



Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi 6 (2): 38-43, 2013

ISSN: 1308-0040, E-ISSN: 2146-0132, www.nobel.gen.tr

***Azolla* – *Anabaena* Ortaklığının Biyolojisi**

Taylan KÖSESAKAL*

İstanbul Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü Botanik Anabilim Dalı, 34134 Süleymaniye, İstanbul

***Sorumlu Yazar:**

E-posta: taylank@istanbul.edu.tr

Geliş Tarihi : 19 Ağustos 2012

Kabul Tarihi : 28 Eylül 2012

Özet

Tatlı su yüzeyinde yaşayan bir eğrelti olan *Azolla*, dorsal yaprak loblarında azot fikse eden, heterosist oluşturan kalıtsal ortağı *Anabaena azollae* isimli filamentli bir siyanobakteri içermektedir. *Azolla-Anabaena* arasındaki simbiyotik ilişki bitkinin biyogübre olarak kullanılması nedeniyle büyük önem taşımaktadır. Tarımda kullanımının yanısıra hayvan yeminde, biyogaz üretiminde, yabancı otların ve sivrisineklerin kontrolünde ve biyoremediasyon çalışmalarında kullanılmaktadır. Bu derlemede simbiyotik birlikteliğin morfolojisi, taksonomisi, yaşam döngüsü, *Azolla*'nın tarımda ve biyoteknolojide kullanımı hakkında genel bir bakış sunulmuştur.

Anahtar Sözcükler: *Azolla*, *Anabaena*, Simbiyozis, Azot fiksasyonu

Biology of the *Azolla-Anabaena* Symbiosis

Abstract

Azolla is a floating fern that floats in the freshwater which contains a permanent endosymbiotic community of a heterosist-forming filamentous nitrogen-fixing cyanobacteria *Anabaena azollae* living in the dorsal lobe cavity of the fronds. Symbiosis between *Azolla-Anabaena* is a great importance due to the use of plant as biofertilizer. Use in agriculture as well as animal feed, production of biogas, control of weeds and mosquitoes, and is also used in bioremediation studies. In this review presented an overview of the morphology of the symbiosis, taxonomy, life cycle and the use of *Azolla* in agriculture and biotechnology.

Key words: *Azolla*, *Anabaena*, Symbiosis, Nitrogen-fixation

GİRİŞ

Yunanca kökenli bir kelime olan *Azolla*, “azo” ve “olloyo” kelimelerinin birleşiminden oluşmuştur ve “kuraklıkla ölen” anlamı taşımaktadır [1,2]. Bitkinin susuzluğa karşı olan duyarlılığı da bunu doğrulamaktadır [3]. Sucul bir eğrelti olan *Azolla* simbiyotik ortağı siyanobakteri olan ve azot fikse eden *Anabaena azollae* ile birlikte yaşamaktadır. Bitki genellikle tropikal ve ılıman bölgelerde, göller, göletler, sulak alanlar, kanallar, piring

tarlaları ve yavaş akan nehirlerin yüzeyinde yüzer halde bulunmaktadır. Bu simbiyotik ilişki azotlu kimyasal gübreler ve hayvan beslenmesinde alternatif olarak kullanım potansiyelinden dolayı son dönemlerde oldukça önem kazanmaktadır. Bu derlemede, simbiyotik birlikteliğin morfolojisi, taksonomisi, yaşam döngüsü, tarımda ve biyoteknolojide kullanımı hakkında genel bir bakış sunulmuştur.

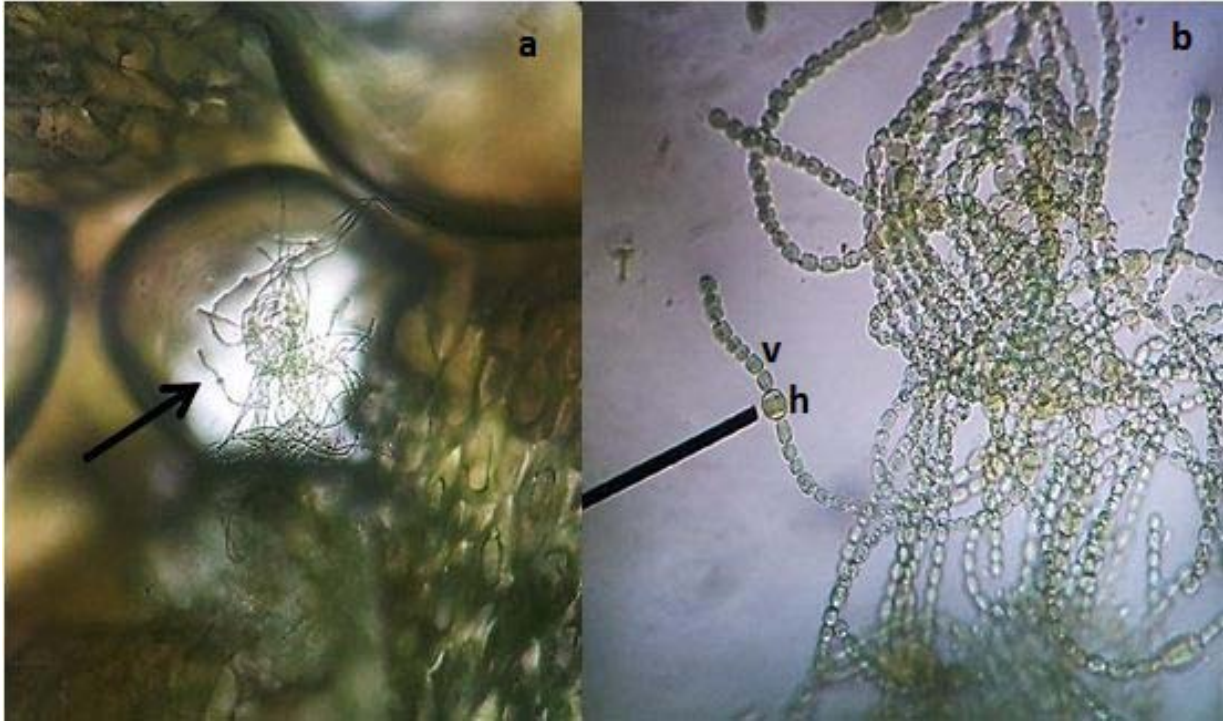
Morfoloji, Taksonomi ve Yayılışı

Su yüzeyinde yüzen bir bitki olan *Azolla*'nın boyu nadiren 3-4 cm'yi aşmaktadır (*A. nilotica* hariç, 15 cm ve üzerinde büyüyebilir). Gövde küçük alternat ve imbrikat yapraklarla (frond) kaplanmış ve gizlenmiştir. Adventif kökler gövdenin alt tarafından oluşur ve su içinde dikey olarak gelişim gösterir. Herbir yaprak iki lobludur. Alt lob klorofil içermez ve bitkinin yüzmesinden sorumludur, klorofil içeren üst lob ise dış ortamla olan ilişkiyi sağlayan sofistike bir açıklık geliştirmiştir ve *A. azollae* bu porlarda

simbiyotik olarak yaşamaktadır. *Azolla* klorofil a, b ve karotenoidleri içerirken endofitik *Anabaena* klorofil a, fikobilinler, fikosiyenin, allokikosiyenin ve karotenoidleri içerir [4,5]. *Azolla* türlerinin optimum büyüme sıcaklığı 18-28 °C arasında iken bazı türler -5°C ile 35°C arasındaki geniş sıcaklık değerlerinde hayatlarını sürdürebilmektedir. Uygun fotoperiyot süresi 20 saat olarak tahmin edilmektedir [6]. Yeşil olan yaprakları yüksek ışık, düşük sıcaklık ve olumsuz çevresel koşullarda antosiyenin sentezinin teşvik edilmesiyle kırmızıya dönmektedir (Şekil 1).



Şekil 1. Yeşil ve kırmızı yapraklarıyla *Azolla filiculoides*.



Şekil 2. *Azolla* nın dorsal yaprak lobunda (a) bulunan simbiyotik ortak *Anabaena azollae* (b) (v;vejetatif hücre, h; heterosist).

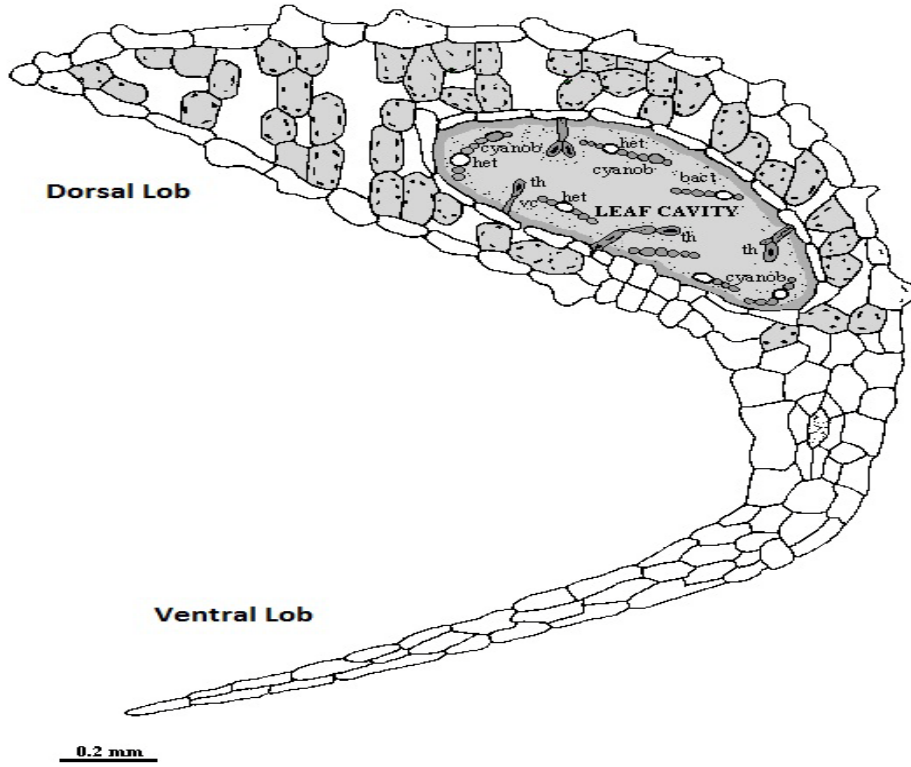
A. azollae vejetatif hücre, heterosist ve akinet olmak üzere üç çeşit hücreye sahiptir. Heterosist azot fiksasyonunun yapıldığı yerdir ve simbiyotik ortak *A. azollae* da yaklaşık olarak 2 heterosist hücresi arasında 3-5 vejetatif hücre yer alırken, serbest yaşayan *A. azollae* da bu mesafe 15-30 vejetatif hücreye kadar çıkmaktadır. *A. azollae* dallanmamış trikomlardan oluşmaktadır (Şekil 2). Çok genç yapraklarda bulunan siyanobakterilerin trikomları heterosist yapısından yoksundur. Yaprak olgunlaşınca *Anabaena* sayısını ve heterosist sıklığını artırır ve böylece simbiyotik olarak atmosferik azot fiksasyonunu gerçekleştirir. Yaprakların olgunlaşmasıyla birlikte %30 un üzerinde *Anabaena* hücresi heterosistlere farklılaşmaktadır. Akinetler ise bitkinin generatif üremesi süresince simbiyotik ilişkinin sürdürülmesinde rol oynamaktadır [7,8].

Azollaceae familyasına ait ve dünya genelinde yedi ayrı türe sahip olan *Azolla*, *Rhizosperma* ve *Azolla* olmak üzere iki seksiyona ayrılır. *Rhizosperma* seksiyonu, *Azolla nilotica* (batı Afrika, Nil havzası) ve genellikle iki varyete ile bilinen *A. pinnata*; *A. pinnata* var. *pinnata* (Afrika, Madagaskar, Avustralya) ve *A. pinnata* var. *imbricata* (subtropikal ve tropikal Asya) olmak üzere iki türle temsil edilmektedir. *Azolla* seksiyonu ise *A. caroliniana* (doğu, orta ve güney ABD, batı Avrupa), *A. mexicana* (ABD nin batı kıyılarından Meksika ve orta Amerika), *A. microphylla* (Amerika kıtasının tropik ve subtropik bölgeleri), *A. filiculoides* (Alaska'dan güney Amerika'ya, güney Afrika, batı Avrupa, güney Avustralya, Yeni Zelanda, uzakdoğu) ve *A. rubra* (uzakdoğu, güney Yeni Zelanda) olmak üzere beş türle temsil edilir [3,9].

Azolla, siyanobakteri ve bakteriler arasındaki simbiyotik ilişkinin yaşam döngüsü boyunca sürdüğü bir ilişkiye sahiptir. Taksonomik olarak *Azolla* siyanobiyanti *Anabaena*, Cyanophyta Filumu, Nostocales Ordosu, Nostocaceae Familyasına yerleştirilir. İlk *Nostoc* olarak tanımlanmış ve sonra *Anabaena azollae* adını almıştır [5].

***Azolla-Anabaena* Simbiyozisi**

Azollaceae familyasına ait bir tatlı su eğreltisi olan *Azolla* sürekli ve kalıtsal ortağı, *Anabaena azollae* ile simbiyotik olarak yaşamaktadır. *A. azollae* heterosist yapısına sahip filamentli bir siyanobakteridir ve havadaki serbest azotu fikse edebilir. Ayrıca *Azolla*'nın yaprak kavitesinde ve yaprak yüzeyinde çeşitli heterotrofik bakteriler de bulunmaktadır (Şekil 3) [10,11,12]. *Anabaena* ve bakterilerin eğreltinin yaşam döngüsü boyunca varlığı her iki ortağın paralel bir filogenetik evrim geçirdiği ve bunun başarılı bir ko-evrim sistemi olarak düşünülebileceğini önermektedir [13]. Siyanobakteri tarafından serbest bırakılan NH₃ bitki tarafından alınırken bitki de siyanobakteriye yaprak kavitesine bıraktığı sukrozu sağlar. *Azolla*'nın yaprak kavitesinde tüyler de bulunmaktadır. Yaprak kavitesi eğreltinin vaskular sistemi ile direkt olarak bağlantılı olmadığı için trikomlar aracılığıyla eğreltiden siyanobakteriye ve siyanobakteriden de bitkiye metabolitlerin alınımı ve taşınması sağlanmaktadır [14,15]. Yalın tüylerin vakuollerinde polisakkaritler, polifenoller, alkaloid ya da alkaloid benzeri bileşikler, doymamış yağlar ve lipid karışımları saptanmıştır [16].



Şekil 3. Enine kesitte *Azolla* yaprağı [17] (th – transfer tüyü; cyanob – siyanobakteri, bact – bakteri; het – heterosist; vc – vegetatif hücre).

Azolla'nın Üremesi ve Simbiyotik İlişkinin Devamlılığı

Azolla genellikle vegetatif olarak her bir yaprakçığın tabanındaki absiyon tabakasının bölünmesi ile çoğalmaktadır. Eşyılı üremesi oldukça karmaşıktır ve çoğunlukla olumsuz çevresel koşullar altında meydana gelmektedir (Şekil 4). Bitki, alt yaprak lobunda mega- ve mikrosporokarp olarak adlandırılan yapıları üretir. Bu yapılar kapşon benzeri, “involucre” adı verilen ve üst lob tarafından üretilen kılıfla korunmaktadır. Her sporokarp ya tek megasporangium veya yaklaşık 100 mikrosporangium içeren iki katmanlı indüsyumdan oluşmaktadır. Sporokarpların oluşumu sırasında birkaç tane *A. azollae* hücresi indüsyum altında kalarak akinetlere farklılaşmaktadır. Megasporangium tek bir megaspor olarak farklılaşmaktadır. Mikrosporangium 32 veya 64 mikrospor üretmektedir. Mikrosporangiyal içerik olgunlaşma ile birlikte “massulea” adı verilen üç veya dört (bazen daha fazla) süngerimsi parçaya ayrışmaktadır. Massulae filamentli oksu olmayan ya da oksu gloşidlerle kaplanmıştır. Su içerisinde serbest haldeki massulae megasporun yüzeyine gloşidleri aracılığıyla bağlanmaktadır. Mikrosporlar spermatozoidlerin üretildiği protal haline dönüştükleri massulea içerisinde çimlenmektedir. Diğer taraftan megaspor ise megasporokarp içerisinde çimlenir ve bunun sonucunda protallus arkegoniayı üretir. Spermatozoidler henüz bilinmeyen bir yolla yumurtayı döller. Embriyo büyümeye başlar ve indüsyumdan dışarı çıkar. Bu aşamada embriyonun apeksi indüsyum altında korunan akinetlerle

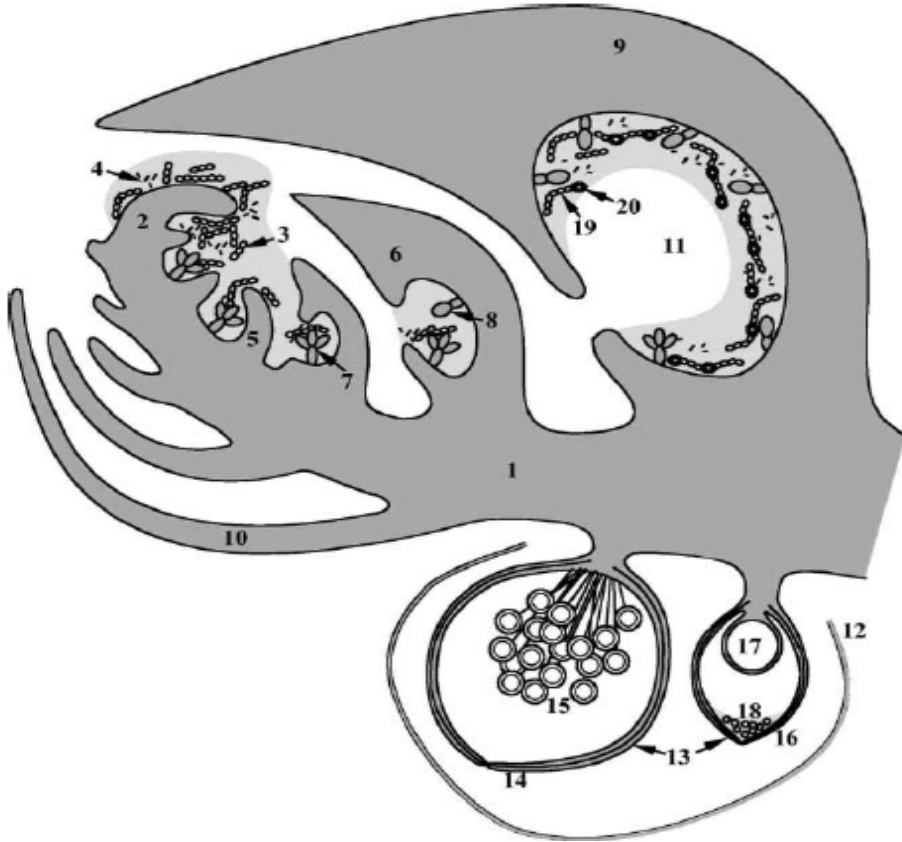
temasa geçer ve bazı akinetlerin apekse yapışarak çimlenmeleri sonucunda *A. azollae* kolonileri oluşturulur [9] (Şekil 5).

Tarımda ve Biyoteknolojide *Azolla*

Tatlı su eğreltisi olan *Azolla* gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerin tarımsal aktiviteleri için büyük önem taşımaktadır. *Azolla* – *A. azollae* simbiyozisi ökaryotik partner *Azolla* ve prokaryotik endosimbiyant *A. azollae* arasındaki tek simbiyotik ilişkidir. Bu ilişkinin agronomik potansiyeli bitkinin azot bakımından düşük ya da yoksun alanlarda başarılı bir şekilde yetişmesinden kaynaklanmaktadır [5]. Dorsal yaprak boşluklarında yaşayan, azot fikse eden simbiyotik ortağından dolayı genellikle pirinç tarlalarında gübre olarak kullanılmaktadır. Bu birliktelikten elde edilen azot (N) miktarı hektar başına yıllık 100-150 kg olabilmektedir [18]. *Azolla* çeltik tarımında mineral azot gübresine iyi bir alternatif N kaynağıdır. Çeltik tarımında biyogübre olarak kullanılmasında olumlu yönleri, bitkinin yüksek azot bağlama kapasitesi, hızlı çoğalması, hızlı mineralizasyonu ve içerdiği azotun bitkiler tarafından nispeten daha kolay alınabilen amonyum formunda olması şeklinde sıralanabilir [19]. *Azolla* çeltik tarımında yüzey suyunun buharlaşmasını azaltarak suyun pirinç tarafından etkili bir şekilde kullanımını artırmaktadır. Ayrıca amonyağın buharlaşma ile kaybını önleyerek tarımda kimyasal azot kullanımını da azaltmaktadır. *Azolla*'nın çeltik tarımında kullanılması ile birlikte toprak verimliliği de artmaktadır [20].



Şekil 4. *Azolla filiculoides* in sporofiti.



Şekil 5. *Azolla* nın morfolojisi (boyuna kesit) 1. Stem; 2. Stem apex; 3. Heterosistsiz *Anabaena* kolonileri; 4. Diğer bakteriler; 5. Yaprak primordiyumu; 6. Genç yaprak; 7. Çok hücreli dallanmış tüy; 8. İki hücreli yalın tüy; 9. Üst yaprak lobu; 10. Alt yaprak lobu; 11. Yaprak kavitesi; (gaz içeren merkezi bölge ve periferik müsilajlı bölge). 12. Involucre; 13. Indusyum; 14. Mikrosporokarp; 15. Mikrosporangia (Mikrosporlar); 16. Megasporokarp; 17. Megaspore; 18. *Anabaena* akinetleri; 19. *Anabaena* nın vejetatif hücreleri; 20. Heterosist. [9]

Dünya genelinde pirinç tarımında biyogübre olarak kullanılmasının yanısıra *Azolla* gıda ve ilaç endüstrisinde, iyi aminoasit profili, yüksek miktarda protein ve karotenoid içermesi nedeniyle balık, tavuk, domuz, ördek ve tavşanların beslenmesinde olmak üzere oldukça geniş kullanım alanına sahiptir. *Azolla*'nın kullanımı ile çevresel yönetimde yabancı otların ve sivrisineklerin kontrolü ve tatlı sulardaki organik ve inorganik kirliliklerin giderilmesi için yapılan çalışmalardan da başarılı sonuçlar elde edilmektedir [5,9]. Ülkemizde *Azolla*'nın doğal yayılış gösteren tek türü *Azolla filiculoides* olarak kayıtlara geçmiştir ve sadece Kırklareli'nde yetişmektedir [21]. Diğer taraftan 5 farklı *Azolla* türüne ait farklı genotiplerin Ege bölgesine adaptasyonu ile ilgili çalışmalarda *A. mexicana*-2026 genotipinin Ege ve Akdeniz ekolojik koşullarına uyum gösterdiği belirlenmiştir [22].

SONUÇ

Azolla-Anabaena-bakteri arasındaki simbiyotik sistemin biyolojisi geniş çerçevede değerlendirilerek biyoteknoloji, biyofertilizasyon ve çevre gibi çeşitli alanlarda kullanılması büyük önem taşımaktadır. Bitkinin üreme mekanizmasında sporulasyon sürecini teşvik eden faktörlerin araştırılması öncelik taşırken, sporokarpların toplanması, saklanması ve çimlenmesi ile ilgili çalışmaların da desteklenmesi gerekmektedir. Pirinç tarımında iyi bir azot kaynağı olmasından dolayı özellikle ülkemiz pirinç tarımı açısından bu bitkinin kullanımının teşvik edilmesi, bölgesel çalışmaların yapılması ve çiftçilerin bilgilendirilmesi de önem taşımaktadır. Azot fiksasyonundan dolayı bu simbiyotik ortaklığın ülkemiz tarımının geliştirilmesine önemli etkileri olabileceği gibi özellikle kimyasal gübre kullanımının azaltılması ile toprak verimliliği ve çevresel kirlilik gibi alanlarda da etkili olabileceği söylenebilir.

KAYNAKLAR

[1] Moore AW. 1969. *Azolla*: Biology and agronomic significance. Botanical Review. 35: 17-34.
 [2] Ashton PJ, Walmsley RD. 1976. The aquatic fern *Azolla* and its *Anabaena* symbiont. Endeavour. 35: 39-43.
 [3] Carrapiço F, Teixeira G, Diniz MA. 2000. *Azolla* as a Biofertiliser in Africa. A Challenge for the Future. Revista de Ciências Agrárias. 23(3-4): 120-138.
 [4] Tyagi VVS, Mayne BC, Peters GA. 1980. Purification and initial characterization of phycobiliproteins from the endophytic cyanobacterium of *Azolla*. Archives of Microbiology. 128: 41-44.
 [5] Pabby A, Prasanna R, Singh PK. 2003. *Azolla-Anabaena* Symbiosis-From Traditional Agriculture to Biotechnology. Indian Journal of Biotechnology. 2: 26-37.
 [6] Wagner GM. 1997. *Azolla*: a review of its biology and utilization. Botanical Review. 63: 1-26.
 [7] Ladha JK, Watanabe I. 1982. Antigenic Similarity among *Anabaena-azollae* separated from different species of *Azolla*. Biochem. Biophys. Res. Commun. 109: 675-682.
 [8] Maejima K, Uheda E, Shiomi N, Kitoh S. 2002. Relationship between nitrogen fixation and numbers of cyanobionts and heterocysts in fifteen *Azolla* strains. Soil. Sci. and Plant Nut. 48 (3): 447-449.
 [9] Van Hove C, Lejeune A. 2002. The *Azolla-Anabaena* symbiosis. Biology and Environment: Proceedings Of The Royal Irish Academy. 102B (1): 23-26.

[10] Cohen MF, Meziane T, Yamasaki H. 2004. A photocarotenogenic *Rhodococcus* sp. isolated from the symbiotic fern *Azolla*. Endocytobiosis and Cell Research. 15: 350-355.
 [11] Hashemloian BD, Azimi AA. 2009. Alien and exotic *Azolla* in northern Iran. African Journal of Biotechnology. 8 (2): 187-190.
 [12] Pereira AL, Figueiredo AC, Barroso JG, Pedro LG, Carrapiço F. 2009. Volatile compounds from the symbiotic system *Azolla filiculoides-Anabaena azollae* bacteria. Plant Biosystems – An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology. 143(2): 268-274
 [13] Carrapiço F. 2006. Is the *Azolla-Anabaena* symbiosis a co-evolution case? In: Sitnykov A (ed) General botany: traditions and perspectives. Book of international conference dedicated to 200th anniversary of the Kazan Botanical School. Part I, Kazan, 193-195
 [14] Braun-Howland EB, Nierzwicki-Bauer SA. 1990. *Azolla-Anabaena* symbiosis: biochemistry, physiology, ultrastructure, and molecular biology. In: A.N. Rai (ed.) *CRC Handbook of Symbiotic Cyanobacteria*. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 65-117.
 [15] Pereira AL, Carrapiço F. 2007. Histochemistry of simple hairs from the foliar cavities of *Azolla filiculoides*. Plant Biosys. 141: 323-328.
 [16] Carrapiço F. 2010. *Azolla* as a superorganism. Its implication in symbiotic studies. In: Seckbach J, Grube M (eds) *Symbioses and stress*. Springer, Berlin
 [17] Sevillano F, Subramanian P, Rodriguez-Barrueco C. 1984. La asociación simbiótica fijadora de nitrógeno atmosférico *Azolla-Anabaena*. An CEBA Vol. II.
 [18] Nyalemegbe K, Oteng JW, Ahiabu RK. 1996. The utilization of *Azolla* as a source of nitrogen for rice production in Ghana. Ghana Jnl agric. Sci. 29: 125-129.
 [19] Singh AL, Singh PL. 1989. Nitrogen fixation in Indian rice fields (*Azolla* and blue green algae). Bikana, India: Agrobotanical Publisher.
 [20] Raja W, Rathaur P, John SA, Ramteke PW. 2012. *Azolla-Anabaena* Association and Its Significance In Supportable Agriculture. Hacettepe J. Biol. & Chem. 40 (1): 1-6.
 [21] Ünal M, Üzen E. 1996. A New Aquatic Fern Record For The Flora of Turkey: *Azolla filiculoides* Lam. Turkish Journal of Botany, 20: 379-381.
 [22] Gevrek MN. 2011. Adaptation of Some *Azolla* Genotypes to the Aegean Ecological Conditions in Western Part of Turkey. Turkish Journal of Field Crops. 16(2): 125-129.