

SİTOLOJİ LABORATUARI

DENEY NO: 11

DENEYİN ADI:

PLASTİDLER VE KLOROPLAST

DENEYİN AMACI:

Plastidlerin yapılarının öğrenilmesi ve kloroplastın izolasyonu ile yapısının öğrenilmesi.

GENEL BİLGİ:

Ökaryotik bitki hücreleri ve bazı alglerde bulunan ve çeşitli görevleri olan organellere **plastidler** denir. Klorofil ve karotenoid pigmentleri taşıyan ve yapısında hiç pigment bulunmayan plastidler vardır. Bunlar bitki hücrelerinde bulunurlar. Klorofil pigmenti taşıyanlarına **kloroplast**, karotenoid pigmenti taşıyanlarına **kromoplast** denir. Renksiz olan yani yapısında pigment bulunmayanlarına ise **lökoplast** denir. Bu pigmentler birbirlerine dönüşebilirler.

Kromoplastlar; çiçeklerin petallerinde, meyvelerde ve bazı yüksek bitkilerin köklerinde bulunurlar. Bunlar bulundukları bölgeye sarı, turuncu ve kırmızı renk verirler. Turuncu renk veren pigment **karoten**, kırmızı renk veren pigment **likopen**, sarı renk veren pigment ise **ksantofildir**. Kromoplastlar genellikle genç hücrelerin plastitlerinden oluşurlar. Bazı alg hücrelerinde de kromoplastlar bulunur. Alglerde **fikoeritrin** kırmızı renk maddesine, **fikosiyanin** mavi renk maddesine örnektir.

Lökoplastlar; bitkilerin ışık görmeyen kök, toprak altı gövdesi, tohum gibi yapılarında ve meristem hücrelerinde bulunurlar. Renk pigmenti bulunmaz. Fakat lökoplastlar gün ışığına çıkınca bitkide bulunduğu yerinde rengi değişir ve kloroplastlara dönüşebilirler. Protein, yağ ve nişasta gibi besin maddelerini depo eder.

Kloroplastlar; bitki hücrelerinde en çok bulunan plastidlerdir. Bitkilerin yaprak ve genç gövdelerinde bulunurlar. Ayrıca bazı protistlerde de bulunurlar. Yapılarında yeşil renk veren klorofil pigmenti bulunur. İlk olarak bitkinin embriyonik döneminde çift zar yapısında olan proplastitler oluşur. Bunlar da güneş ışığında iç zarlar gelişir ve grana oluşur. Grana, yassı keseler şeklinde olan tilakoyid zarların düzenli dizilimleriyle oluşurlar. Granadaki dizi sayıları birkaç taneden elli taneye kadar değişebilirler. Tilakoyid zarın yüzeyinde klorofil pigmentleri bulunur. Grana birbirlerine stroma lamelleriyle bağlanır. Stroma lamelleri kloroplast içinde iskelet görevi yapar. Stroma ise kloroplastın içinde bulunan jelimsi bir sıvıdır. Stroma içinde DNA, RNA, ribozomlar ve fotosentez enzimleri bulunur. Ayrıca yağ asitleri, karbohidrat, nişasta ve protein gibi maddelerde bulunur. Kloroplastlar fotosentez olayını gerçekleştirirler. Bitkilerin topraktan aldığı su ve havadan aldığı karbon dioksitlerle güneş ışığından yararlanarak açığa oksijen ve karbohidrat çıkarmalarıyla olan reaksiyona fotosentez denir. Ayrıca canlı organizmaların kullandıkları kimyasal enerjiyi de açığa çıkarırlar.

	Proplastid Etioplasts Leucoplast (storage) Chloroplast (photosynthesis) Chromoplast (color) Aleuroplast Amyloplast Elaioplasts Şekil: Plastidler Dış zar DNA İç Zar RNA Ribozom Klorofil Demetleri (Grana) Tilakoid Zar Kloroplast Sıvısı (Stroma) Işıklı Devre Olayları Karanlık Devre Olayları Kloroplastın Yapısı Şekil: Kloroplastın yapısı
MATERYALLER:	✓ Yaprak dokusu ✓ Sükroz, 0.5 M, ✓ 10 ml'lik Pastör pipeti ✓ Fosfat tamponu ✓ Blender (mutfak robotu) ✓ Beher ✓ Santrifüj tüpleri
DENEYİN YAPILIŞI:	✓ Yaprak dokusundan 8 g alınız ve soğuk sudan geçiriniz. Kurutma kağıdı ile kurutunuz ve 1 cm²'lik parçalara kesiniz. ✓ Yaprak parçalarını içinde önceden dondurulmuş 0.5M'lık 40 ml sükroz bulunan blendere koyunuz ve 15 sn en yüksek düzeyde blender ile karıştırınız. 10 sn. bekletiniz ve sonra yeniden 10 sn. blender ile karıştırınız. ✓ 100 ml'lik beheri buza gömünüz ve önceden dondurmuş olduğunuz homojenizatörden geçirilmiş yaprak örneklerini 4 katlı tülbent yardımı ile soğuk behere köşelerinden bastırarak süzünüz. ✓ Süzdükten sonra iki santrifüj tüpüne 14 ml koyunuz ve 5 dak. 200 rpm'de santrifüjleyiniz. ✓ Pastör pipeti kullanarak süpernatant (içinde kloroplast bulunan) ikinci bir santrifüj tüpüne alınız ve 7dak. 1000 rpm'de santrifüjleyiniz. ✓ Pipeti kullanarak süpernatantı pelete zarar vermemeye dikkat ederek alıp atınız. Temiz pastör pipeti kullanarak 2 ml fosfat tamponunu peletin üstüne koyunuz. 8 ml'ye tamamlayana kadar tampon ekleyiniz ve pipet ile sulandırılmış süspansiyonu karıştırınız. ✓ Kloroplast süspansiyonunuz hazırdır. Mikroskop da inceleyebilirsiniz. ✓ Süspansiyonun dipte kalan yeşil kısmını ise -20°C'de kullanana kadar muhafaza ediniz.

DOÇ.DR.İŞİK DİDEM KARAGÖZ