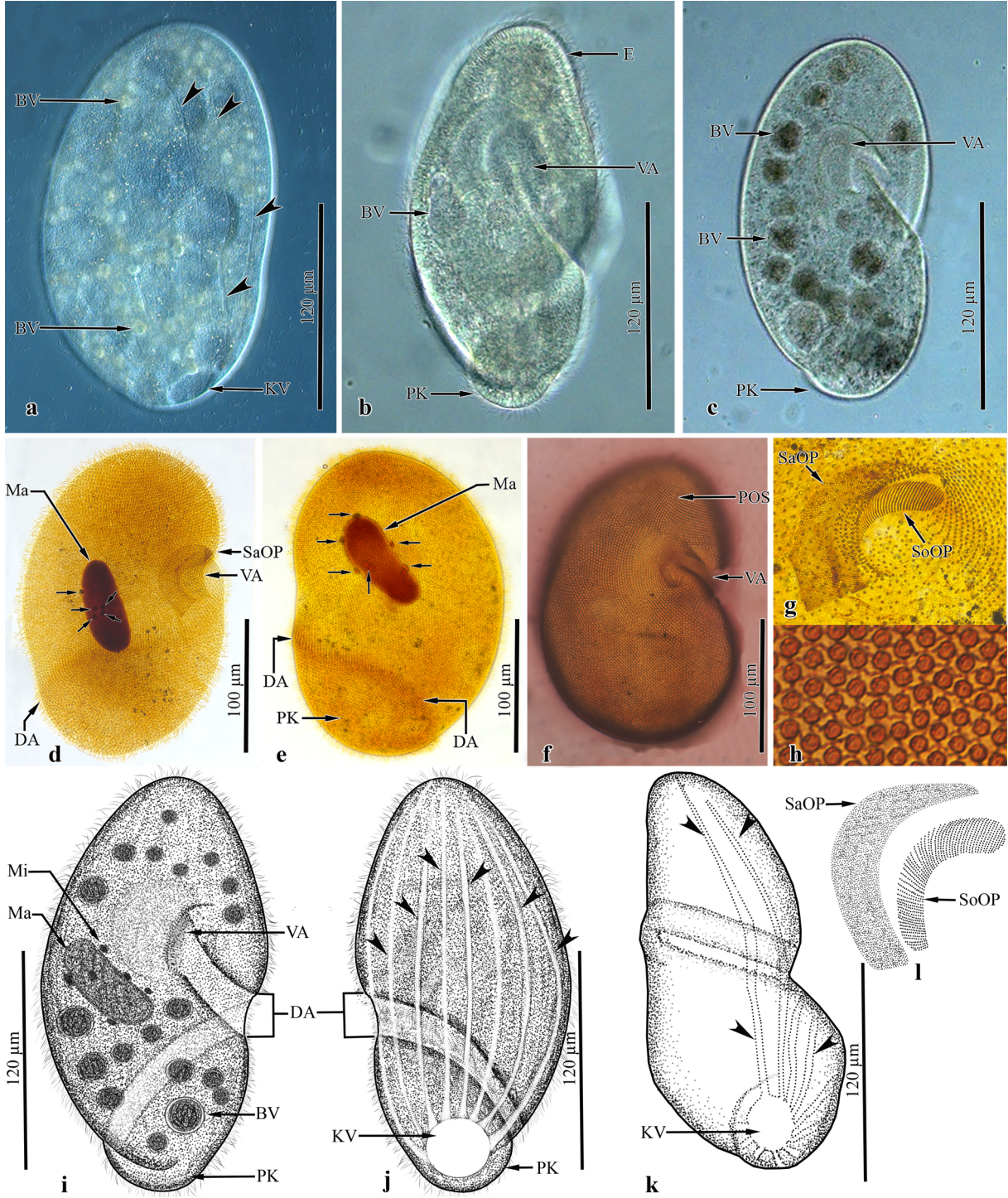
Makronükleus uzunca oval biçimli olup hücrenin ortasında dorsale yakın konumlandır. Oval ya da küresel biçimli olan mikronükleuslar makronükleusa yakın konumlu olup sayılarının 4-9 arasında değiştiği görülmüştür (Şekil 2d, 2e, 2i).

Somatik siller 10 µm uzunluğunda olup dikinetid şeklinde düzenlenmiş ortalama 100 kineti oluşturur (Şekil 2d-f, Çizelge 2). Kinetiler önceki türlerde olduğu gibi vücut eksenine spiral olarak düzenlenmiştir. Gümüş çizgiler sistemi cucullus tiptedir (Şekil 2h).

Çizelge 2. *Colpoda magna*'nın morfometrik özellikleri

Karakterler	\bar{x}	Max	Min	M	VK	N
Hücre uzunluğu*, µm	225.28	301.00	117.00	221.50	19.05	50
	188.71	237.50	137.50	187.50	11.48	97
Hücre genişliği*, µm	131.54	199.00	67.00	129.00	20.79	50
	110.75	150.00	55.00	110.00	15.48	97
Hücre genişliği/Hücre uzunluğu*, %	58.32	66.11	46.18	58.02	6.17	50
	58.57	73.68	37.93	58.67	8.88	97
Vestibüler açıklığın apeksten uzaklığı, µm	93.70	105.00	97.00	68.00	12.22	10
Makronükleus uzunluğu, µm	61.64	102.00	41.00	60.00	20.30	22
Makronükleus genişliği, µm	25.64	34.00	12.00	25.00	18.86	22
Makronükleus uzunluğu /makronükleus genişliği	2.46	4.25	1.64	2.37	22.61	22
Mikronükleus sayısı	6.26	9.00	4.00	6.00	20.50	19
Sağ lateral somatik kineti sayısı	54.00	73.00	42.00	50.00	21.73	7
Sol lateral somatik kineti sayısı	46.38	56.00	32.00	47.00	17.28	13
Sol oral polikinetideki sil sırası sayısı	65.00	70.00	58.00	65.00	7.05	5

* Üst satır verileri canlı hücrelerden, al satır verileri gümüş impregnasyonu preparasyonlardan elde edilmiştir.

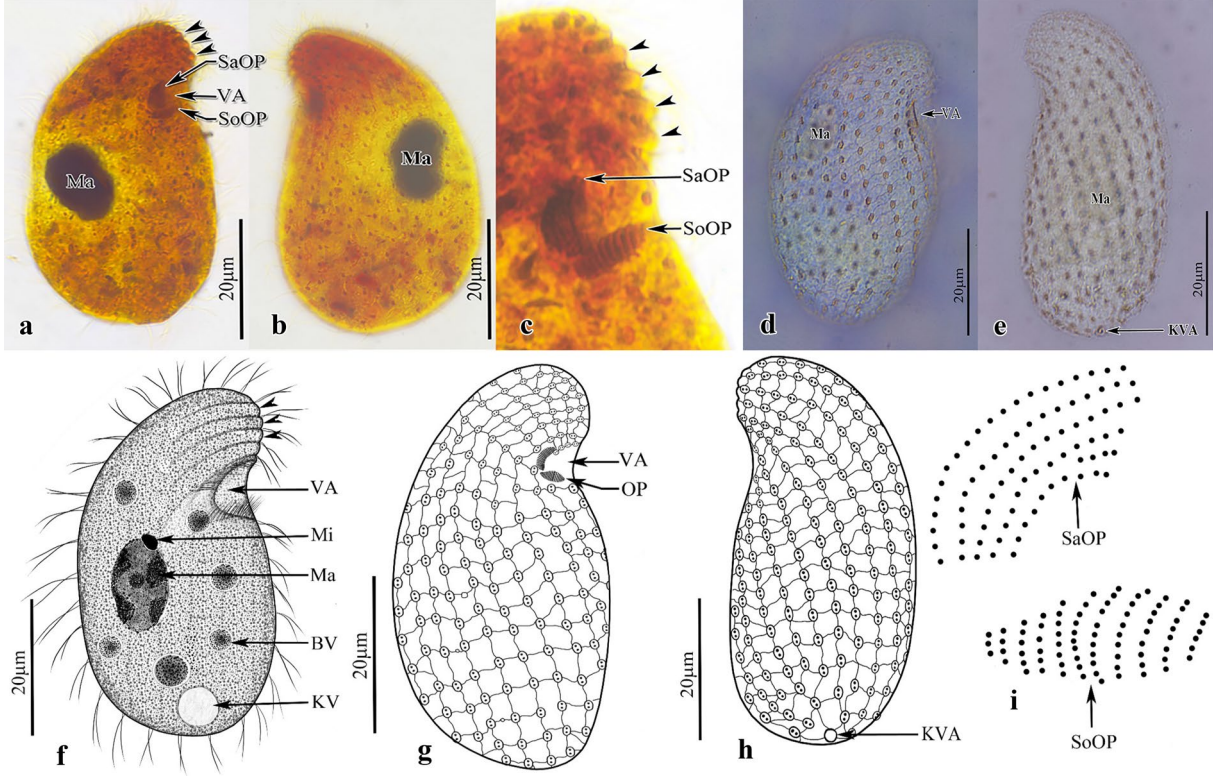


Şekil 2. *Colpoda magna*'nın fotoğraf (a-h) ve çizimleri (i-l). a-c: sağ lateral canlı; d, f: sağ lateral silyatürü; e: sol lateral silyatürü; g: oral silyatür; h: gümüş çizgiler sistemi; i-k: sağ ve sol lateral; l: oral polikinetid. BV: besin vakuölü; DA: diyagonal ark; KV: kontraktıl vakuöl; Ma: makronükleus; Mi: mikronükleus; PK: postoral kese; POS: preoral suture; SaOP: sağ oral polikinetid; SoOP sol oral polikinetid; VA: vestibüler açıklık; Şekil 2d ve 2e'deki oklar: mikronükleuslar; Şekil 2a, 2j ve 2k'daki ok başları: kontraktıl vakuöl toplama kanalları.

3.3. *Colpoda maupasi* Enriques, 1908

Canlı hücreler ortalama $52 \times 28 \mu\text{m}$ boyutlarında, sağ ve sol lateralden bakıldığında anteriyör ucu hafifçe sivrilmiş fasulye biçimlidir (Şekil 3a, 3b, 3d-h, Çizelge 3). Oral aparey anteriyör yarımında olup

preoral kısım postoral kısma göre çok daha kısadır. Preoral kısımda 4-6 yivli ve çıkıntılı omurga yapısı bulunur (Şekil 3a, 3c, 3f). Dorsal yüzey konveks, ventral yüzey hemen hemen düzdür (Şekil 3a, 3b, 3d-h). Lateral olarak 1:2 oranında yassılaştırmıştır. Sitoplazma renksiz, kontraktıl vakuole yakın bölgede çubuk biçimli kristal yapılar mevcuttur. Sitoplazmada seyrek olarak dağılmış besin vakuolleri küresel biçimli olup hücrenin orta kısımlarına yakın konumdadır (Şekil 3f). Veziküler yapıdaki tek kontraktıl vakuol terminal olarak konumlanmış olup bir boşaltım açıklığı ile posteriyör uçtan dışarı açılır (Şekil 3f, 3h).



Şekil 3. *Colpoda maupasi*'nin fotoğraf (a-e) ve çizimleri (f-i). a, b: sağ ve sol lateral siliyatürü; c: oral siliyatür ve omurga yapısı; d, e: sağ ve sol lateral gümüş çizgiler sistemi. f: canlı hücre çizimi; g, h: sağ ve sol lateral siliyatür çizimi; i: oral polikinetid organizasyonu. BV: besin vakuölü; KV: kontraktıl vakuol; Ma: makronükleus; Mi: mikronükleus; OP: oral polikinetid; SaOP: sağ oral polikinetid; SoOP: sol oral polikinetid; VA: vestibüler açıklık; ok başları: yivli omurga yapısı.

Vestibüler açıklık anteriyör yarımda olup apekse (anteriyör uca) olan uzaklığı hücre uzunluğunun ortalama %26'sı kadardır. Oral polikinetidlerden orijinlenen sillerin vestibülümün dışına sarkması ile dikkat çeker. Sağ ve sol oral polikinetidler birbirleri ile yaklaşık 60° açı yapacak şekilde konumlanmıştır. Sol oral polikinetid hücrenin uzun eksenine dik olarak konumlanmıştır. Sol oral polikinetid oval ya da mekik biçimli 8-12 kinetozom sırasından, sağ oral polikinetid ise hilal biçimli, 5-6 düzensiz kinetozom sırasından oluşur (Şekil 3i).

Makronükleus oval ya da küresel biçimli olup merkezi olarak konumlanmıştır Şekil 3a, 3b, 3c, 3f). Oval biçimli tek mikronükleus, makronükleusun hafifçe girintisi içindedir (Şekil 3f). Somatik siller ve hücre yüzeyindeki organizasyonu önceki türe benzerdir. Gümüş çizgiler sistemi dikdörtgenler şeklinde, aspera tiptedir (Şekil 3g, 3h).

Çizelge 3. *Colpoda maupasi*' nin morfometrik özellikleri*

Karakterler	\bar{X}	Max	Min	SS	VK	N
Hücre uzunluğu, μm	51.59	64.00	35.00	7.09	13.75	51
Hücre genişliği, μm	27.10	38.00	16.00	5.13	18.94	51
Hücre genişliği/hücre uzunluğu, %	52.57	69.56	33.33	7.03	13.38	51
Vestibüler açıklığın apeksten uzaklığı, μm	13.37	22.00	8.00	2.39	17.86	38
Makronükleus uzunluğu, μm	10.35	16.00	7.00	1.74	16.80	49
Makronükleus genişliği, μm	7.65	12.00	4.00	1.58	20.73	48
Makronükleus uzunluğu /makronükleus genişliği	1.39	2.60	1.00	0.33	23.36	48
Mikronükleus uzunluğu, μm	2.00	3.00	1.00	0.50	25.00	9
Mikronükleus genişliği, μm	1.17	2.00	1.00	0.35	30.30	9
Sağ lateral somatik kineti sayısı	8.73	11.00	7.00	1.03	11.83	15
Sol lateral somatik kineti sayısı	8.88	10.00	8.00	0.64	7.22	8
Sağ oral polikinetid uzunluğu	5.30	7.00	4.00	0.82	15.53	10
Sol oral polikinetid uzunluğu	4.44	5.00	4.00	0.53	11.86	9
Sol oral polikinetideki sil sırası sayısı	8.86	11.00	7.00	1.35	15.19	7

*Ölçüm ve sayımlar gümüş impregnasyonu preparasyonlarından elde edilmiştir.

3.4. *Colpoda* sp.

Canlı hücreler yaklaşık $60 \times 40 \mu\text{m}$ büyüklüğünde, sağ ve sol lateralinden bakıldığında böbrek biçimli dış hatlara sahiptir (Şekil 4a, 4e, Çizelge 4). Postoral kısım, preoralden hafifçe daha geniştir. Preoral kısım ventralde 7-8 yiv (omurga yapısı) taşır (Şekil 4e). Hücre yüzeyinin sağ laterali konveks, sol laterali ise hemen hemen düzdür olup canlı bireyler 1:2 oranında lateral olarak yassılaştırmıştır. Vestibüler açıklığın sol kenarından derin olarak başlayan diyagonal ark, posteriyöre doğru sığlaşarak hücrenin son 2/3'lük kısmında kaybolur (Şekil 4c, 4g). Renksiz olan sitoplazma yoğun besin vakuollerinden dolayı küçük büyütme incelemelerde koyu görünüm sergiler (Şekil 4e). Terminal olarak konumlanmış veziküller yapıda tek kontraktıl vakuole sahiptir (Şekil 4a, 4e).

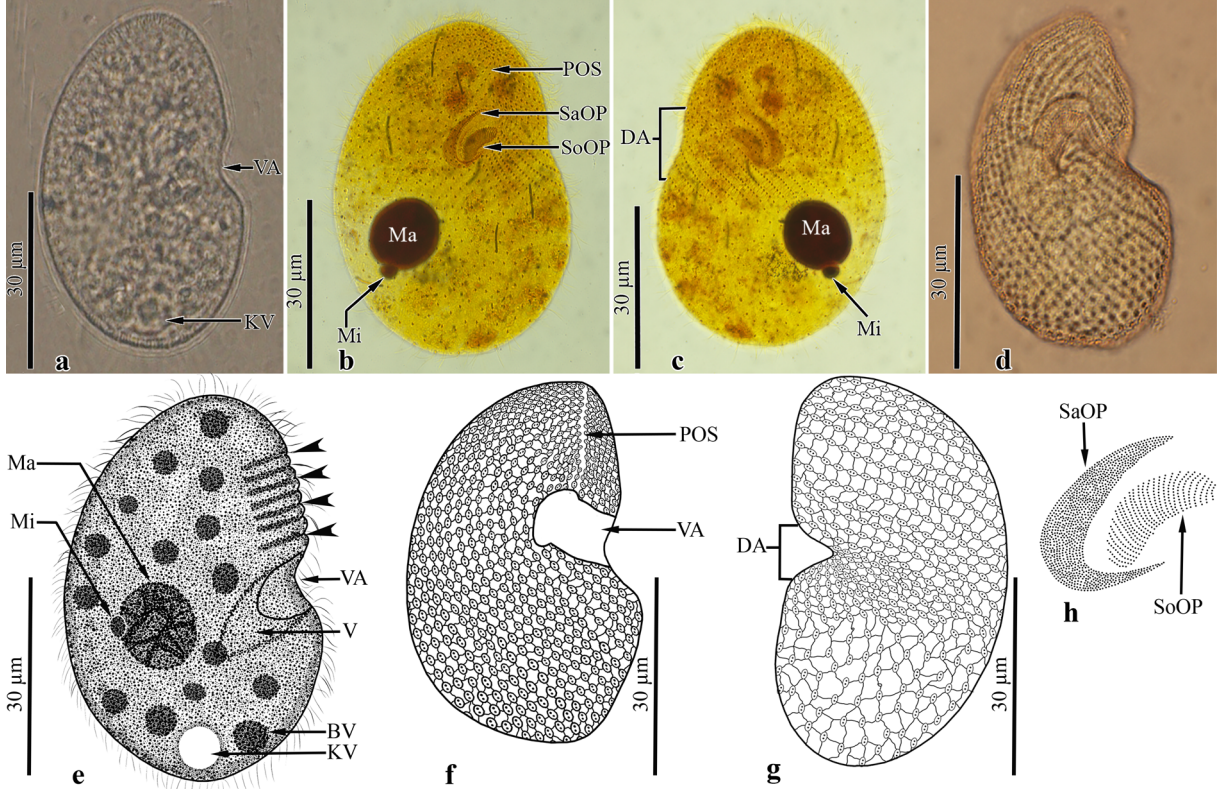
Çizelge 4. *Colpoda* sp.'nin morfometrik özellikleri

Karakterler	\bar{X}	Max	Min	M	VK	N
Hücre uzunluğu*, μm	58.07	72.00	48.00	57.00	9.29	65
	56.33	72.00	45.00	56.00	11.97	76
Hücre genişliği*, μm	37.17	49.00	29.00	37.00	12.08	65
	33.86	48.00	23.00	34.00	14.57	76
Hücre genişliği/hücre uzunluğu, %	64.07	78.57	52.63	64.28	9.16	65
	60.14	72.91	40.35	60.38	8.97	76
Vestibüler açıklığın apeksten uzaklığı, μm	26.03	38.00	21.00	26.00	12.26	67
Makronükleus uzunluğu, μm	11.22	15.00	9.00	11.00	11.39	23
Makronükleus genişliği, μm	8.09	12.00	6.00	8.00	21.06	23
Makronükleus uzunluğu /makronükleus genişliği	1.43	1.83	1.00	1.43	18.09	23
Mikronükleus uzunluğu, μm	3.29	5.00	2.00	3.00	28.95	7
Mikronükleus genişliği, μm	2.29	5.00	1.00	2.00	7.16	7
Sağ lateral somatik kineti sayısı	15.97	19.00	12.00	17.00	12.47	34
Sol lateral somatik kineti sayısı	14.63	21.00	12.00	15.00	16.00	30
Sağ oral polikinetid uzunluğu	14.18	19.00	10.00	14.00	14.80	17
Sol oral polikinetid uzunluğu	12.28	15.00	10.00	12.00	12.74	18
Sol oral polikinetideki sil sırası sayısı	25.86	28.00	24.00	26.00	5.20	7

* Üst satır verileri canlı hücrelerden, al satır verileri gümüş impregnasyonu preparasyonlardan elde edilmiştir.

Oral aparey ekvatorial düzlem üzerindedir (Şekil 4a, 4b, 4e, 4f). Birbirlerine paralel olan oral polikinetidler hücrenin ana eksenine 45° açı yapacak biçimde konumlanır. Hafif olarak kıvrılmış olan sol oral polikinetid 26-28 kinetozom sırasından oluşmuştur. Sağ oral polikinetid hilal biçimli, düzensiz kinetozom topluluğu şeklindedir (Şekil 4b, 4h). Ekvatorial düzlemin hafifçe posteriyöründe, dorsale yakın konumlu, küresel veya hafifçe oval biçimli tek makronükleusa sahiptir. Mikronükleus, küresel biçimli ve makronükleusa yakın veya makronükleus girinti içinde yer alır (Şekil 4b, 4c, 4e).

Somatik siller 6-7 μm uzunluğunda, dikinetid olarak organize olmuş ve 15-16 sil sırası (kineti) oluşturur (Çizelge 4). Somatik siliyatür genel organizasyon bakımından *Colpoda lucida* popülasyonu ile benzerdir. Gümüş çizgiler sistemi cucullus tiptedir (Şekil 4d, 4f, 4g).



Şekil 4. *Colpoda* sp.'nin fotoğraf (a-d) ve çizimleri (e-h). a: sağ lateral canlı; b-d: sağ ve sol lateral siliyatürleri; e: sağ lateral canlı; f, g: sağ ve sol lateral siliyatüre; h: oral polikinetidler. VA: vestibüler açıklık; KV: kontraktıl vakuol; POS: preoral sütür; SaOP: sağ oral plikinetid; SoOP: sol oral polikinetid; Ma: makronükleus; Mi: mikronükleus; DA: diyagonal ark; BV: besin vakuölü; ok başları: yivli omurga yapısı.

3.5. Moleküler bulgular

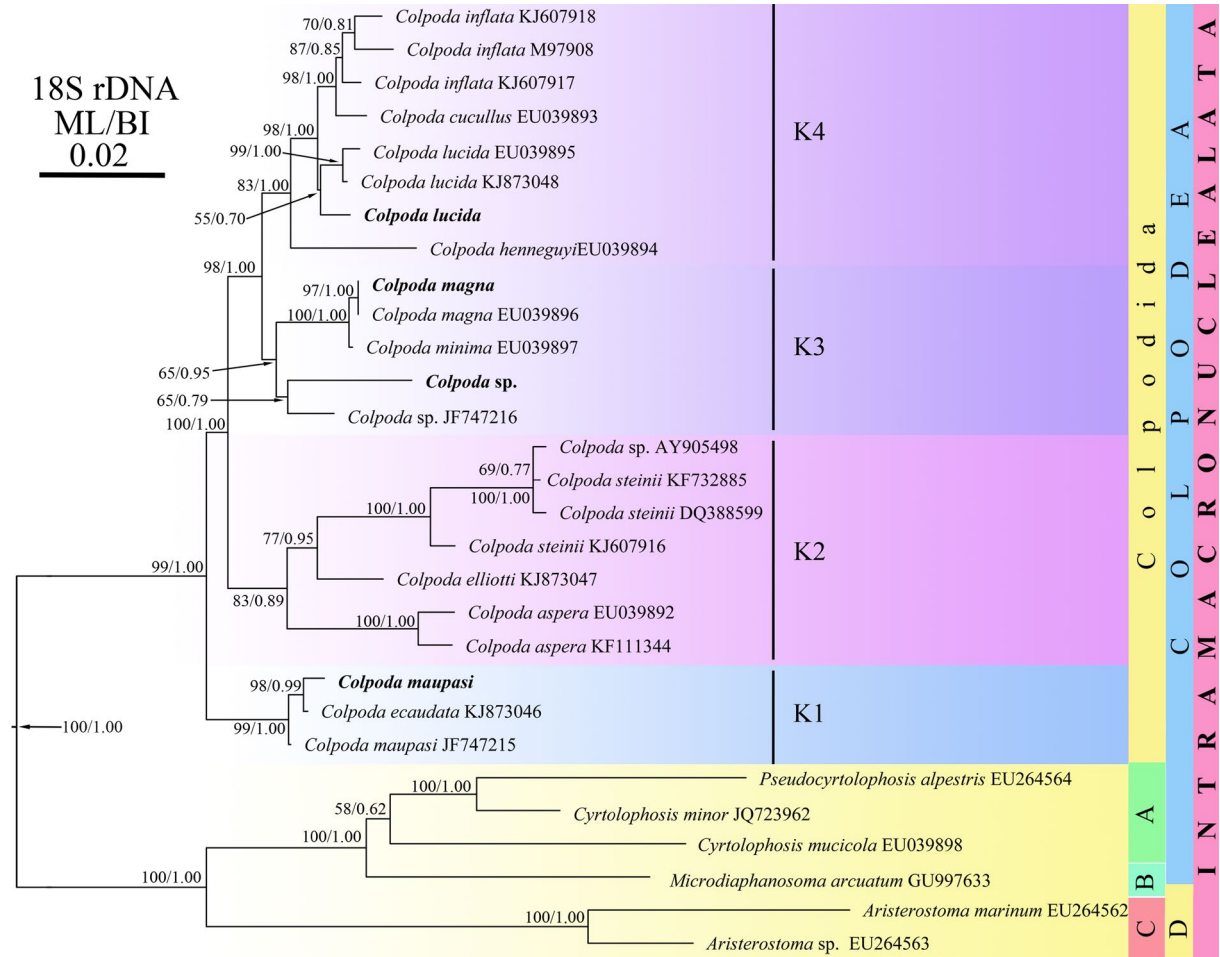
Her iki algoritma ile (ML ve BI) üretilen filogenetik ağaçlar topolojik olarak birbirine çok benzer olduklarından filogenetik analiz sonuçları ML ağacı üzerinde BI düğüm (nod) değerleri gösterilerek sunulmuştur (Şekil 5). *Colpoda* cinsi üyeleri ile dış grup olarak kullanılan *Cryptolophosidida* (A), *Bryometopida* (B) ve *Scuticociliatia* (C) takımı üyelerinin ayrımı her iki algoritma ile tam olarak desteklendi (ML/BI=100/1.00). *Colpoda* cinsi 4 ana küme (klad) oluşturmuştur (K1-K4). K1 kümesi cinsin bazal pozisyonunda olup, ayrımı her iki algoritma ile çok güçlü/tam olarak desteklenmiştir (ML/BI=99/1.00). Diğer kümelerin (K2-K4) ayrımları da tam ya da güçlü olarak desteklendikleri görülmektedir.

Bu çalışmada izole edilen *Colpoda maupasi* K1 kümesi içerisinde *C. ecaudata* (KJ873046) ve *C. maupasi* (JF747215) ile birlikte konumlanmış olmakla birlikte *C. maupasi*'den (JF747215) ziyade *C. ecaudata*'ya (KJ873046) daha yakın konumlanmış olması dikkat çekicidir. Bu çalışmada elde edilen *C. maupasi* ile *C. ecaudata* (KJ873046) ayrımı her iki algoritma ile güçlü bir şekilde desteklenmiştir (ML/BI=98/0.99).

Van topraklarından izole edilen ve herhangi bir türe dahil edilemeyen ve *Colpoda* sp. olarak bildirilen popülasyon ile yine bu çalışmada elde edilen *Colpoda magna* popülasyonu filogenetik ağaçta K3 kümesi içerisinde konumlanmıştır. Mevcut *Colpoda* sp. popülasyonu daha önce bildirilmiş *Colpoda* sp. (JF747216) ile orta derecede bir destek ile (ML/BI=65/0.79) kardeş pozisyonunda ve oldukça uzun kol uzunluğu ile kümelendirilmiştir. *C. magna* popülasyonumuz ise K3 kümesi içerisinde *C. magna* ile (EU039896) kardeş pozisyonunda ve her iki algoritma ile çok güçlü (ML/BI=97/1.00) desteklenmiştir. *C.*

minima (EU039897) ise *C. magna* popülasyonları ile kardeş ve onların bazal pozisyonlarında konumlanmış olup tam olarak (ML/BI=100/1.00) desteklenmiştir.

Bu çalışma ile elde edilen diğer bir popülasyon olan *Colpoda lucida*, K4 kümesi içerisinde *C. lucida* (EU039895 ve KJ873048), *C. cucullus* (EU039893) ve *C. inflata* (KJ607917, M97908 ve KJ607918) ile birlikte konumlanmış olup küme içerisinde diğer *C. lucida* popülasyonlarına yakın konumlu ve onların bazal pozisyonundadır. Mevcut *C. lucida* popülasyonunun diğer *C. lucida* popülasyonlarından ayrımı orta derecede (ML/BI=55/0.70) desteklenmiştir.



Şekil 5. *Colpoda* cinsine ait 18S rDNA gen dizisine dayalı BI ve ML filogenetik ağacı. Bu çalışmada elde edilen popülasyonlar ağaç üzerinde koyu yazı ile gösterilmiştir. Kol ayrımlarındaki (nod) sayılar ML bootstrap ve BI posteriyör olasılık değerlerini göstermektedir. Ölçek, her 100 baz pozisyonundaki 2 substitüsyon değerini göstermektedir. A= Cyrtolophosidida; B= Bryometopida; C= Scuticociliatia; D= Oligohymenophorea.

4. Tartışma ve Sonuç

İncelenen toprak kültürlerinde *Colpoda lucida*, *Colpoda magna*, *Colpoda maupasi* ve *Colpoda* sp. olmak üzere 4 kolpodit siliyat türü belirlenmiştir. *C. lucida*, *C. maupasi*, ve *C. magna* morfolojik olarak daha önce tanımlanmış popülasyonlar ile büyük ölçüde benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir (Hofmann-Munz, 1991; Foissner, 1993; Díaz ve ark., 2003; Çınar, 2011; Kaya & Şenler, 2012). İzole ettiğimiz bir diğer popülasyon ise morfolojik özellikleri bakımından daha önce tanımlanmış hiçbir türe dahil edilemediğinden *Colpoda* sp. olarak bildirilmiştir.

Ülkemiz siliyat faunası için ilk kayıt olan *C. lucida* üzerinde yapılmış morfolojik veri içeren çalışma oldukça azdır. Bu yüzden mevcut morfolojik bulgular sadece Foissner (1993) ile Kim & Min (2015)'in bildirdikleri popülasyonlar ile karşılaştırılmıştır. *C. lucida*'nın genel morfolojisi, somatik ve

oral siliyatür karakterleri bakımından önceki popülasyonlar ile benzer olmakla birlikte hücre boyutları açısından önceki tanımlamalardan biraz daha küçük olduğu tespit edilmiştir.

C. maupasi daha önce ülkemizde iki çalışmada rapor edilmiştir (Çınar, 2011; Kaya & Şenler, 2012). Genel morfolojisi, oral ve somatik siliyatür karakterleri bakımından önceki popülasyonlar ile benzerdir.

C. magna türü bu çalışma ile ülkemiz siliyat faunası için ilk kez kaydedilmiştir. Diğer pek çok kolpodit türünden çok daha büyük olması (120-300×65-200 µm) ile dikkat çeker. Genel morfolojisi, oral ve somatik siliyatür karakterleri bakımından önceki tanımlar ile uyumludur.

Bu çalışmada elde edilen gen dizilerinin de dahil edildiği filogenetik ağaçlarda *Colpoda* cinsi üyelerinin ortak kökenden tek soy hattı olarak farklılaşan monofiletik takson olduğunu ortaya koymaktadır (Şekil 5). Bu sonuçlar Vd'acny & Foissner (2019)'in bildirdikleri ile uyumludur. Bununla birlikte, cinsin parafiletik olduğunu gösteren çalışma da mevcuttur (Foissner ve ark., 2014).

Her iki algoritma (ML ve BI) ile elde edilen filogenetik ağaçta mevcut *C. lucida* popülasyonunun K4 kümesi içerisinde diğer *C. lucida* popülasyonları ile (EU039895 ve KJ873048) birlikte bir klad oluşturdukları ve onların bazal pozisyonunda dışarıdan bağlı olarak konumlandığı görülmüştür. Bu durum mevcut popülasyonun önceki popülasyonlardan genetik olarak farklı olduğunu ve diğer popülasyonlardan daha atasal konumda olduğuna işaret etmektedir. Foissner ve ark. (2014) *Colpoda* cinsine ait türlerin karasal ortamlarda çabuk yayılış göstermelerinden dolayı farklı habitatlarda yüksek farklılaşma potansiyeline sahip olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışmada izole edilen *C. lucida* popülasyonunun farklılaşma düzeyinin diğer iki popülasyondan oldukça fazla olması bu Foissner ve ark. (2014)'nın görüşlerini desteklemektedir.

C. magna izolatu filogenetik analizlerde Avusturya topraklarından izole edilmiş popülasyon ile K3 kümesi içerisinde *C. magna* (EU039886) ile oldukça yakın konumlanmış olup genetik farklılaşmanın oldukça az olduğu görülmüştür.

Morfolojik karakterleri bakımından daha önce tanımlanmış hiçbir popülasyona dahil edilemeyen *Copoda* sp. popülasyonu K3 kümesi içerisinde Foissner ve ark. (2011)'nin bildirdiği *Colpoda* sp. (JF747216) popülasyonu ile birlikte, onunla kardeş pozisyonda ve birbirlerinden genetik olarak oldukça uzak olarak konumlanmıştır. Bu sonuçlar her iki *Colpoda* sp. popülasyonunun da yeni tür olma potansiyelinin yüksek olduğu düşünülmekle birlikte mevcut morfolojik verilerimiz yeni tür tanımlamak için yeterli olmadığından *Colpoda* sp. olarak rapor edilmiştir.

Van topraklarından izole etmiş olduğumuz *C. maupasi* filogenetik ağaçlarda K1 kümesi içerisinde *C. eucaudata* (KJ873046) ile yakın ilişkili ve kardeş pozisyonda konumlanmış, türdeşi olan *C. maupasi* (JF747215) daha uzak pozisyonda olması dikkat çekicidir. Bu durum Foissner ve ark. (2014)'nin sonuçları ile uyumlu olmakla birlikte, *C. maupasi* ve *C. eucaudata* türlerinin ayırımında kullanılan morfolojik karakterlerin sorgulanması ve yeniden ele alınmasının gerekliliğine işaret etmektedir.

Filogenetik ağaçta (Şekil 5) *Colpoda* türlerinin dört ana soy hattından (K1-K4) çeşitlendikleri görülmektedir. Bu soy hatlarından K1, diğer soyların kaidesinde farklı filogenetik yolu izleyerek farklılaşmış oldukları görülmektedir. Bu durum bizlere, K1 kümesinin yeni oluşan bir soy hattı ve bu soy hattındaki bireylerin henüz yeni habitatlara yayılış için zaman bulamamışlar ya da bu soy hattı ile ilgili küresel ölçekte henüz yeterli veriye ulaşamamış olduğumuzu göstermektedir.

Colpoda cinsi içerisinde sınıflandırılan 200 kadar morfotürün olduğu bildirilmiş olmasına karşın bu türlerden sadece 23 tanesinin SSU rDNA (18S rDNA) gen dizisi kaydı bulunmaktadır. Bu durum cinsin filogenetik eşitlenmesinin anlaşılmasında sınırlayıcı bir etken olarak karşımıza çıkmaktadır. Küresel ölçekte farklı habitatlardan izole edilecek mevcut bilinen türler ile yeni tanımlanacak türlerin ayrıntılı morfolojik çalışmalar eşliğinde moleküler veriler elde edildikçe, bu organizmaların soy hatları ve çeşitlenmeleri daha iyi anlaşılacaktır.

Bu çalışma ile ülkemiz siliyat faunasına iki yeni siliyat türü (*C. lucida* ve *C. magna*) kaydedilmiştir. Ayrıca çalışmamız ülkemizde kolpodit siliyatlar üzerinde yapılan ilk moleküler filogenetik çalışmadır.

Kaynakça

Chen, L., Liu, Y., Long, Y., Lyu, J., Feng, C., Ning, Y., & Yi, Z. (2021). Morphology and molecular phylogeny of two new soil ciliates, *Hemiurosomoida warreni* nov. spec. and *Hemiurosoma*

- clampi* nov. spec. (Ciliophora, Hypotrichia) from Tibet. *European Journal of Protistology*, 77, 125746. doi:10.1016/j.ejop.2020.125746
- Çınar, H. (2011). *Van'daki ceviz ağacı (Juglans regia L.) kabuklarında bulunan kolpodit siliyat (Protista: Ciliophora: Colpodea) faunası*. (Yüksek Lisans tezi), Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van, Türkiye.
- Darriba, D., Taboada, G. L., Doallo, R., & Posada, D. (2012). jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*, 9, 772. doi:10.1038/nmeth.2109
- Díaz, S., Martín Gonzáles, A., Rico, D., & Gutiérrez, J. C. (2003). Morphogenesis of the division and encystment process of the ciliated protozoan *Colpoda minima*. *Journal of Natural History*, 37(20), 2395-2412. doi:10.1080/00222930210144325
- Foissner, W. (1993). *Colpodea (Ciliophora)*. New York, USA: Gustav Fischer Verlag.
- Foissner, W. (1999). Protist diversity: Estimates of the near-imponderable. *Protist*, 150(4), 363-368. doi:10.1016/S1434-4610(99)70037-4
- Foissner, W., Agatha, S., & Berger, H. (2002). Soil ciliates (Protozoa, Ciliophora) from Namibia (Southwest Africa), with emphasis on two contrasting environments, the Etosha Region and the Namib Desert. *Denisia*, 5, 1-1459.
- Foissner, W., & Xu, K. (2007). Monograph of the Spathidiida (Ciliophora, Haptoria) Vol. I: Protospathidiidae, Arcuospathidiidae, Apertospathulidae. *Monographiae Biologicae*, 81, 1-485.
- Foissner, W., Stoeck, T., Agatha, S., & Dunthorn, M. (2011). Intera-class evolution and classification of the Colpodea (Ciliophora). *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 58(5), 397-415. doi:10.1111/j.1550-7408.2011.00566.x
- Foissner, W. (2014). An update of basic light and scanning electron microscopic methods for taxonomic studies of ciliated protozoa. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 64, 271-292. doi:10.1099/ijs.0.057893-0
- Foissner, W., Bourland, W. A., Wolf, K. W., Stoeck, T., & Dunthorn, M. (2014). New SSU-rDNA sequences for eleven colpodeans (Ciliophora, Colpodea) and description of *Apocyrtolophosis* nov. gen. *European Journal of Protistology*, 50(1), 40-46. doi:10.1016/j.ejop.2013.09.003
- Göçmen, B. (2014). *Protozooloji (Ökaryotik Mikrobiyoloji)*. Ankara, Türkiye: Palme Yayıncılık.
- Gong, J., Kim, S. J., Kim, S. Y., Min, G. S., Roberts, D. M., Warren, A., & Choi, J. K. (2007). Taxonomic redescrptions of two ciliates, *Protogastrostyla pulchra* n. g., n. comb. and *Hemigastrostyla enigmatica* (Ciliophora: Spirotrichea, Stichotrichia), with phylogenetic analyses based on 18S and 28S rRNA gene sequences. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 54(6), 468-478. doi:10.1111/j.1550-7408.2007.00288.x
- Hoang, D. T., Chernomor, O., von Haeseler, A., Minh, B. Q., & Vinh, L. S. (2018). UFBoot2: improving the ultrafast bootstrap approximation. *Molecular Biology and Evolution*, 35(2), 518-522. doi:10.1093/molbev/msx281
- Hofmann-Munz, A. H. (1991). The oral apparatus of *Colpoda variabilis* (Ciliophora, Colpodidae): II. Ultrastructure of the oral ciliature and its implications on ciliate phylogeny. *European Journal of Protistology*, 26, 288-302. doi:10.1016/S0932-4739(11)80150-1
- Jang, S. W., Vd'acný, P., Shazib, S. U. A., & Shin, M. K. (2017). Linking morphology and molecules: integrative taxonomy of spathidiids (Protista: Ciliophora: Litostomatea) from Korea. *Journal of Natural History*, 51, 939-974. doi:10.1080/00222933.2017.1319520
- Kaya, Z., & Şenler, N. G. (2012). Van ili, Türkiye, topraklarında yaşayan bazı *Colpoda* türleri (Protista: Ciliophora: Colpodea) hakkında. *Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 28(3), 183-197.
- Kim, K. S., & Min, G. S. (2015). New record of three colpodean ciliates (Ciliophora: Colpodea) from Korea. *Korean Journal of Environmental Biology*, 33(4), 375-382. doi:10.11626/KJEB.2015.33.4.375
- Kumar, S., Stecher, G., & Tamura, K. (2016). MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 33(7), 1870-1874. doi:10.1093/molbev/msw054
- Li, J., Li, L., Wang, J., Zhu, E., & Shao, C. (2021). Morphology, morphogenesis and molecular phylogeny of a novel soil ciliate, *Afrokahliella paramacrostoma* n. sp. (Ciliophora, Hypotrichia). *European Journal of Protistology*, 77, 125748. doi:10.1016/j.ejop.2020.125748

- Lynn, D. H. (2008). *The Ciliated Protozoa: Characterization, Classification, and Guide to the Literature*. Dordrecht: Springer.
- Lynn, D. H., & Small, E. B. (2000). Phylum Ciliophora Doflein, 1901. In J. J. Lee, G. F. Leedale & P. Bradbury (Eds.), *The Illustrated Guide to the Protozoa* (pp. 371-656). Lawrence, Kansas, USA: Society of Protozoologists.
- Medlin, L., Elwood, H. J., Stickel, S., & Sogin, M. L. (1988). The characterization of enzymatically amplified eukaryotic 16S-like rRNA-coding regions. *Gene*, 71(2), 491-499. doi:10.1016/0378-1119(88)90066-2
- Nguyen, L. T., Schmidt, H. A., von Haeseler, A., & Minh, B. Q. (2015). IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 32(1), 268-274. doi:10.1093/molbev/msu300
- Posada, D. (2008). jModelTest: phylogenetic model averaging. *Molecular Biology and Evolution*, 25(7), 1253-1256. doi:10.1093/molbev/msn083
- Ronquist, F., Teslenko, M., van der Mark, P., Ayres, D. L., Darling, A., Höhna, S., ... & Huelsenbeck, J. P. (2012). MrBayes 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology*, 61(3), 539-542. doi:10.1093/sysbio/sys029
- Talavera, G., & Castresana, J. (2007). Improvement of phylogenies after removing divergent and ambiguously aligned blocks from protein sequence alignments. *Systematic Biology*, 56(4), 564-577. doi:10.1080/10635150701472164
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipinski, A., & Kumar, S. (2013). MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30(12), 2725-2729. doi:10.1093/molbev/mst197
- Vd'ačný, P., & Foissner, W. (2012). Monograph of the dileptids (Protista, Ciliophora, Rhynchostomatia). *Denisia*, 31, 1-529.
- Vd'acny, P., & Foissner, W. (2019). Re-analysis of the 18S rRNA gene phylogeny of the ciliate class Colpodea. *European Journal of Protistology*, 67, 89-105. doi:10.1016/j.ejop.2018.11.003
- Wang, J., Ma, J., Qi, S., & Shao, C. (2017). Morphology, morphogenesis and molecular phylogeny of a new soil ciliate *Paragonostomoides xianicum* n. sp. (Ciliophora, Hypotrichia, Gonostomatidae). *European Journal of Protistology*, 61, 233-243. doi:10.1016/j.ejop.2017.07.001
- Yıldız, İ. (2018). Morphology and phylogeny of *Apertospathula oktemae* n. sp. (Ciliophora, Haptoria, Spathidiida) from Lake Van, Turkey. *European Journal of Protistology*, 66, 1-8. doi:10.1016/j.ejop.2018.06.001
- Yıldız, İ. (2021). Morphology and phylogeny of a new soil ciliate, *Colpodidium zelihayildizae* n. sp. (Ciliophora, Nassophorea, Colpodidiidae), from Van, Turkey. *Turkish Journal of Zoology*, 45, 304-313. doi:10.3906/zoo-2101-20