

**İZMİR ÇAMALTI TUZLASI VE TUZ GÖLÜNDEN
İZOLE EDİLEN İKİ *Dunaliella* sp. SUŞUNUN
BÜYÜME VE TOPLAM KAROTENOİD ÜRETME
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

Gizem DÖNMEZ



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**İZMİR ÇAMALTI TUZLASI VE TUZ GÖLÜNDEN İZOLE EDİLEN
İKİ *Dunaliella* sp. SUŞUNUN BÜYÜME VE TOPLAM KAROTENOİD
ÜRETME ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

Gizem DÖNMEZ
0000-0003-2263-1762

Prof. Dr. Şükran DERE
(Danışman)
(Bursa Uludağ Üniversitesi)

Prof. Dr. Mete YILMAZ
(İkinci Danışman)
(Bursa Teknik Üniversitesi)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
HİDROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

BURSA – 2019

Her Hakkı Saklıdır

TEZ ONAYI

Gizem DÖNMEZ tarafından hazırlanan “İzmir Çamaltı Tuzlası ve Tuz Gölünden izole edilen iki *Dunaliella* sp. suşunun büyüme ve toplam karotenoid üretme özelliklerinin belirlenmesi” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Bursa Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Hidrobiyoloji Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Prof. Dr. Şükran DERE (Bursa Uludağ Üniversitesi)
İkinci Danışman : Prof. Dr. Mete YILMAZ (Bursa Teknik Üniversitesi)
0000-0002-0982-727X

Başkan : Prof. Dr. Şükran DERE
0000-0002-6780-1270
Uludağ Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi
Hidrobiyoloji Anabilim Dalı

İmza

Üye : Doç. Dr. Nurhayat DALKIRAN
0000-0002-1222-8809
Uludağ Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi
Hidrobiyoloji Anabilim Dalı

İmza

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Gökçe TANER
0000-0002-0290-1166
Bursa Teknik Üniversitesi
Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi
Biyomühendislik Bölümü

İmza

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Hüseyin Akse EREN
Enstitü Müdürü

25.11.2019

U.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

27.11.2019

Gizem DÖNMEZ



ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

İZMİR ÇAMALTI TUZLASI VE TUZ GÖLÜNDEN İZOLE EDİLEN İKİ *Dunaliella* sp. SUŞUNUN BÜYÜME VE TOPLAM KAROTENOİD ÜRETME ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Gizem DÖNMEZ

Bursa Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Hidrobiyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Şükran DERE (Bursa Uludağ Üniversitesi)

İkinci Danışman : Prof. Dr. Mete YILMAZ (Bursa Teknik Üniversitesi)

Ülkemizde tuz üretim tesislerinde, tuzlu ve sodalı göllerde besin zincirinin ilk halkasını oluşturan, hızlı büyüme özellikleri ve çevresel faktörlere karşı geniş tolerans gösterebilen, *Dunaliella* mikroalgine ait türler belirli dönemlerde yüksek yoğunlukta bulunmaktadır. İzmir Çamaltı tuzlasından izole edilen *Dunaliella* sp. suşu AQUAMEB 9 ve Tuz Gölü'nden izole edilen AQUAMEB 20 suşu BTÜ kültür koleksiyonundan temin edilerek kullanılmıştır. Kültür ortamı olarak 165 ppt tuzluluğa sahip Plymouth Erd-Schreiber kültür ortamı kullanılmıştır. AQUAMEB 9 ve AQUAMEB 20 suşları 2 ve 3 tekrarlı olarak, sabit sıcaklıkta ($24 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$), düşük ışık ($65 \text{ } \mu\text{mol.foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) ve yüksek ışık yoğunluklarında ($650 \text{ } \mu\text{mol.foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) büyüme ve beta karoten üretimlerinin incelenmesi için deneylere tabii tutulmuştur. Büyüme deneyleri duraklama evresinin sonuna kadar devam etmiştir. Hücre büyümesi Uthermohl yöntemiyle mikroskopta sayılmasıyla belirlenmiştir. Total karotenoid miktarları ise spektrofotometrik yöntemlerle belirlenmiştir. Tez çalışmasının sonucunda, yüksek ışık yoğunluğu altında AQUAMEB 9 ve AQUAMEB 20 *Dunaliella* sp. suşlarının hücre sayılarında ve toplam karotenoid miktarında artış tespit edilmiştir. Yüksek ışık yoğunluğunun büyümeyi ve pigment üretiminin arttırıcı yönde etkisi olduğu belirlenmiş olup, AQUAMEB 9 ve AQUAMEB 20 *Dunaliella* sp. suşlarının farklı ışık şiddetlerinde farklı pigment üretim potansiyellerine sahip olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Mikroalg, *Dunaliella*, İzmir Çamaltı Tuzlası, Tuz Gölü, Toplam Karotenoid

2019, viii + 71 sayfa

ABSTRACT

MSc Thesis

DETERMINATION OF GROWTH AND TOTAL CAROTENOID PRODUCTION CHARACTERISTICS AT TWO *Dunaliella* sp. STRAINS ISOLATED FROM İZMİR ÇAMALTI SALTERN AND TUZ LAKE

Gizem DÖNMEZ

Bursa Uludağ University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Hydrobiology

Supervisor: Prof. Dr. Şükran DERE (Bursa Uludağ University)

Second Supervisor : Prof. Dr. Mete YILMAZ (Bursa Technical University)

Dunaliella species, which constitute the first ring of the food chain in salt production plants, salty and soda lakes in our country, are able to exhibit rapid growth characteristics and wide tolerance to environmental factors. *Dunaliella* sp. strain AQUAMEB 9 was isolated from İzmir Çamaltı Saltern, while AQUAMEB 20 strain isolated from Tuz Lake. All strains were obtained from BTU culture collection. Plymouth Erd-Schreiber culture medium with a salinity of 165 ppt was used as culture medium. AQUAMEB 9 and AQUAMEB 20 strains were subjected to experiments to examine growth and beta carotene production at constant temperature ($24\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$), low light ($65\text{ }\mu\text{mol.foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) and high light ($650\text{ }\mu\text{mol.foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) intensities, 2 and 3 repetitions, respectively. Growth experiments continued until the end of the stationary phase. Cell growth was determined by using the Uthermohl method under the microscope. Total carotenoids quantity were determined by spectrophotometric methods. As a result of the study, the cell numbers and total carotenoid amounts of AQUAMEB 9 and AQUAMEB 20 *Dunaliella* sp. strains were determined under high light intensity. It was found that the number of cells and total carotenoid amounts increased in repetitions. High light intensity has been found the have on effect on increasing growth and pigment production. It was determined that high light intensity had an effect on growth and pigment production, and AQUAMEB 9 and AQUAMEB 20 *Dunaliella* sp. strains have different pigment production potentials at different light intensities.

Key words: Microalgae, *Dunaliella*, İzmir Çamaltı Saltern, Tuz Lake, Total Carotenoid

2019, viii + 71 page

TEŞEKKÜR

Bu tez Prof. Dr. Mete YILMAZ'ın yürütücüsü olduğu 114Z274 nolu TUBİTAK Projesi kapsamında Bursa Teknik Üniversitesi Biyomühendislik Bölümü'nde gerçekleştirilmiştir.

Hayat yolunda ve tez çalışmalarım boyunca bana her daim güvenen destekleyen kendimi keşfetmemi sağlayan bilgisini, tecrübesini esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Şükran DERE'ye TÜBİTAK Projesi kapsamında bana laboratuvarını açıp iş olanağı veren sabırla bilgisini tecrübesini benimle paylaşan sevgili hocam Prof. Dr. Mete YILMAZ'a sonsuz teşekkür ederim. Doç. Dr. Egemen DERE'ye, Doç. Dr. Nurhayat Dalkıran'a ve Arş. Gör. Mihriban ÖZEN'e, Doç. Dr. Ebru Şebnem YILMAZ'a, öğretim üyesi Dr. Didem KARACAOĞLU'na, öğretim üyesi Dr. Gökçe TANER'e çok teşekkür ederim. Tez sürecinde yanımda olan manevi annelerim Fatma ATAN ve FATMA DOYRAN'a ve arkadaşım Kübra ŞENTÜRK'e teşekkür ederim.

Yaşamımın her evresinde olduğu gibi bu zorlu dönemde de bana inanan inanmaktan yılmayan kendimi keşfetmemi sağlayan maddi ve manevi yanımda olan iki harika insan öncelikle değerli annem Zeynep SEREN'e ve ulu çınarım dedem Hüseyin SEREN'e sonsuz teşekkür ederim. Annesine hedeflerini ve hayallerini hatırlatan, annesini uyandıran Oğlum Çınar Demir DÖNMEZ'e ve eşim Vedat DÖNMEZ'e çok teşekkür ederim.

Gizem DÖNMEZ
27.11.2019



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vii
GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	3
2.1. Mikroalgler.....	3
2.1.2. Mikroalg kültürünün tarihçesi.....	3
2.1.3. Mikroalg kültür koleksiyonları.....	4
2.2. <i>Dunaliella</i> sp. 'nin Sistematığı ve Tarihçesi.....	5
2.3. <i>Dunaliella</i> sp. 'nin Genel Özellikleri.....	6
2.4. Mikroalglerin Biyoteknolojisi.....	9
2.4.1. Mikroalglerin gıda olarak, besin takviyesinde ve aquakültürde yem olarak kullanımı.....	9
2.4.2. Mikroalglerin, tıp, eczacılık ve farmasötik alanında kullanımı.....	10
2.4.3. Mikroalgerin tarımda biyogübre ve iyileştirici olarak kullanımı.....	11
2.4.4. Mikroalglerin atık su arıtımında kullanımı.....	12
2.4.5. Mikroalglerin, kozmetik ve thallasoterapi alanında kullanımı.....	13
2.4.6. Mikroalglerin, biyoyakıt, biyodizel, biyogaz üretiminde kullanımı.....	15
2.4.7. Mikroalglerin elektrik üretimi alanında uygulanması.....	16
2.5. Mikroalg Kültürünü Etkileyen Parametreler.....	17
2.5.1. Işık.....	17
2.5.2. Sıcaklık.....	18
2.5.3. pH.....	18
2.5.4. Karbon.....	18
2.5.5. Azot.....	19
2.5.6. Diğer elementler.....	20
2.5.7. Havalandırma ve karıştırma.....	21
2.5.8. Tuz.....	21
2.6. Büyüme Kinetiği.....	21
2.7. Karotenoidler.....	23
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	25
3.1. Örneklem Alanı.....	25
3.1.1. İzmir Çamaltı tuzlası.....	25
3.1.2. Tuz Gölü.....	26
3.2. Kültür Ortamının Hazırlanması.....	27
3.2.1. Kültür ortamı hazırlanması.....	27
3.2.1.1. Sterilizasyon.....	27
3.2.1.2. Plymouth Erdscheriber ortamı (PES).....	27
3.2.1.2.1. Çözeltilerin hazırlanması.....	27
3.2.1.2.2. Ortam hazırlanması.....	28
3.3. Örneklem ve <i>Dunaliella</i> İzolasyonu.....	29
3.3.1. Örneklem.....	29
3.3.2. Arazi çalışmasından getirilen su örneklerinden mikroalg izolasyonu.....	29

3.3.3. Saf kültür ve Stok kültür eldesi.....	31
3.4. <i>Dunaliella</i> sp. AQUAMEB 9 ve AQUAMEB 20 Suşlarının Büyüme Deneyleleri.....	33
3.4.1. Büyüme deneylerinde kullanılan <i>Dunaliella</i> sp. AQUAMEB 9 ve AQUAMEB 20 suşları.....	33
3.4.1.1. AQUAMEB 9.....	33
3.4.1.2. AQUAMEB 20.....	34
3.4.2. <i>Dunaliella</i> sp. AQUAMEB 9 ve AQUAMEB 20 suşlarında Total karotenoid miktarının belirlenmesi.....	36
3.4.3. <i>Dunaliella</i> sp. AQUAMEB 9 ve AQUAMEB 20 suşlarının büyüme oranlarını belirlemek için hücre sayımı.....	37
3.4.3.1. Lügol solüsyonu hazırlanması.....	38
4. BULGULAR.....	40
4.1. <i>Dunaliella</i> sp. AQUAMEB 9 ve AQUAMEB 20 Suşlarında Hücre Sayımı ve Büyüme Grafikleri.....	40
4.2. <i>Dunaliella</i> sp. AQUAMEB 9 ve AQUAMEB 20 Suşlarının Düşük ve Yüksek Işık Yoğunluklarındaki Büyüme Özellikleri.....	42
4.3. <i>Dunaliella</i> sp. AQUAMEB 9 ve AQUAMEB 20 Suşlarının Düşük ve Yüksek Işık Yoğunluklarında Pigment Üretimleri.....	47
4.3.1. Spektrofotometrik yöntemlerle total karotenoid, klorofil a ve klorofil b konsantrasyonlarının belirlenmesi.....	47
5.TARTIŞMA ve SONUÇ.....	51
KAYNAKLAR.....	58
ÖZGEÇMİŞ.....	71

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler	Açıklama
β	Beta
CO ₂	Karbondioksit
°C	Santigrat derece
μ l	Mikrolitre
μ g	Mikrogram
mM	Milimolar
μ M	Mikromolar
μ mol	Mikromol
ml	Mililitre
μ g	Mikrogram
NaCl	Sodyum Klorür

Kısaltmalar	Açıklama
AA	Araşidonik asit
EPA	Eikosapentaenoik asit
BTÜ	Bursa Teknik Üniversitesi
DOE	Amerika Birleşik Devletleri Enerji Bakanlığı
PES	Plymouth Erdscheriber ortamı
TÜBİTAK	Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu
USEPA	Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. Mikroalg kültürlerinde büyüme kinetiği.....	22
Şekil 3.1. İzmir Çamaltı Tuzlası görüntüsü.....	26
Şekil 3.2. Tuz Gölü'nün uydu görüntüsü.....	26
Şekil 3.3. Arazi çalışmasından getirilen örnekleme kapları ve 15 ml'lik falkon tüplere ve mikropalakaya izole edilen mikroalg hücreleri.....	30
Şekil 3.4. Mikropalaka ve falkon tüplere tek hücre izolasyonları.....	31
Şekil 3.5. Falkon tüplerdeki stok kültürlerin kopyalanması.....	32
Şekil 3.6. Biyoiklim kabininde stok mikroalg kültürleri.....	32
Şekil 3.7. AQUAMEB 9, İzmir Çamaltı tuzlasından 285 ppt tuzluluktan izole edilen halotolerant bir suş olan <i>Dunaliella</i> sp.'nin mikroskop görüntüsü.....	34
Şekil 3.8. AQUAMEB 20, Tuz Gölünden izole edilen halotolerant bir suş olan <i>Dunaliella</i> sp'nin mikroskop görüntüsü.....	35
Şekil 3.9. Beta karoten ekstraksiyonu için alınan örnekler.....	37
Şekil 3.10. Kültürlerin birim hacmine düşen hücre sayısı hesaplama formülü.....	38
Şekil 3.11. Hücre sayımı için alınan lügollü örnek.....	39
Şekil 3.12. Uthermohl görüntüsü.....	39
Şekil 4.1. <i>Dunaliella</i> sp. AQUAMEB 20 suşunun düşük ($65 \mu\text{mol.foton. m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) ve yüksek ($650 \mu\text{mol.foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) ışık yoğunluklarında büyüme eğrileri.....	40
Şekil 4.2. <i>Dunaliella</i> sp.AQUAMEB 20 suşunun düşük ($65 \mu\text{mol.foton. m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) ve yüksek ($650 \mu\text{mol.foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) ışık yoğunluklarında büyüme eğrileri.....	41
Şekil 4.3. <i>Dunaliella</i> sp. AQUAMEB 9 ve AQUAMEB 20 suşunun düşük ($65 \mu\text{mol.foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) ve yüksek ($650 \mu\text{mol.foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) ışık konsantrasyonları altında büyüme eğrileri.....	42
Şekil 4.4. <i>Dunaliella</i> sp. AQUAMEB 9 suşlarının ilk günündeki renkleri.....	43
Şekil 4.5. <i>Dunaliella</i> sp. AQUAMEB 9 suşlarının 16. günündeki renk değişimleri.....	43
Şekil 4.6. <i>Dunaliella</i> sp. AQUAMEB 9 suşlarının 32. günündeki renk değişimleri.....	44
Şekil 4.7. <i>Dunaliella</i> sp. AQUAMEB 9 suşlarının 49. günündeki renk değişimleri.....	44
Şekil 4.8. <i>Dunaliella</i> sp. AQUAMEB 20 suşlarının ilk günündeki renkleri.....	45
Şekil 4.9. <i>Dunaliella</i> sp. AQUAMEB 20 suşlarının 16. günündeki renk değişimleri.....	45
Şekil 4.10. <i>Dunaliella</i> sp. AQUAMEB20 suşlarının 32. günündeki renk değişimleri.....	46
Şekil 4.11. <i>Dunaliella</i> sp. AQUAMEB 20'nin düşük ışık altındaki kültürün görüntüsü.....	46
Şekil 4.12. <i>Dunaliella</i> sp. AQUAMEB20'nin yüksek ışık altındaki kültürün görüntüsü.....	47
Şekil 4.13. <i>Dunaliella</i> sp. AQUAMEB9 ve AQUAMEB 20 suşunun düşük($65 \mu\text{mol.foton. m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) ve yüksek ($650 \mu\text{mol.foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) ışık yoğunluklarında hücre başına düşen total karotenoid miktarlarının sütunları.....	48
Şekil 4.14. <i>Dunaliella</i> sp. AQUAMEB 9 ve AQUAMEB 20 suşunun düşük ($65 \mu\text{mol.foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) ve yüksek ($650 \mu\text{mol.foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) ışık yoğunluklarında hücre başına düşen total klorofil a (chl-a) miktarlarının sütunları.....	49
Şekil 4.15. <i>Dunaliella</i> sp. AQUAMEB 9 ve AQUAMEB 20 suşunun düşük ($65 \mu\text{mol.foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) ve yüksek ($650 \mu\text{mol.foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) ışık yoğunluklarında hücre başına düşen total klorofil b (chl-b) miktarlarının sütunları.....	50

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 3.1. Plymouth Erdscheriber ortamı.....	28
Çizelge 3.2. Plymouth Erdscheriber ortamı hazırlanması.....	28
Çizelge 3.3. BTÜ Mikroalg Kültür koleksiyonundan AQUAMEB 9.....	34
Çizelge 3.4. BTÜ Mikroalg Kültür koleksiyonundan AQUAMEB 20.....	35
Çizelge 3.5. Lügol solüsyonu içeriği.....	38

1. GİRİŞ

Besin zincirinde temel üretici olan mikroalgler, ototrof veya heterotrof beslenen, ökaryot ya da prokaryot yapıda olan, farklı ekolojik şartlara adapte olabilen, su ekosisteminde serbest azotu bağlayan, su ve havadaki serbest oksijenin büyük bölümünü üreten mikroorganizmalardır (Van den Hoek ve ark. 1995). Mikroalgler, bazı balık larvalarının ve suda yaşayan canlıların ilk besinidir. Balık beslemede kullanılan rotifer, cladocera ve copepod besini olarak da akuakültürdede kullanılmaktadır.

Mikroalgler farklı kaynaklardan gelen besinleri ışık yardımıyla (doğal ışık kaynağı olarak güneş enerjisi veya laboratuvar ortamında yapay ışık kaynağı) kullanarak fotosentez yaparlar. Mikroalgler, fotosentez sonucunda hayati aktiviteleri için ihtiyaç duydukları besin moleküllerini oluştururlar.

Mikroalglerin, gıda, yem katkı maddesi, organik gübre olarak, atıkların biyolojik arıtımında, küresel ısınmayla mücadelede, farmasötik ve terapötik amaçlı, kimyasal madde kaynağı olarak, antioksidan ve pigment kaynağı olarak potansiyel kullanım alanları vardır. Yenilenebilir enerji kaynağı olarak kullanılmaları ilgi çekicidir (Chisti 2007). Biyoteknolojinin gelecekteki en önemli kaynağı mikroalglerdir (Borowitzka 1992, Pulz 2001).

Türkiyede, *Dunaliella* türleri tuzlular ve tuz göllerinde dağılım göstermektedir (Koru ve Cirik 2001). Chlorophyta sınıfından olan *Dunaliella* türleri katı bir hücre duvarına sahip değildir. Yüksek tuzluluk tolerasına sahip bu türler yüksek beta karoten üretebilme yeteneğindedir (Borowitzka 2013). Kuru ağırlığının %10'una kadar beta karoten içerebilmektedirler. Sentetik beta karoten all-trans- β -karoten formundadır. *Dunaliella* ise yüksek oranda 9-cis- β -karoten üretir ve bu sentetik olana göre serbest radikalleri daha iyi etkisizleştirir (Oren 2010). Karotenoid üretimi yüksek ışık, tuzluluk, sıcaklık ve besin tuzlarının sınırlandırıldığı koşullar altında olmaktadır *Dunaliella*'daki beta karoten kloroplastta yağ damlaları formunda birikir (Ben-Amotz 2004). *Dunaliella* tuzlu su arıtımı gibi biyoteknolojik işlemlerde kullanılabilme potansiyeline de sahiptir (Borowitzka ve Siva 2007).

Doğal olarak beta karoten üretimi mikroalglerden, *Dunaliella salina*'dan, meyve ve sebzelerden havuç, tatlı patates, balkabağından, mantarlardan ve mikroorganizmaların fermentasyonundan elde edilir. Küresel beta karoten pazar büyüklüğünün, 2015 yılında 425 milyon ABD Doları'nın üzerinde bir değere sahip olduğu ve 2023 yılında 500 milyon ABD Dolarını aşması beklenmektedir. Bu pazarda 2016'dan 2023 yılına kadar % 3'ün üzerinde bir bileşik yıllık büyüme oranı beklenmektedir (Anonim 2019). Mikroalg kaynaklı beta karoten üretimi ise 2015 yılında toplam gelirin % 35'inden fazlasını oluşturmuştur.

Bu tez çalışmasında İzmir Çamaltı tuzlasından ve Tuz gölünden izole edilen *Dunaliella* sp. suşunun biyoteknolojide farklı ışık yoğunluklarında toplam karotenoid üretme potansiyellerini belirlemek amaçlanmıştır. Aynı zamanda bu iki *Dunaliella* sp. suşunun büyüme oranlarını belirlemek, bu tez çalışmasının bir diğer amacını oluşturmuştur.

2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Mikroalgler

Mikroalgler, denizlerde, okyanuslarda, tatlı ve tuzlu sularda yaşayan, hızlı büyüeyebilen, farklı yaşam şartlarına adapte olabilen, suyun hareketi ile pasif olarak yer değiştiren, filamentli, tek hücreli kamçılı, kamçısız, kamçılı ve kamçısız koloni şeklinde prokaryotik veya ökaryotik olan primer üreticilerdir. Pigmentleri sayesinde karbondioksiti, suyu, inorganik besin maddelerini ışık ile karbonhidratlara dönüştürürler. Sudaki organik besin değerini ve çözünmüş oksijen değerini arttırlar. Besin zincirinin ilk zincirini oluşturması, organik üretime katkısından dolayı ve üst zincirdeki canlılarla olan ilişkileri açısından hayati önem taşımaktadırlar (Sharma 1986, Sasson 1997).

Mikroalg biyokütlesinin % 50'si karbondur ve tüm fotosentetik canlılardaki gibi ihtiyaç olan inorganik karbon formu CO₂'dir ve mikroalgler güneş ışığını karasal bitkilere kıyasla 10 kat daha verimli kullanmaktadır (Skjanes ve ark. 2007). Mikroalgler, karotenoidler, yağ asitleri ve vitaminler olmak üzere biyoteknolojik olarak uygun bileşiklerin sürdürülebilir üretimi için umut vadecici bir kaynak olarak ilgi çekmektedir (Raposo ve Morais 2013).

Mikroalg türevlerinde seconder metabolitler, antioksidan, antiviral, antibakteriyel, antifungal, antienflamatur, antitümör ve biyoaktif molekülleri sentezlediklerinden endüstriyel büyüme ve gelişim için geniş bir perspektife sahiptir (Liu ve ark. 2016).

2.1.2. Mikroalg kültürünün tarihçesi

Laboratuvar ortamında mikroalglerin üretimi yaklaşık 140, ticari olarak üretimi ise yaklaşık 60 yıllık bir süreyi kapsamaktadır (Borowitzka 2013). İlk kültür çalışması *Haematococcus pluvialis* türü yapılmıştır (Cohn 1850). İlerleyen zamanda, yeşil alglerden olan *Desmococcus olivaceus* ve *Chlorococcum infusionum* inorganik kültür ortamında Famintzin tarafından üretilmiştir (Famintzin 1871, Borowitzka 2013). 1890

yılında Beijerinck tarafından *Chlorella vulgaris* ile ilk modern mikroalg kültür çalışmaları gerçekleştirilmiştir (Beijerinck 1890, Borowitzka 2013). Harder ve von Witsch (1942) mikroalglerin yüksek lipit içeriğinin yakıt ve besin üretiminde değerlendirilebileceğini önermişlerdir (Harder ve von Witsch 1942). Yakıt üretiminde mikroalglerin fizibilitesi ile ilgili ayrıntılı çalışmalar *Chlorella* ile Aaach tarafından 1952 yılında yapılmış olup, araştırmaların sonucunda, azot sınırlayıcı koşullarda kuru ağırlığının % 70' inden daha fazla oranda kuru ağırlıktan daha fazla lipit ürettikleri tespit edilmiştir (Aach 1952, Borowitzka 2013).

Stanford Araştırma Enstitüsü'nde 1948-1950 yıllarında büyük ölçekte, 1951 yılında ise Cambridge, ABD'de pilot ölçekte açık sistemler kullanılarak *Chlorella* üretimi gerçekleştirilmiştir (Borowitzka 2013). 1960'larda Kaliforniya Üniversitesinde Oswald' ın başkanlığında, atık su arıtımı ve biyokütle üretimi için büyük ölçekte çalışmalar gerçekleştirilmiştir (Oswald 1957, Oswald ve Golveke 1960). 1960'ların başında Kaliforniya'da 2700 m² alanda 1000 m³ kapasiteli kıvrımlı havuzlarda mikroalg yetiştiriciliği Richmond tarafından kurulmuştur (Farrar 1966). 1960-1970 yıllarında besin kaynağı olarak kullanılmak üzere *Chlorella* türü Japonya ve Taiwan'da üretilmiştir. 1970'li yıllarda Texcoco gölünde (Meksiko) ilk *Spirulina* tesisi kurulmuştur. 1980 yılında ABD'de raceway kültürasyon havuzlarında *Spirulina* üretimi gerçekleştirilmiştir (Borowitzka 2013).

1980 yıllarda, tuzlu sularda yaygın olarak yaşayan, yeşil mikroalg olan *Dunaliella salina* türünden, ticari amaçlı beta karoten üretimi Avustralya, ABD ve İsrail'de gerçekleştirilmiştir. Günümüzde İsrail ve Avusturalya'da yıllık 1000 tondan fazla kuru biyokütle üretimi gerçekleşmekte olup elde edilen beta karoten tıp alanında kullanılmaktadır (Borowitzka 2013).

2.1.3. Mikroalg kültür koleksiyonları

Mikroalg kültür koleksiyonları belirli bölgenin fitoplanktonik mikrobiyal çeşitliliğini korumak ve belgelemek amacıyla kurulur. Mikroalg kültür koleksiyonları biyoteknolojinin çeşitli branşlarında kullanılabilecek türlerin keşfine de yardım eder.

Dünyanın farklı bölgelerinde farklı türlerin bulunduğu alg kültür koleksiyonları mevcuttur (Özen ve ark. 2016). Ülkemizde ise kültür koleksiyonlarında bulunan tür sayıları kısıtlıdır. Türkiyede ilk mikroalg Kültür koleksiyonu EGEMACC Ege Üniversitesi Mikroalg Kültür Koleksiyonudur. Bursa Teknik Üniversitesi Alg ve Siyanobakteri Kültür Koleksiyonu olan AQUAMEB ise 50' ye yakın monoalgal mikroalg kültürüyle bulunmaktadır.

Dünyada yaygın olarak bilinen mikroalg kültür koleksiyonları, Çin'de bulunan FACHB, Freshwater Algae Culture Collection, Chinese Academy of Sciences, Almanya'da bulunan SAG, Sammlung von Algenkulturen at University of Goettingen ve CCAC, Culture Collection of Algae at the University of Cologne, ve Avustralya'da bulunan ANACC, Australian National Algae Culture Collection ve ABD'de bulunan CCMP, Provasoli-Guillard National Center for Marine Algae and Microbiota ve UTEX, The Culture Collection of Algae at the University of Texas Austin, Danimarka'da bulunan SCCAP, Scandinavian Culture Collection of Algae - Protozoa ve Portekiz'de bulunan ACOI, Coimbra Collection of Algae ve Japonya'da bulunan NIES, Microbial Culture Collection at National Institute for Environmental Studies ve İngiltere'de bulunan CCAP, Culture Collection of Algae and Protozoa ve Kore'de bulunan KMMCC, Korea Marine Microalgae Culture Center'dır (Elcik ve Çakmakçı 2017)

2.2. *Dunaliella* sp'nin Sistematığı ve Tarihçesi

Dünyadaki hipersalin ortamlarda yaşayan, tek hücreli yeşil alg olan *Dunaliella* 1838'de Michel Felix Dunal tarafından Fransa'nın güneyinde Montpellier yakınlarında buharlaşan tuz havuzlarında parlak kırmızı renkte hücreler olarak gözlenmiştir. *Dunaliella salina*, 1905 yılında Romen botanikçi Teodoresco tarafından Michel Felix Dunal şerefine isimlendirilmiştir (Oren 2005).

Tanımlanan *Dunaliella* türleri, *Dunaliella bardawii*, *Dunaliella tertiolecta*, *Dunaliella obliqua*, *Dunaliella minuta*, *Dunaliella pseudosalina*, *Dunaliella parva*, *Dunaliella turcomanica*, *Dunaliella terricola*, *Dunaliella minutissima*, *Dunaliella granulata*, *Dunaliella ruineina*, *Dunaliella percei*, *Dunaliella gracilis*, *Dunaliella jacobae*,

Dunaliella media, *Dunaliella Baas beckingii*, *Dunaliella acidophila*, *Dunaliella quartolactai*, *Dunaliella paupera*, *Dunaliella maritima*, *Dunaliella bioculata*, *Dunaliella polymorpha*, *Dunaliella carpatica*, *Dunaliella asymerica*, *Dunaliella primalecta*, *Dunaliella lateralis*, *Dunaliella flagellata*, *Dunaliella obliqua*, *Dunaliella salina*, *Dunaliella viridis*'dir (Avron ve Ben-Amotz 1992).

Dunaliella cinsinin sistematikteki yeri aşağıdaki gibidir:

Alem(Regnum): Plantae

Alt alem(Subregnum): Thallophyta

Bölüm(Phylum): Chlorophyta

Sınıf(Classis): Chlorophyceae

Takım(Ordo): Chlamydomonadales

Familya(Familia): Dunaliellaceae

Cins(Genus): *Dunaliella* sp.

2.3. *Dunaliella* sp. 'nin Genel Özellikleri

Dunaliella türlerinin hücre morfolojileri farklılık gösterebilir. *Dunaliella* türleri ortam şartlarına göre elipsoid, oval, küresel, asimetric, fusiform, dorsoventral simetrlili, bilateral şekillerde olabilir. Genellikle hücrelerin baş kısmı dar, alt kısmı geniş morfolojileri vardır (Avron 1992, Borowitzka ve Brown 1974, Koray 2002, Borowitzka ve Siva 2007). *Dunaliella* hücre uzunlukları 5-25 µm arasında, genişlikleri 3-13 µm arasında değişmektedir (Ben-Amotz ve Avron 1980, Borowitzka ve Borowitzka 1988a, Oren 2005).

Hücrenin uç kısmında hücre boyu kadar homodinamik özelliğe sahip 2 adet kamçı bulunur (Vismara ve ark. 2004). *Dunaliella* türleri tüm hücreyi kaplayan 1 adet kloroplasta, 1 adet nükleusa ve çekirdekçiğe sahiptir. *Dunaliella* türleri, sert polisakkarit yapıdaki hücre duvarına sahip olmayıp, glikokaliks olarak adlandırılan mukoz yapıdaki ince elastik plazma membrana sahiptir. Plazma membranı, ortamdaki ozmotik değişikliklere karşı, reaksiyon göstererek, hücrelerin şekli ve hacminde ani farklılıklara izin verir ve ozmotik basınç etkisiyle hücrelerin patlamasını önler (Ben-Amotz 2004,

Oliveira ve ark. 1980, Melkonian ve Preisig 1984, Leonardi ve Caceres 1994, Hatanaka ve ark. 1998).

Kloroplastın ön tarafında 1-2 stigma (göz noktası) vardır. Mitokondri çeşitli bölgelere dağılmıştır. 2-4 adet golgi aygıtı bulunur. Her bir golgi aygıtı 10-15 adet keseye sahiptir. Endoplazmik retikulum stres şartları altında (Hiperozmatik) endoplazmik retikulumun sayıları artmasıyla, membran materyalleri için kaynak görevi gördüğü düşünülmektedir. Sıcaklık, ışık ve tuz konsantrasyonu değişikliği kloroplast ve endoplazmik retikulum organelinin yapısında ve sayısında değişikliğe neden olmaktadır (Ben Amotz 1989a).

Dunaliella hücreleri stres şartlarında ozmatik şoka uğrayarak şekil değiştirir, ekstrem koşullar ortadan kalktığında, tekrar eski haline geri döner. Düşük sıcaklıkta ve yaşlı kültürlerde düzensiz, dev, amoboid hücreler formunda olabilir. Düşük sıcaklığın etkisiyle muhtemelen hücre iskeleti mikrotübülleri yıkılır ve parçalanır (Melkonian 1980). *Dunaliella* hücreleri ozmatik strese cevap olarak gliserol ve beta karoten biriktirme kabiliyetine sahiptir. *Dunaliella* türlerinde vejetatif üreme flagellalı evrede boyuna bölünme ile gerçekleşir. Bölünme öncesinde mikroorganizmanın hacmi artar, kamçıların sayısı iki katına çıkar. Ortam koşulları değiştiğinde küresel, kalın duvarlara sahip aplanospor (kist) formunda bulunabilirler. *Dunaliella* türlerinde eşeyli üreme ise eşit boyuttaki gametlerin izogami ile sitoplazmik köprü (konjugasyon) yoluyla olmaktadır. Zigot yeşil ya da kırmızı renkte olup, kalın ve yumuşak hücre duvarı ile çevrilidir. Dinlenme evresinden sonra zigotun hücre duvarı patlayarak 2, 4, 8, 16 kardeş hücre meydana gelir (Borowitzka ve Siva 2007).

Dunaliella salina ve *Dunaliella bardawil* doğal beta karoten kaynağıdır (Borowitzka ve Borowitzka 1988, González ve ark. 2009). Kuru ağırlıklarının %10-14 arası beta karoten biriktirebilirler. Ayrıca yığın kültürlerinde abiyotik stres adaptasyonları uyarlamaları açısından en kapsamlı çalışılan türlerdendir (Ben-Amotz ve Avron 1983, Cifuentes ve ark. 1996, Oren 2005).

Yüksek tuz yoğunluklarında hücrenin etrafını saran mukoz tabaka ve kamçısı ortadan kalkarak, su kaybını tolere etmek ve kötü ortam şartlarından korunmak amacıyla dayanıklı kist formu oluşturur (Borowitzka ve Siva 2007). Stres şartlarında hücre büyümesini sınırlayıcı şartlarda kültür koşulları yüksek ışık yoğunluğu, yüksek sıcaklık, yüksek tuzluluk ve besin eksikliğini içerdiğinde organizma cevap olarak (*D. salina* ve *D. bioculata*) yüksek miktarda beta karoteni kloroplastların tilakoid boşlukları arasındaki yağ globülerinde biriktirir. Karotenoid pigmenti klorofil hasarını önler. Hücrelerin renkleri, kırmızı, turuncu renk alır (Ben-Amotz ve Shaish 1992, Ben-Amotz 2004).

Dunaliella hücrelerinin, yüksek tuz yoğunluklarında, hücre içi gliserol içeriği, % 50'yi aşar. Gliserol, enzimleri inaktivasyon ve inhibisyona karşı koruyan 'uyumlu bir çözünen' olarak görev yapar (Borowitzka ve Brown 1974). Hücreler, ozmatik değişimlere hacim ve şekil değiştirerek adaptasyon sağlar. *Dunaliella salina*, Osmoregülasyon mekanizması sayesinde, %5-%35'e kadar NaCl derişimlerinde yaşayabilmektedir (Ben-Amotz ve Avron 1983, Borowitzka ve Borowitzka 1992). *Dunaliella* ayrıca alglerin farklı tuz yoğunluklarında kendini nasıl adapte ettiklerini ve düzenlediğini anlamada çok önemli bir model organizma olarak hizmet eder. Aslında, diğer organik maddelerde ozmotik dengeyi korumak için çözünen maddelerin geliştirilmesi fikri *Dunaliella*'nın osmoregülasyon kabiliyetlerinden kaynaklanmaktadır (Oren 2005). *Dunaliella* türleri farklı ortam şartlarına adaptasyonu ve toleranslarıyla ilgi çekicidir. *Dunaliella antarctica*, sıfır altı sıcaklıklarda büyürken, *Dunaliella salina* suşları yüksek ışık yoğunluklarını tolere edebilirken, *Dunaliella acidophila*, pH (0-1) gibi asidik ortamda büyüyebilir. *Dunaliella* türleri, diğer mikroalglerle oranla deniz araçlarından kaynaklanan akaryakıt kirlenmesine karşı daha toleranslıdır (Brown ve Borowitzka 1979).

1980 yılından itibaren, Avustralya, Çin, İsrail, Hindistan gibi ülkelerde ticari ölçekte beta karoten üretimi yapılmaktadır. Şili, İspanya, İran, Kuveyt gibi ülkelerde de pilot ölçekli projeler denenmektedir (Ben-Amotz ve Avron 1990, Borowitzka ve Borowitzka 1989, Borowitzka 1990, Garcia Gonzalez ve ark. 2003). 2003 yılında, kömür yakıtlı termik santrallerin karbondioksit salınımlarını mikroalg yetiştiriciliğinde değerlendiren

ilk firma İsrail'deki Seambiotic firmasıdır. *Dunaliella* türleri salamura planktonu, tuzla karidesi olan *Artemia* için önemli bir besindir. *Dunaliella* popülasyonlarındaki düşüşler, *Artemia* popülasyonlarındaki artışlarla sıklıkla ilişkilidir (Oren 2014).

2.4. Mikroalglerin Biyoteknolojisi

2.4.1. Mikroalglerin gıda olarak, besin takviyesinde ve aquakültürde yem olarak kullanımı

Mikroalglerin gıda olarak kullanımı binlerce yıl öncesine dayanmaktadır. Çinde siyanobakterilerden *Spirulina*, Çin ve Meksika'da kıtlık zamanında hayatta kalmak için kullanılmıştır. *Arthrospira (Spirulina)* binlerce yıldır insanlar tarafından besin olarak kullanılmaktadır (Spolaore 2006, Chisti 2006, Milledge 2011). *Spirulina* hücreleri, % 60 oranında protein, % 16-55 oranında karbonhidrat (selüloz ve nişasta), yağ ve vitaminleri ihtiva ederler. Mikroalgler E ve B₁₂ gibi B vitamini türevlerini içerir. Algler ticari olarak diyet takviyesi olarak kullanılır. Siyanobakteri olan *Spirulina (Arthrospira platensis)* 'süperbesin' olarak tanımlanır (Demirel ve Özpınar, 2003). Çin'de aslında siyanobakteri olan yaklaşık 70 alg türü Çin sebzesi olarak tüketilmektedir. Japonya'da yemeklerde yaklaşık 20 alg türü kullanılmaktadır (Bigogno ve ark. 2002). Besin değerleri sebebiyle kültürleri yapılan diğer alg türleri; yeşil alg olan *Chlorella* türleri ve beta karoten ve C vitamini miktarı yüksek alglerdir. *Dunaliella salina* besin değerleri nedeniyle kültürü yapılan bir mikroalg türüdür (Kargın Yılmaz 2008).

Mikroalgler, ışık enerjisi kullanımının verimliliğini arttıran fikobiliproteinler bakımından ve fotosentetik pigmentleri foto oksidasyondan koruyan karotenoidler bakımından zengindir. Yüksek besin değerine sahip mikroalg ürünleri ekstrakt, tablet veya kapsül olarak saf halde aynı zamanda, şekerleme çubukları, zamklar, makarnalar ve içecekler gibi çeşitli gıda ürünlerine katkı maddesi olarak kullanılmaktadır (Liang ve ark. 2004). Mikroalglerden, *Chlorella vulgaris* ve *Spirulina*'nın içeriğindeki proteinler, peptidler, aminoasitler (Hamed 2016). ve *Dunaliella salina*'nın içeriğindeki beta karoten ve antioksidanlar (Sharma ve ark. 2016). gıda endüstrisinde kullanılmaktadır. *Dunaliella* 'dan gliserol ve beta karoten çıkarıldıktan sonra kalan kuru ağırlığı yaklaşık % 40 oranında protein içerir (Ben-Amotz ve Avron 1990).

Dunaliella türlerinden üretilen beta karoten ve ekstraktı, gıda takviyesi için *Dunaliella* tozu ve kapsülü, hayvan kullanımı için liyofize edilmiş *Dunaliella* hücreleri olarak piyasaya sunulmuştur. Gıda takviyesi endüstrisinde yumuşak jelatin kapsüller için bir dolgu maddesi olarak kullanılan % 4'lük beta karoten çözeltileri ve gıda maddesi olarak kullanılan beta karoten ürünleri mevcuttur. Renklendirici madde olarak margarin vs, besin takviyesi, içeceklerde kullanılan % 2' lik bir emülsiyon olarak, karidesler ve bazı diğer türlerde su ürünleri yemi olarak kullanılmaktadır (Ben-Amotz ve Avron 1990, Ben - Amotz 1993). Piyasada, karides ve süs balıkları gibi su hayvanlarının et ve kabuk renklerinin daha çekici olması için kullanılmaktadır (Pulz ve Gross 2004). Beta karoten ile ksantin pigmenti karıştırıldığında karideslerde pigmentasyon için en etkili madde olan astaksantine dönüştürebilir (Boonyaratpalin ve ark. 2001). Yapılan çalışmalarda *Dunaliella* yemi ile beslenen karidesler kontrol grubuyla kıyaslandığında daha fazla kilo alımı ve hayatta kalma eğilimi göstermiştir (Supamattaya ve ark. 2005).

Yetiştiricilik yapılan tesislerde, alglerle beslenme bivalv molluskların, (midye, istiridye vs) tüm gelişim evrelerinde kullanılmaktadır. Bazı balık türlerinin çok erken gelişim evrelerinde ve bazı balık türlerinin beslenmesinde kullanılan zooplanktonik organizmalar, (rotifer, artemia, kopepod) için besin ve protein kaynağı olarak kullanılmaktadır (Kargin Yılmaz 2008).

2.4.2. Mikroalglerin, tıp, eczacılık ve farmasötik alanında kullanımı

Mikroalglerden *Dunaliella tertiolecta* türü antikarsinojenik özelliklere sahip olan beta karoten üretimi yaygın olarak yapılmaktadır. *Dunaliella bardawil* 'den alınan ilaç fibratı ve beta karoten bakımından zengin toz ilaç ile kombine bir tedavi uygulandığında, hastalarda HDL kolesterol düzeyleri üzerindeki etkisini artırabileceği gösterilmiştir (Shaish ve ark. 2006). *Dunaliella salina* ve *Dunaliella bardawil* yaygın olarak çalışılan türlerden olup, biyofarmasötiklerde kullanılmaktadır. *Dunaliella*, HBsAg proteini üretimine sebep olan dönüşümlere sahiptir. Bu protein, hepatit B virüsü için epidemiyolojik olarak öneme sahiptir. *Dunaliella* ayrıca astım, egzama, katarakt ve hatta kanser için ilaçlarında kullanılır (Bañuelos-Hernández ve ark. 2015). *Dunaliella tertiolecta* ekstraktlarının in vitro olarak viral replikasyonu inhibe ettiği gözlenmiştir

(Fabregas ve ark. 1999). *Dunaliella* türleri Anti-HSV faktörü üreterek, viral saldırıları bloke etmesiyle antiviral özellik göstermektedir. *Dunaliella tertiolecta* antihipertansif, bronkodilatör, antiserotonin, kas gevşetici, polisinyaptik blok, analjezik, antiödem etkileri vardır. Sulu ekstratlarının santral Sinir Sistemi depresanı ve kas gevşetici etkileri de bulunmaktadır (Borowitzka 1999).

Endüstriyel olarak yetiştirilen süperantioksidan olarak tanımlanan *Haematococcus pluviialis* mikroalgi farmakoloji ve gıda alanında kullanımı için ürettiği aktif madde olan astaksantin pigmenti çalışılmıştır (Shah ve ark. 2016). *Chlorella pyrenoidosa* ve *Chlorella elipsoidae* türleri, immünoestimülasyon özelliklere sahip kompleks polisakkaritler içermektedir (Bin ve ark. 2013). Yapılan çalışmalar polisakkaritleri sayesinde, antioksidan özellik göstermekte ve antiinflamatuar ve analjezik yeteneklerini kanıtlamaktadır (Guzman ve ark. 2001, Guzman ve ark. 2003).

2.4.3. Mikroalgerin tarımda biyogübre ve iyileştirici olarak kullanımı

Mikroalgler, biyoremediasyon uygulamalarında ve biyogübre olarak kullanılmaktadır. Serbest yaşayan azot fikse edebilen siyanobakteriler pirinç tarımı yapılan bölgelerde gübre olarak kullanılmaktadır (Kerby ve Rowell 1992).

Sahil kesimlerindeki makroalgler, fosfor ve potasyum gibi iz elementler ihtiva ettiğinden gübre olarak kullanılmaktadır. Toprak iyileştiricisi, kök ve bitki gelişimi düzenleyicisi olarak da kullanılmaktadır. Erozyonu azaltmak, havalandımayı sağlamak ve su hareketini kolaylaştırmak gibi özellikleri vardır.

Tarımsal kökenli yüksek oranda gübre içeren atıksular da mikroalg yetiştiriciliğinde kullanılabilir. Tarımsal kökenli atıksularda yetişen mikroalgler karbonhidrat ve protein bakımından zengin olmasıyla biyodizel dışında biyoyakıt üretimine de katkıda bulunur (Çalışkan Eleren ve Öner, 2019).

Türkiye de gübre ve tarım uygulamalarında Mikroalg Gıda Tarım Sanayi A.Ş *Chlorella* sp. ürünü olan TerraDoc adında probiyotik özellikte mikroalg gübresi üretmektedir (Anonim 2018).

2.4.4. Mikroalglerin atık su arıtımında kullanımı

Mikroalgler atık su arıtımında kullanılabilir. Mikroalglerin, inorganik maddeleri toplama kapasiteleri yüksek olduğundan biyolojik arıtma yöntemlerinde kullanılmaktadır (Talbot ve de la Noue 1993). Arıtma işlemi, kaynaklardan gelen atıkların oksijensiz bir ortamda mikroalgler tarafından oksijenlendirilerek gerçekleşir. Mikroalgler, bazı ağır metalleri absorbe etmelerinin yanı sıra, petrolün alifatik ve aromatiklerini, klorlu halokarbonları ve pestisitleri biyotransforme ve biyoçökeltme özelliğine sahiptir (Portier ve Miller 1991).

Serbest ve immobilize mikroalg olarak atık su yönetim programlarında *Dunaliella* kullanılmıştır. *Dunaliella*'nın NH_4^+ ve PO_4^{3-} gibi bileşikleri biriktirir ve atık su ve atık bakır ve arsenik gibi ağır metalleri absorbe etme kabiliyetleri vardır (Yamaoka ve ark. 1999). Atıksu ortamında N ve P gibi nutrient konsantrasyonları yüksektir. N' un büyük bir kısmı, yüksek yoğunluklarında alg büyümesini inhibe edebilen amonyak formundadır (Wrigley ve ark. 1990).

Dunaliella tertiolecta, sudaki ağır metallerin uzaklaştırılması ve biyolojik olarak temizlenmesi için kullanılmaktadır (Tsuji ve ark. 2002). *D. tertiolecta* aynı zamanda, yüksek azot ve amonyak seviyelerine sahip tuzlu atıksuların tersiyer arıtımı için ideal bir aday olarak önerilmektedir (Belle 2007). *D. tertiolecta* deniz ortamından inorganik arsenik alabilir ve onu arsenoribozlara metabolize edebilir (Foster ve ark. 2008). *D. salina*'nın yüksek bir N ve P giderim etkinliği olduğunu gösterilmiştir (Thakur ve Kumar 1999).

Dunaliella tertiolecta benzeri algler, antropojenik bileşiklerin ortamlardaki ekotoksitesinin değerlendirilmesi için biyoindikatörler olarak görev yapmaktadır. Bu tür biyo-tahlillerin atık ve atıklar için çevresel izlemeye entegrasyonu kirliliğin önlenmesi ve çevrenin korunması sağlanabilir. Hayvanlar gibi diğer test

organizmalarına kıyasla algler belediyelerden ve endüstrilerden gelen çeşitli atık sulara karşı daha fazla duyarlılığa sahiptir (Lewis ve ark. 1998).

Ciddi koşullarda büyüme kabiliyeti özelliğiyle *Dunaliella* çevresel toksisiteyi test etmek için kullanılabilir. Örneğin, *Dunaliella tertiolecta*, bir biyo-tahlil organizması için kriterlerin çoğunu karşılayan bir çevresel biyosensör ve gösterge olarak seçilmiştir (Reish ve Lemay 1988). Ayrıca deniz suyu toksisitesinin test edilmesi için standart bir organizma olarak önerilmiştir (Anonim 1998). Araştırmacılar, deniz ortamlarındaki herbisitler için bir tahlil geliştirmek üzere yedi mikroalg cinsini test etmişlerdir. Elde edilen sonuçlar, *Dunaliella primolecta*'nın diğer mikroalgler arasında tanımlanmış ve optimize edilmiş bir ortamda alloksohidim, sethoksohidim, metemitron ve klopralid dahil dört herbisit için bir biyodetektörü olarak kullanılmasında en iyi potansiyele sahip olduğunu göstermiştir (Santin Montanya ve ark. 2007).

Mikroalglerin atıksularda üretimi, azot fosfor giderimi ve mikroalg yetiştiriciliği için önemli bir kazanım sağlayabilir. Atıksu arıtımının, baca gazı kullanımının ve biyoyakıt amacıyla mikroalg yetiştiriciliğinin eş zamanlı yapılması; mikroalglerin biyoyakıt üretiminin enerji maliyetini azaltıp, gaz emisyonu, nutrient ve su kaynak maliyetlerinin azaltılması ile ilgili olarak cazip bir seçenek olur. Atık sularda mikroalgler yetiştirilmesi, sonucunda yüksek biyokütle verimi elde edilmektedir (Çalışkan Eleren ve Öner 2019).

2.4.5. Mikroalglerin, kozmetik ve thallasoterapi alanında kullanımı

Mikroalgler, kozmetik ve thallasoterapi alanında da kullanılmakta olup, mikroalglerden türetilen aktif bileşenler, lekeleri önlemek, hasarlı cildi onarmak ve iltihaplanma sürecini engellemek için kullanılmaktadır. Mikroalglerden elde edilen ekstraktlar, iyileşme sürecini hızlandıran ve cilt nemini koruyan çeşitli biyoaktif maddelere sahiptir (Kim 2008). *Dunaliella tertiolecta* ve *Tetraselmis suecica* mikroalgleri yüksek konsantrasyonlarda a-tokoferol ve E vitamini üretir. E vitamini etkili antioksidan özelliğe sahip olduğundan kozmetik formülasyonlarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Brown ve ark. 1999). Karotenoidlerden astaksantin en güçlü doğal antioksidan olarak

kabul edilir, bu nedenle serbest radikallerin etkili bir temizleyicisidir. İnsan metabolizmasında astaksantin, UV kaynaklı foto oksidasyona karşı cildin korunmasında ve doğal güneş koruyucu kozmetiklerinde kullanılabilir (Koller 2014).

Mikroalglerdeki karotenoidler, antioksidanlar, foto koruma, antiinflamatuvar ve anti-alerjenik özellikler gösterirken, yapısındaki biyoaktif bileşenlerde, cilt için olumlu etki göstermektedir (Heydarizadeh 2013). Mikroalg ekstraktları cilt bakım ürünlerinde, yaşlanma karşıtı kremler, koruyucu, canlandırıcı, yenileyici ürünler olarak, deodorant gibi tahriş edici ürünlerde antioksidan olarak kullanılmaktadır.

Dunaliella salina'da, karotenoid kaynağı olan beta karotenin anti-enflamatuar özelliğe olduğu ve ayrıca cilt nemlendirilmesinde glikozaminoglikan içeren bir hialüronik asit sentezini indükleyebildiği gözlemlenmiştir (Tang ve Suter 2011, Sayo ve ark. 2013).

Mikroalglerden klorofil gibi diğer pigmentler kozmetik ürünlerinde kullanılır. Örneğin deodorantlarda, kokuları maskeleyen kabiliyetleri bulunur ve diş macunları ve hijyen ürünlerinde kullanılır (Hoisikan ve ark. 2010). *Chlorella vulgaris*'ten elde edilen ekstraktların cilt yaşlanmasında kolajen onarım mekanizmalarını desteklediği bildirilmiştir (Chandra ve ark. 2017).

Mikroalgler talassoterapi alanında da kullanılmaktadır. Talaso Atlántico Thalassotherapy Center'da (Oia, Pontevedra, İspanya) deniz suyunda bulunan mikroalgleri bir takım işlemlerden geçirerek mikroalgel pelloid uygulaması yapılmaktadır (Mourelle ve ark. 2017).

Sonuç olarak, cilt bakımı için doğal ürünlere olan talebin artmasıyla spa ve talassoterapi merkezlerinde tedavi amaçlı, kullanılan mikroalg kaynaklı ürünlerin cilt sağlığı için yararlı etkileri bulunmaktadır. Mikroalglerin içerdiği, zengin polisakkaritler, karotenoidler, doymamış yağ asitleri, vitaminler ve UV radyasyonuna karşı koruyan diğer antioksidanlar, kozmetik ve kozmesötikler aynı zamanda talassoterapi ürünleri için potansiyel hammaddelerdir (Mourelle ve ark. 2017)

2.4.6. Mikroalglerin, biyoyakıt, biyodizel, biyogaz üretiminde kullanımı

Günümüzde, fosil yakıtların hızlıca tüketilmesiyle artan karbondioksit seviyesinin küresel ısınmaya sebep olmasıyla ve petrol rezervlerinin hızlı tüketilmesine bağlı olarak meydana gelen sera gazlarının çevre üzerinde olumsuz etkileri görünmektedir. Bu sebeple, toplum tüketimi ve endüstriyel ekonomi için çevreye zararsız sürdürülebilir kaynakların kullanımı ön plana çıkmıştır (Suganya 2016). Fosil yakıtların yerini, jeotermal, rüzgar, güneş, okyanus enerjisi, biyoyakıt enerjisi almıştır. Uluslararası işbirlikçiler Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı (USEPA) ve Doğal Hayatı Koruma Vakfı (WWF) verilerine göre, gelecekteki enerji talebini karşılayabilmek, tarım alanlarının su ekosistemindeki zararlarını, sera gazı emisyonlarını azaltabilmek amacıyla mikroalglerden üretilen çevre dostu biyoyakıtları alternatif enerji kaynağı olarak düşünmektedirler (Milano 2016; Chisti 2007) Güneş enerjisini biyokütleyle dönüştürme oranı bitkilerde %1 den az iken mikroalgler güneş enerjisini % 2-4 oranında biyokütleyle dönüştürebilir (Crocker ve ark. 2010).

Mikroalg biyokütlesinden yenilenebilir yakıt üretimi amacıyla, mikroalgal lipidlerin seri işleme girmesiyle biyodizel, mikroalglerin şeker, selüloz veya nişasta içeriğinden biyoetanol, ve biyohidrojen eldesi, algal biyokütlenin anaerobik parçalanmasıyla biyogaz (biyometan) elde edilebilir (Hossain ve ark. 2008).

Mikroalglerden biyoyakıt üretimi eldesinde, biyodizel üretimi için kullanılacaksa, yağ içeriği yüksek türler, biyoetanol üretimi için karbonhidrat içeriği yüksek türler, biyohidrojen üretimi için hidrojen üreten türler seçilmelidir (Elcik ve Çakmakçı 2017). Algenol, Sapphire Energy ve Seambiotic gibi endüstriyel biyoteknoloji şirketleri ticari ölçekli biyoetanol üretimi ile uğraşmaktadır (Duvall ve ark. 2009).

ABD Enerji Bakanlığı (DOE), 1978'ten 1996'ya kadar Golden, Colorado'da Ulusal Yenilenebilir Enerji Laboratuvarı'nda sucül türler programında algal yakıt araştırmalarına 25 milyon dolar ayırmıştır (Rojan ve ark. 2011). 1970-1990 yılları arasında ABD Ulusal Yenilenebilir Enerji Laboratuvarı, mikroalglerin biyodizel üretiminde kullanılmasının fizibilite çalışmaları ve projeleri gerçekleştirmiştir (Mata ve

ark. 2010, Deng ve ark. 2009). 1990'ların ortalarında DOE benzin fiyatlarının düşüşüyle çalışmaları sonlandırılmıştır. 2008 yılında DOE yatırımını tekrar yenilemiştir (Deng ve ark. 2009). Algal yakıtların ticarileştirilmesi için birçok şirket araştırmalar yapmaktadır (Chisti ve ark. 2011). Algal yakıt üretimi için yatırım yapan şirketler Alganel biofuels, Solix biofuels, Sapphire energy, Solazyme ve Seambiotic şirketlerdir. Dünyadaki algal yakıt üretimi üzerine çalışan firmaların % 78'i ABD'de % 13'ü Avrupa'da bulunmaktadır (Singh ve Gu 2010).

2.4.7. Mikroalglerin elektrik üretimi alanında uygulanması

1 kg mikroalg biyokütlesi ortalama 1,83 kg CO₂ tutabilmektedir (Akgün 2014). Atmosferdeki karbondioksit salınımlarını azaltmak ve mikroalg kültürü üretiminde karbondioksit maliyetini düşürmek için, termik santrallerin baca gazının kullanılması önerilmiştir (Haiduc ve ark. 2009). Alman kuruluşlu elektrik firması olan RWE Power AG, Forschungszentrum Jülich GmbH ve Phytolutions GmbH firmaları beraber çalışarak, linyit yakıtlı termik santral baca gazı kullanarak mikroalg üretimi yapmışlar sonucunda 6 ton mikroalg biyokütlesinin kullandığı karbondioksit miktarı 12000 kg olarak bildirilmiştir. RWE alg projesi linyit yakıtlı güç santralinden temin edilen karbondioksit ile saf karbondioksit kadar başarılı olmuştur. Bir diğer çalışma İsrail Elektrik Şirketi tarafından gerçekleştirilen baca gazı kullanılarak yapılan mikroalg üretiminde normale kıyasla, üretim maliyetini düşüğünü tespit etmişlerdir.

Kanalizasyon atık suyu kullanılarak yapılan çalışmalarda, *Dunaliella tertiolecta* ve *Chlorella vulgaris* türlerinden elde edilen mikrobiyal yakıt hücrelerinden elektrik üretimi gerçekleştirilmiştir. *Dunaliella tertiolecta*'nın elektrik üretimi daha uzun süreli olduğu görülmüştür (Lakanemi 2012).

2.5. Mikroalg Kültürünü Etkileyen Parametreler

2.5.1. Işık

Mikroalg kültürleri bir ışık kaynağına ihtiyaç duyarlar. Hücreler ışık kaynağı olduğunda fotosentez ile inorganik karbonu metabolize ederek ortamda bulunan nutrientlerle organik madde sentezleyerek kimyasal enerjiye dönüştürür.

Işık, mikroalglerin büyümesi için sınırlayıcı bir faktördür. Mikroalglerin bulunduğu ortamda ışık yoğunluğu azaldığında hücrelerindeki klorofil a ve ışık tutucu pigmentlerinin klorofil b, klorofil c, fikobilinlerin değerleri artar. Işık yoğunluğu arttığında ise klorofil a ve diğer pigmentleri azaldığından fotosentez miktarında artış olur. Bu durumda, seconder karotenoidlerin üretimi artar. Karotenoidlerden, alfa karoten, beta karoten, astaksantin, lutein, zeaxantin değerlerinin artmasına sebep olur. Karotenoidler, fotonların yakalanmasını sağlar ve hücrelerde ışığın zararlı etkilerine karşı fotokoruyucu özellik gösterirler (Richmond 2004). Karotenoid indüksiyonu dalga boyundan bağımsız, ışık yoğunluğuna bağımlıdır (Ben –Amotz ve Avron 1989b).

Mikroalg kültürlerinin aydınlatılmasında dikkate alınması gereken faktörler; spektral aralık, ışığın spektral kalitesi, ışık yoğunluğu ve fotoperiyottur. 400-700 nm arasındaki dalga boyuna sahip ışık fotosentez olayında en etkili ışık olup, güneş ışığının spektral kalitesi en fazladır. Mikroalg kültürün yoğunluğu ve derinliği arttıkça ışık yoğunluğu arttırılmalıdır. Arttırılan ışık yoğunluğu, belirli doygunluğa ulaştıktan sonra da devam ederse hücreler ürettikleri enerjiyi ısıya dönüştürürler, yüksek ışık düzeylerinin devamı durumunda organizmanın dengesi bozulur, üretilen yüksek enerji sebebiyle fotosentez inhibasyonu gerçekleşir, geri dönüşümü olmayan zararlar meydana gelir. Işık inhibasyonu etkisini 15-20 dakikada %50 yi aşan hasarlar verebilir (Vonshak ve Torzillo 2003). Düşük ışık yoğunluklarıysa fotosentez olayını sınırlandırır. Mikroalg kültürlerinde, fotoperiyot uygulanabilir veya sürekli aydınlatma da yapılabilir. Optimum koşullarda hücre yoğunluğu artan kültürlerde ışığın alt katmanlara geçmemesiyle, hücreler ışıktan istenilen şekilde faydalanamaz ve biyomas artışı sınırlanır.

Astaksantin üreten, *Haematococcus pluvialis* ile yapılan deneyde en uygun ışık konsantrasyonu aralığını ve büyüme performansını belirlemek amacıyla 50, 100, 200, 400, 600 $\mu\text{mol foton m}^{-2}\text{sn}^{-1}$ olarak farklı ışık yoğunlukları uygulamışlardır. Artan ışık yoğunluğuyla, kuru ağırlık ve toplam karotenoid miktarları da doğru orantılı şekilde artmıştır. Toplam klorofil miktarını 200 $\mu\text{mol foton m}^{-2}\text{sn}^{-1}$ ışık yoğunluğuna kadar artarken, diğer ışık yoğunluklarında değişmemiştir. Hücrelerin vejetatif evrede kültürü için en uygun ışık yoğunluğu 50-200 $\mu\text{mol foton m}^{-2}\text{sn}^{-1}$ olduğu, 200 $\mu\text{mol foton m}^{-2}\text{sn}^{-1}$ ışık yoğunluklarının üzerindeki aydınlatmalarda astaksantin birikiminin tetiklendiğini, hücre sayısının azaldığını ve en iyi büyüme gözlenmiştir (Göksan ve Gökpinar 2005).

2.5.2. Sıcaklık

Dunaliella türleri 0 °C altındaki sıcaklıklardan 45°C'ye kadar sıcaklıklara tolerans gösterebilmektedir (Gordillo ve ark. 2001). Batı Avustralya'da bulunan Hutt lagününde, pilot ölçekte mikroalg üretim tesislerinde olduğu gibi düşük gece sıcaklıklarının, hücre verimini azaltarak büyüme oranını düşürdüğünü göstermiştir. Bir yandan ise, 40 °C ve üzeri sıcaklıklar hücrelerin, karotenoid indüksiyonunu arttırırken, büyüme hızını yavaşlatır (Borowitzka ve Borowitzka 1989).

2.5.3. pH

Her tür spesifik olarak belirli bir pH aralığında üreyebilir. Bir çok alg türünün kültürünü pH 7-9 aralığında yapılıır. Optimum pH aralığı ise 8,2 ile 8,7 arasındadır (Cirik ve Gökpinar 1999) *Dunaliella* türlerinin optimum pH aralığı 9-11'dir. Kültür ortamında uygun pH değerinin sağlanamaması, hücrelerin parçalanarak hücre içeriklerinin kültür ortamına geçmesine ve kültürün ölümüne yol açmaktadır.

2.5.4. Karbon

İnorganik karbon kaynağı eksikliği, yüksek tuzluluk, yüksek pH ve yüksek sıcaklık *D. salina* kültürlerinde mevcut koşullar altında en yaygın büyüme sınırlayıcı faktördür (Borowitzka ve Borowitzka 1988a). Hızlı çoğalan mikroalglerde ortamdaki karbondioksit veya bikarbonatın hızlı asimilasyonu mikroalgler tarafından ortama hidroksil iyonlarının verilmesiyle ortam pH'ı artar. Mikroalg kültürlerinde, kültürü

yapılan algin optimum şartlarda tutulması ve ortamdaki karbonun tükenmesini engellemek için ortam pH'ı dengelenmelidir (Becker 1995).

Dunaliella türleri fotosentezde öncelikle inorganik karbon kaynağı olarak CO₂ ve HCO₃ kullanır. Yüksek tuz konsantrasyonu ve yüksek sıcaklıkta karbon çözünürlüğü azalır. *Dunaliella salina* yüksek tuz konsantrasyonu ve yüksek pH değerlerinde karbon kaynağı olarak CO₂ kullanır. Mikroalg kültüründe pH değeri düştüğünde, CO₂ konsantrasyonunu artar. Düşük karbondioksit oranına sahip ortamlarda *Dunaliella salina* karbonik anhidraz seviyesini ve intrasellüler aktivitesini arttırarak adapte olurlar. İnorganik NaHCO₃ veya CO₂ eklenmesi gelişimi teşvik etmektedir. İnorganik karbon kaynağının olmaması büyüme sınırlandırıcı bir faktördür (Becker 1994).

2.5.5. Azot

Azot karbondan sonra en önemli besin elementidir. Mikroalg hücrelerinin azot oranı türden türe değişiklik göstermekte olup, hücre kuru ağırlığının % 1 ile % 10 arasında değişir. Mikroalg kültürlerinde hücrelerin kullandığı en önemli inorganik azot kaynakları nitrat azotu (NO₃⁻-N), üre azotu ((NH₂)₂CO-N) ve amonyum azotu (NH₄⁺-N)'dur.

Azot hücrenin yapıtaşı olan aminoasitlerin ve proteinlerin yapıtaşını oluşturduğu için yaşamsal öneme sahiptir. Mikroalg kültüründe azot konsantrasyonu, büyüme ve biyokimyasal yapısını etkilemekte olup, yağ asitleri ve karetenoid miktarlarındaki değişimine sebebiyet vermektedir (Xu ve ark. 2001).

Mikroalg kültürlerinde, azot sınırlaması, hücre sayısı ve klorofil a miktarlarını azaltırken, biyokimyasal kompozisyonundaki yağlar gibi organik karbon bileşikleri oranlarını arttırmaktadır. Klorofil a miktarı azalırken karotenoid miktarı artar (Sukenic 1990).

Dunaliella türleri için en iyi azot kaynağı NaNO₃ olup, nitrit ve nitratı bünyelerine alması, ışık ve tampon sistemi ile gerçekleşmektedir (Borowitzka ve Borowitzka

1988a). Mikroalglerin, nitrit ve nitratın bünyelerine almasıyla kültür ortamının bazikleşmesine sebep olurken, amonyum ilavesi kültür ortamın asitleşmesine neden olmaktadır (Becker 1994).

2.5.6. Diğer elementler

Dunaliella türlerinin büyüme ve gelişiminde fosfat fonksiyonel yapıya katıldığı için önemli bir elementtir. *Dunaliella* türlerinin büyüme ve gelişiminde yüksek fosfat konsantrasyonları (>5 g/L) büyümeyi sınırlandırıcı etki yapmaktadır (Gibor 1956). Yapılan araştırmalarda *D. salina* ve *D. viridis*'in gelişebilmesi için ihtiyaç duyulan optimum fosfat miktarının 0,02-0,025 g/L K₂HPO₄ olduğu tespit edilmiştir (Borowitzka ve Borowitzka 1988; Gibor 1956). Kültür ortamına fosfat yerine gliserofosfat eklenmesiyle *D. tertiolecta*'nın gelişmesini ve büyümesini azaltmaktadır (Borowitzka ve Borowitzka, 1988a).

Dunaliella türlerinin büyüme ve gelişimlerinde magnezyum, kalsiyum ve sodyum elementleri oldukça önemli elementlerdir (McLachlan ve ark. 1959). Optimum Ca⁺²/Mg⁺² oranının *Dunaliella tertiolecta*'da 4 olduğu tespit edilmiştir (Becker 1994). Yüksek Magnezyum yoğunluklarında ise büyümeyi sınırlandırıcı etkisi olmaktadır.

D. salina ve *D. viridis* için düşük demir konsantrasyonları olmalıdır. Gelişimleri için ihtiyaç duyulan optimum demir miktarının 1,25 - 3,75 mg/L olduğu tespit edilmiştir. Daha yüksek demir yoğunluklarında büyümeyi sınırlandırıcı bir etki gözlenmiştir (Borowitzka ve Borowitzka, 1988a). Kükürt, magnezyum, çinko, kalsiyum, molibden, potasyum, kobalt, selenyum, nikel gibi iz elementler mikroalg kültüründe organizmaların gelişmelerinde gereklidir.

2.5.7. Havalandırma ve karıştırma

Mikroalg kültürlerinin karıştırılması mikroalglerin sedimentasyonunu önleyerek, homojen dağılımını sağlar. Karıştırma ile hücre popülasyonundaki tüm hücrelerin ışık ve besin maddelerinden eşit şekilde yararlanmasını ve kültür ortamı ve hava arasındaki gaz transferini sağlar. Mikroalg kültür sisteminin ölçeğine göre; küçük ölçekteki tüpler ve erlenler elle, torbalar ve tanklar havalandırma ile, havuzlar çarklı pedallar veya pompalar ile karıştırma sağlanır (Becker 1995).

2.5.8. Tuz

Dunaliella salina'nın 0,17 M NaCl konsantrasyonundan 4 M NaCl konsantrasyonuna kadar geniş tuzluluk aralığında yaşayabildiğini gözlenmiştir (Hadi ve ark. 2008). Çelekli ve Dönmez (2001) *Dunaliella* sp. ile yapmış oldukları çalışmada 3,42 M NaCl konsantrasyonunda en yüksek beta karoten üretiminin olduğunu tespit etmişlerdir. Dudu ve ark. (2001) farklı %10- %15- %20 NaCl yoğunluklarında yapılan çalışmalarda *Dunaliella* sp.'nin en iyi büyümesi %10 NaCl konsantrasyonunda olduğunu tespit etmişlerdir.

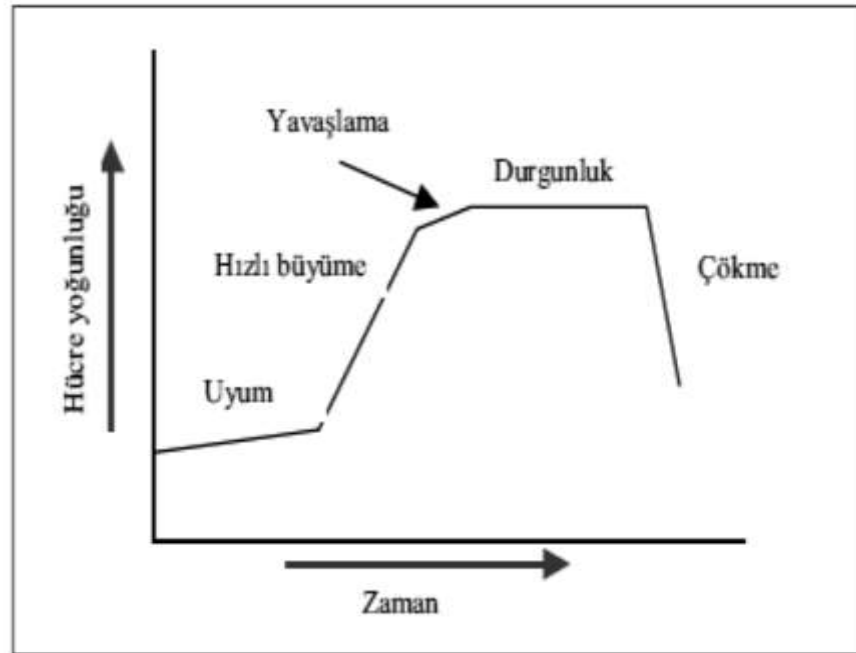
2.6. Büyüme kinetiği

Optimum fiziksel ve kimyasal şartlarda kültür ortamına izole edilen mikroalg hücrelerinin ortama adapte olmaları zaman alır. İzolasyonun sonrasında, ortama adapte olup çoğalmalarına kadar geçen süreye gecikme (lag, uyum) evresi denir. Lag uyum evresi, izolasyondaki ölü sayısına ve hücrelerin metabolik aktivitesine bağlı olarak ortaya çıkar. Gecikme fazında yavaş bir şekilde artan hücre konsantrasyonu belirli bir düzeye ulaşır ve logaritmik üstel (eksponansiyel) evresine gelinir. Hücre konsantrasyonu üstel bir şekilde artar. Logaritmik büyüme evresi sabit hacimlerdeki kesikli kültürlerde besin elementleri tükeninceye kadar devam eder. Hücre artışı belirli seviyeye ulaştınca büyüme daha fazla devam etmez. Büyümeyi sınırlandırıcı faktörler meydana gelir. Yüksek hücre konsantrasyonunda, hücreler birbirlerini gölgelemeye başlar, ışık sınırlaması olur. Işık sınırlaması fazla ışık enerjisini kullanamayan

hücrelerin oluşmasıyla da meydana gelir. Hücre büyümesi yavaşlama (Duraklama) evresine girer. Sabit fazda glikojen ve karbonhidrat oranı, üstel büyüme fazında ise protein oranı yüksektir (Mata ve ark. 2010). Duraklama evresini büyüme hızının sabit olduğu Durgunluk (sabit) evre izler. Ölü ve canlı hücreler eşit hale gelmiştir. Ölü hücrelerin sayısının giderek artmasıyla hücre konsantrasyonunda azalma olur. Azalmayı takiben mikroalg kültürü düşüş (ölüm) evresine girer. Mikroalg kültürlerinde büyüme kinetiği grafiği Şekil 2.1’de gösterilmektedir.

Büyüme evreleri:

- 1) Gecikme (lag, uyum) evresi
- 2) Üstel (eksponansiyel) evresi
- 3) Yavaşlama(duraklama) evresi
- 4) Durgunluk (sabit) evresi
- 5) Düşüş (ölüm) evresi.



Şekil 2.1. Mikroalg kültürlerinde büyüme kinetiği

2.7. Karotenoidler

Pigmentler görünür dalga boyundaki ışığı absorblayan kimyasal bileşiklerdir. Her pigmentin absorbe ettiği dalga boyu farklıdır. Pigmentlerin çeşitliliği; farklı kimyasal kompozisyonları ve spesifik kromatoforlarından kaynaklanmaktadır (Raton 1997).

Farklı mikroalg türlerinde bulunan 3 çeşit ana pigment bulunmaktadır. Klorofiller, karotenoidler, fikobilinlerdir. Klorofiller, yeşil renge olup, 450-475, 630-675 nm'de absorpsiyona sahip, klorofil a, klorofil b ve klorofil c pigmentlerinden oluşmaktadır. Karotenoidler, kırmızı, sarı, turuncu renkte olduğundan, 400-550 nm'de absorpsiyona sahip, beta karoten, alfa karoten, lutein (ksantofil), vialoksanin, astaksantin ve zeaksantin pigmentlerinden oluşmaktadır. Fikobilinler ise suda çözünebilir, mavi veya kırmızı renkte olup, 500-650 nm'de mavi renkte olan Fikosiyanin kırmızı renkte olan fikoeitrin ve allofikosiyanin pigmentlerinden oluşmaktadır (Masojidek ve ark. 2004, Cohen 2000). Karotenoidler, yağda çözünebilir moleküller olup, uygun büyüme şartlarında kloroplastta sentezlenmektedir. Ekstrem koşullar altında farklı ışık türü yüksek ışık yoğunluğu, N, P eksikliği gibi kloroplast dışında sitoplazmada sekonder karotenoidler sentezlenmektedir. Sekonder karotenoid sentezinde mikroalgin rengi yeşilden kırmızıya, turuncuya kadar renk değiştirmektedir (Horrobin 1999).

Doğal olarak oluşan 600'den fazla karotenoid pigmenti tanımlanmıştır. 100'den fazlası mikroalglerden elde edilmiştir. Beta karoten, Avustralya, ABD ve İsrail'de gıda katkı maddesi ve renklendirici olarak kullanılmaktadır. *Dunaliella* türlerinden üretilen beta karoten pigmenti, insan ve hayvan besin takviyesinde, (Pulz ve Gross 2004). Antioksidan ve renklendirici olarak farmasötik, gıda, kozmetik alanında kullanılmaktadır (Dufosse ve ark. 2005, Borowitzka, 1992, Zhang ve ark. 2014).

Dunaliella salina mikroalgi dünyadaki tüm organizmalar arasında en iyi doğal beta karoten kaynağıdır (Borowitzka 1995). *Dunaliella salina* hücrelerinin kuru ağırlığının % 14'ünden fazla beta karoten üretebilmektedir. *Dunaliella* hücresi bir havuç hücresinin 1 ila 100 katı kadar beta karoten üretebilir (Klausner 1986, Jayappriyan 2013)

Dunaliella türleri, ışık hasarına karşı korunma stratejisi olarak beta karoten üretmektedir. Beta karoten 9-cis ve all trans formunda iki stereoizomerden meydana gelmektedir. Işık düzeyi ve büyüme stresi beta karoten içeriğini ve 9 cis/all-trans beta karoten oranını etkilemektedir (Patil 2005). *Dunaliella* türünün beta karoten içeriğinin tipik kompozisyonu 9-cis (%41), all-trans (%42), 15-cis (%10) ve diğer izomerleri (%6) şeklindedir (Borowitzka ve Borowitzka 1989). 9-cis izomerler yağda çözünür ve kristalizasyonu kolaydır, all trans izomerleri ise yağda çözünmez, kristalizasyonu zordur.

Beta karoten pigmenti, peynir, margarin, süt ürünleri ve meyve sularında, gıda renklendiricisi olarak, lutein pigmenti ise gıdalarda doğal renklendirici olarak ve sağlık sektöründe kullanılmaktadır. Astaksantin pigmenti ilaç ve gıda sanayinde renk pigmenti olarak hayvanlarda, fikoeritrin pigmenti doğal renklendirici olarak gıdalarda, kozmetik ve eczacılık sektöründe, fikosiyonin pigmenti ise, gıda ilaç ve kozmetik sanayilerinde kullanılmaktadır (Çelikel ve ark. 2006). Beta karotenin besinlerde belirli bir oranda kullanımına izin verilmektedir. Günlük içeceklerde, yoğurtta, jellerde ve marmelatlarında süt ve süt tozlarında, izin verilen maksimum miktarı 1000 mg/kg kadardır. Taze et ile krema türevlerinde izin verilen maksimum kullanım miktarı ise 20 mg/kg kadardır.

Karotenoid pigmentinin hayvan yemlerine eklenmesiyle, balık etinin ve yumurta sarısının rengini arttırdığı, beslenen sığırların sağlığını ve verimliliğini arttırdığı gözlenmiştir (Borowitzka ve Borowitzka 1988b). Beta karoten preparatlarının, melanom (Comstock ve ark. 1991), baş ve boynun epidermoid kanserleri (Shklar ve ark. 1989). gibi deri kanserlerini, insan ve hayvanlarda çeşitli tümör tiplerini inhibe ettiği gösterilmiştir. Gastrointestinal sistem kanserleri (Stich ve ark. 1988), pankreas (Woutersen ve ark. 1988), göğüs kanseri ve sekresyon bezlerinin kanserlerinde (Van Poppel 1993), kolesterol seviyelerini kontrol etmede ve miyokard enfarktüsü ve koroner kalp hastalığı gibi kardiyovasküler hastalık riskini azaltmada etkilidir (Riemersma ve ark. 1991, Tornwall ve ark. 2004).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Örnekleme Alanı

3.1.1. İzmir Çamaltı tuzlası

İzmir Çamaltı tuzlası, Türkiye'nin deniz menşeli en büyük tuzlası ve mühim tuz üretim tesisidir. İzmir Çamaltı Tuzlası, Gediz Nehri havzasına kurulan İzmir Şaşalı Beldesi Çiğli'de bulunmaktadır. 38° 30 dk, 18 sn. Kuzey, 26° 54 dk. 55 sn. doğu koordinatlarında bulunmaktadır (Koru 2013).

İzmir Çamaltı tuzlasının geçmişi, MÖ 250-300 yıllarına dayanmaktadır. 1671-1672 yıllarında Evliya Çelebi'nin 'Seyahatname'sinde adı Tuzla-i Melemeniyeye olarak geçmektedir. 2010 yılında özelleştirme kapsamında Binbir Gıda Tarım Ürünleri A.Ş.'ne devredilmiş olup tuzlanın son kapasitesi 600.000.000 kg'dır (Anonim 2016).

Çamaltı Tuzlası 161.000 m² sahada buharlaştırma havuzları ve 3.158.000 m²'lik sahada kristalizasyon havuzlarına sahiptir. Tuzla, 1. ve 2. tuzla, su depolama sahası, kristalizasyon havuzları olarak 4 temel bölümden oluşmaktadır (Koru 2013). Şekil 3.1'de İzmir Çamaltı Tuzlasının görüntüsü verilmiştir. Su depolama havuzları 3,5–5, buharlaştırma havuzları % 5–15, kristalizasyon havuzları % 15–30 tuzluluk oranlarına sahiptir. Tuz üretim bölümleri 0,5–1,0 m derinlikte, tuz havuzları ise 1,5 m derinliktedir. Tuz parsellerinin zemini topraktan oluşmuştur. Pompalarla tuzlanın denize bağlantısı sağlanmaktadır. Pompalar aracılığıyla, deniz suyu aşamalı olarak tuz kristalizasyon havuzlarına ve bütün sahaya ulaştırılmaktadır (Koru ve Cirik 2001, Koru 2004, Koru 2013).

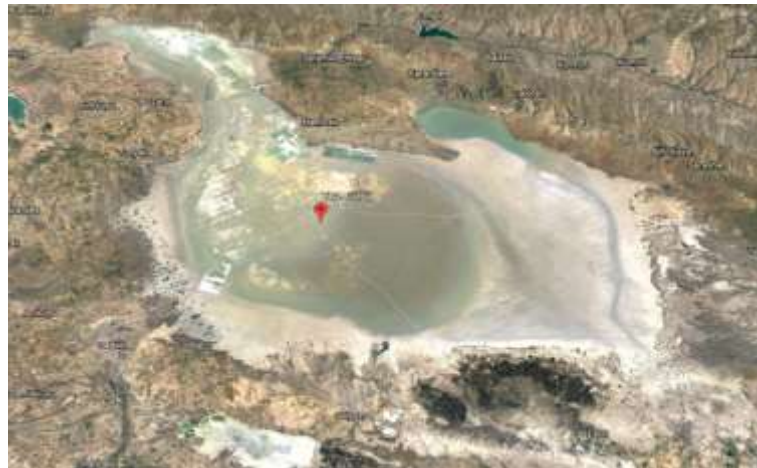
Tuz üretim işleminde; ardışık havuzlara pompalanan deniz suyunun güneş ve rüzgar gücüyle buharlaşmasıyla tuz çöktürülür. İlk önce, CaCO₃ (100-120 ppt) ve CaSO₄ (180 ppt) çöker. Su hacmi 1/10 oranında azaldığında (300-350 ppt) NaCl çökmeye başlar ve toplanır (Madkour ve Gaballah 2012). Havuzlardaki tuzluluk değişikliği sebebiyle, ekolojik değişiklikler gözlenir. Artan tuzluluk değişimleri biyoçeşitliliğin azalması ve mikroskobik organizmaların baskın hale gelmesiyle sonuçlanmaktadır (Benlloch ve ark. 2002).



Şekil 3.1. İzmir Çamaltı Tuzlası görüntüsü

3.1.2.Tuz Gölü

Tuz Gölü, İç Anadolu Bölgesi'nde, Konya, Ankara ve Aksaray şehirlerinin sınırında yer alır. Türkiye'nin en büyük ikinci gölüdür. Türkiye'nin tuz ihtiyacının % 40' ı Tuz Gölü'nden temin edilir. Tuz Gölü süzülen suların daha önce bulunan tuz domlarını eritmesi ve yüzeye taşınmasıyla meydana gelmektedir. Ortalama olarak 1-2 m derinliğe, 80 km uzunluğa, 100 m genişliğe, 1.665 km² alana, 11.900 km² havzaya sahiptir. Coğrafik olarak 38°50' kuzey, 35°20' doğu koordinatlarındadır. Şekil 3.2'de Tuz Gölü'nün uydu görüntüsü verilmiştir.



Şekil 3.2. Tuz Gölü'nün uydu görüntüsü

3.2. Kùltür Ortamının Hazırlanması

3.2.1. Kùltür ortamı hazırlanması

Bu tez çalışması 2016 yılında Bursa Teknik Üniversitesi Doğa Bilimleri ve Mimarlık ve Mühendislik Fakùltesi Merinos Yerleşkesi Biyomühendislik laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Her türün ekolojik ihtiyaçlarına uygun kùltür ortamı hazırlanmıştır. Her türün ihtiyacı olan autekolojik ortamlar sıcaklık, aydınlatma, tuzluluk, ph, havalandırma, oksijen seviyesi, su seviyesinin derinliği farklı olduğundan ideal şartlar hazırlanmıştır (Watanabe 1985).

3.2.1.1. Sterilizasyon

Mikroalg kùltürü için kullanılacak cam malzemeler fırçalanarak ovulmuş, iyice durulanmıştır. Cam malzemeleri yıkama işleminden sonra %1 HCl içeren asit solüsyonunda bekletildikten sonra saf suda bekletilerek durulama işlemi yapılmıştır. İnkübasyon ve mikroalg kùltür ortamını oluşturmak için kullanılan Marmara denizinden alınan kùltür ortamı hazırlamak için kullanılacak deniz suyu 0,45 µ (whatman GF/c) fiberglas filtreden süz÷lmüştür. Kùltür ortamı için kullanılacak cam kaplar ve deniz suyu 121°C'de 1,5 atmosfer basınç altında, minimum 15 dakika, ortalama 30 dakika sterilize edilmiştir (Guillard 1975).

3.2.1.2. Plymouth Erdscheriber ortamı (PES)

3.2.1.2.1.Çözeltilerin hazırlanması

Plymouth Erdscheriber (PES) ortamı Tompkins ve ark. (1995). metoduna göre hazırlanmıştır. Çizelge 3.1'de Plymouth Erdscheriber ortamı verilmiştir. Çözeltilerin hazırlanması aşamasında, cam kaplarda bulunan, stok 1, 2, 3, 4 ve filtre deniz suları ayrı ayrı otoklavlanmış ve soğutulmuştur. 3M'lık hazırlanan NaCl çözeltisi çökme olmaması için buzdolabına konulmadan bekletilmiştir. 50 ml steril falkon tüpü içerisinde 10 gr Plant İstanbul toprağı, 20 ml saf su içerisine konularak önce manuel çalkalama yapılmıştır. Ardından, 121° C'de 15 dakika otoklavlanma, karışım Beckmann Microfuge santrifüjde (Beckman Kaliforniya, ABD) 4500 rpm'de 5 dakika santifürlenmiştir. Santrifüj işleminden sonra, 2 kez 0,2 µ (whatman GF/c) fiberglas

filtrelerden geçirilmiştir. Tekrardan 121 °C’de 15 dk otoklavlanarak toprak ekstraktı hazırlanmıştır.

Çizelge 3.1. Plymouth Erdscheriber ortamı

Stok	Bileşenler	Miktarları
Stok 1	NaNO ₃	10 gr
Stok 2	Na ₂ HPO ₄ .2H ₂ O	0,497 gr
Stok 3	NaCl	X
Stok 4	Toprak ekstraktı	-
Stok 5	Filtre deniz suyu	X

3.2.1.2.2. Ortam hazırlanması

PES ortamı hazırlamak için, İzmir Çamaltı tuzlasından alınan, deniz suyunun YSI Professional plus portatif multiparametre ölçer ile tuzluluk ölçümü yapılmıştır. Marmara denizinden alınan deniz suyunun tuzluluk değeri 28 ppt’dir. Biyogüvenlik kabini, (Telstar biovanguard Terrassa, İspanya) işlem öncesi sterilizasyon için, % 70’lik etil alkolle temizlenmiş, 40 dakika UV modunda bekletilmiştir. 165 ppt’lik 1000 ml PES otamı hazırlamak için, ml’lik Kültür ortamlarının stok çözeltileri birleştirme işlemi, Çizelge 3.2’de verilen miktarlarda yapılmıştır. Kontaminasyonun önlenmesi amacıyla her cam kapağın açılıp kapanması bek alevi altında gerçekleştirilmiştir. Birleştirilen kültür ortamının pH’ı 8 e ayarlanmıştır. Kültür ortamı tuzluluğu 2,6 M NaCl konsantrasyonunda ayarlanmıştır.

Çizelge 3.2. Plymouth Erdscheriber ortamı hazırlanması

Pes (ppt)	Deniz suyu (ppt)	Stok 1 (ml)	Stok 2 (ml)	Stok 3 (ml)	Stok 4 (ml)	Stok 5 (ml)
165 ppt	28 ppt	1ml	1ml	631,64 ml	50 ml	316,36 ml

3.3.Örnekleme ve *Dunaliella* İzolasyonu

3.3.1.Örnekleme

Arazi çalışmasında steril edilmiş plastik kaplara toplanılan örnekler 2 gün içerisinde hazırlanan kültür ortamına aktarılmıştır. Eğer araziden toplanılan materyaller bekletilmek zorunda kalırsa, karanlık veya az ışıklı bir ortamda muhafaza edilmelidir (Guillard 2004).

3.3.2. Arazi çalışmasından getirilen su örneklerinden mikroalg izolasyonu

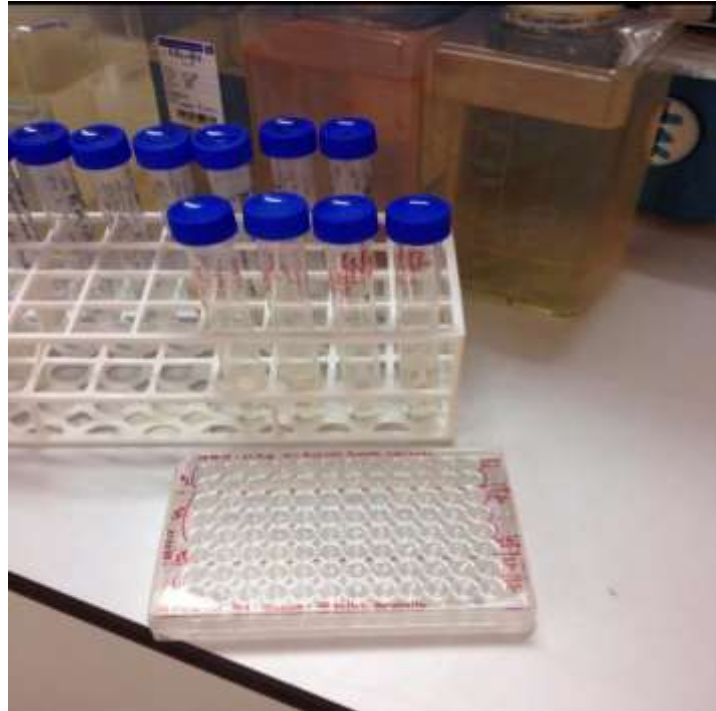
Kültür ortamına yani besi yerine üretilmesi amaçlanan türe ait canlı hücrelerin ilavesine ekim aşılama denir. Ekim işleminin bakteriyolojik tekniklere uygun bir şekilde, aseptik koşullarda yapılması gerekir (Cirik ve Gökpınar 1999).

Araziden getirilen steril edilmiş plastik kaplardaki İzmir Çamaltı tuzlası, tuz havuzundan ve Tuz Gölünden alınan örnekleme kapları % 70'lik etil alkolle steril edilmiş bençteki Olympus CKX41 inverted mikroskopta (Olympus, Tokyo, Japonya) steril lamel altında incelenmiştir. İzolasyonu yapılmak istenen mikroorganizmalardan *Dunaliella* türleri teşhis edilerek seyreltme yöntemiyle veya tek hücre izolasyon yöntemiyle mikroplakalara izole edilmiştir. İzolasyon ve seyreltme işlemlerinde Eppendorf mikropipetler (Eppendorf, Hamburg, Germany) kullanılmıştır. Seyreltme yönteminde örnekleme kabından mikropipetle 1 ml alınıp 9 ml kültür ortamı bulunan tüplere aktararak % 10 oranında seyreltme işlemi yapılmıştır. Tekrardan % 10 oranında seyrettiğimiz tüpteki sıvıdan pastör pipetiyle 1 ml alınıp 9 ml kültür ortamı bulunan tüpe aktardığımızda % 0,1 oranında seyreltmiş oluruz. Bu seyreltmeler mikroplakalara da yapılmıştır. Bu işlemlerin tekrarlanmasıyla % 0,1, % 0,01, % 0,001 seyreltilmiş örnek sıvıları gelişmeye bırakıldığında, birkaç tür gelişecektir.

Seyreltme yönteminin yanında lamel üzerinde *Dunaliella* türleri teşhis edilerek mikroplakalara ve falkon tüplere tek hücre izolasyonu yapılmıştır. Şekil 3.3'de Arazi çalışmasından getirilen örnekleme kapları ve 15 ml'lik falkon tüplere ve mikroplakaya

izole edilen mikroalg hücreleri görülmektedir. Kültür ortamındaki bireylerin sıcaklık şokuna uğramaması için ve kültür ortamının da aynı sıcaklıkta olmasına dikkat edilmelidir (Sukatari 2002).

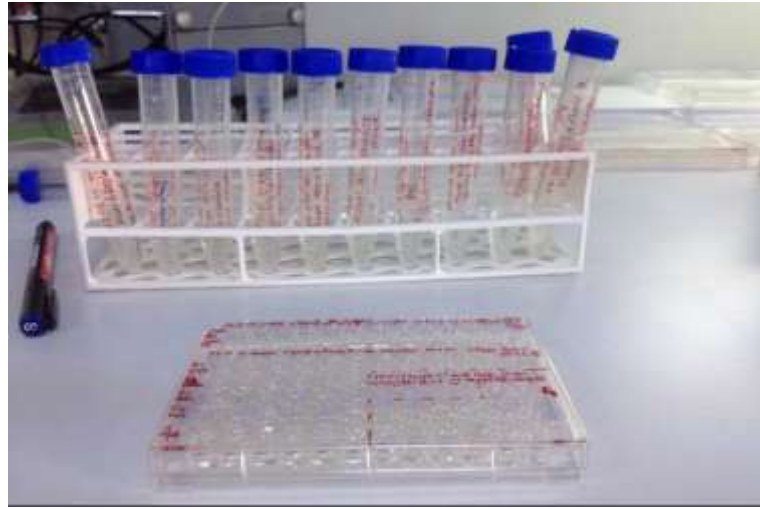
Seyreltme yöntemiyle izole edilen mikroalglerden bir kaç hafta içerisinde birden fazla tür baskın olarak çoğalmıştır. Mikroplakalardan yada 15 veya 50 ml'lik steril falkon tüplerinden alınan kültür, lamel üzerine damlatılmıştır. Mikroskopta istenilen *Dunaliella* türlerinin üzerine 300 µl'lik 165 ppt taze PES kültür ortamı damlatılarak kültür ortamında bulunan partiküllerden arındırılmıştır. Kültür ortamı damlatılarak temizlenen *Dunaliella* hücreleri ve diğer hücreler birbirinden uzaklaşmıştır. Lamel üzerine ortam damlatılarak temizleme işleminde kültür seyreltilmiş, hücre sayısı azalmıştır. Hücre sayısı azaldığından *Dunaliella* hücrelerini mikropipetle alma işlemi daha kolay gerçekleşmiştir. 0,5 µl'lik Eppendorf mikropipet (Eppendorf, Hamburg, Germany) aracılığıyla tek hücre izolasyonu yapılmıştır.



Şekil 3.3. Arazi çalışmasından getirilen örnekleme kapları ve 15 ml'lik falkon tüplere ve mikroplakaya izole edilen mikroalg hücreleri

3.3.3. Saf kültür ve Stok kültür eldesi

Laboratuvar şartlarında amaca uygun izole edilip, istenilen hacimde çoğaltılıp, üretilen, popülasyonlara kültür denir. Mikroalg kültürünün içerisinde üretilmesi hedeflenen tek tür mikroorganizmayı barındıran kültüre ise Saf kültür denir. Saf kültür elde etmek amacıyla mikropkaya ve falkon tüplere tek hücre izolasyonları yapılmıştır (Şekil 3.4). Tek hücre izolasyonu ile mikropkaya ekim yaptığımız hücreler gelişim ve çoğalma göstererek biyokütle artışı gözlenmiştir. Saf kültür elde etme işleminde, 15 ml'lik falkon tüplerinde ve mikropkalarda tekrarlı bir şekilde tek hücre kültürü elde edilene kadar mikroskop altında incelenip, belirlenmiştir. 2-3 hafta boyunca elle mekanik çalkalama ve vorteks ile karıştırma işlemi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen yoğun *Dunaliella* kültürleri 250 ml'lik steril edilmiş erlenlere aktarılmış olup, 24 °C±1 °C 'de biyoiklim kabininde inkübasyona bırakılmıştır. İzole edilen tüpler stok kültürlerdir. Şekil 3.5.'de falkon tüplerdeki stok kültürlerin kopyalanması gösterilmiştir. Şekil 3.6'da Biyoiklim kabininde bulunan stok kültürler gösterilmiştir.



Şekil 3.4. Mikropkaya ve falkon tüplere tek hücre izolasyonları



Şekil 3.5. Falcon tüplerdeki stok kültürlerin kopyalanması



Şekil 3.6. Biyoiklim kabininde stok mikroalg kültürleri

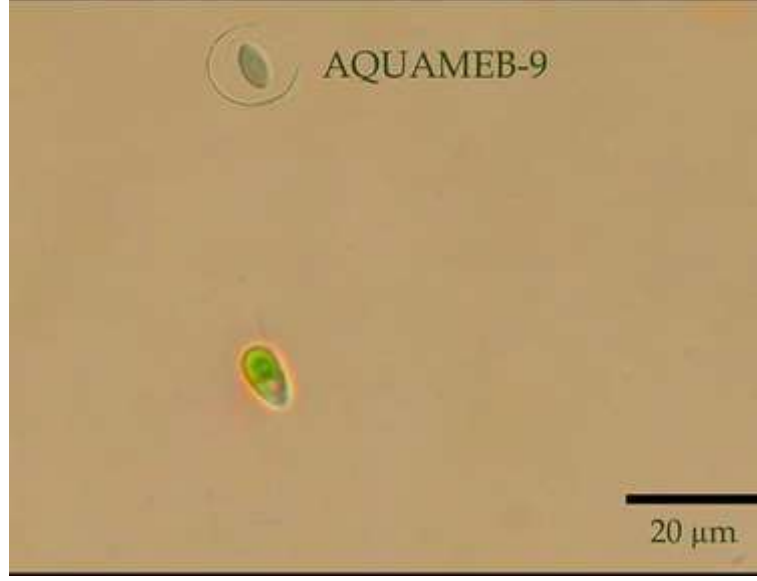
3.4. *Dunaliella* sp. AQUAMEB 9 ve AQUAMEB 20 Suşlarının Büyüme Deneyleri

Mikroalg büyüme deneyleri Şubat 2017 ve Eylül 2017 tarihleri arasında yapılmıştır. *Dunaliella* suşlarında ekstrem şartlarda stres koşullarında organizmanın koruyucu mekanizması olarak karotenoid üretim miktarı artmaktadır. Genetik ve görsel olarak farklı renk ve morfolojilere sahip olan AQUAMEB 9 ve AQUAMEB 20 *Dunaliella* sp. suşları PES kültür ortamında sabit sıcaklıkta $24 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$ ve düşük ışık yoğunluklarında ve ($65 \text{ } \mu\text{mol.foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) yüksek ışık yoğunluklarında, ($650 \text{ } \mu\text{mol.foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) büyüme deneyleri yapılmıştır. Işık kaynağı olarak beyaz LED lambalar kullanılmıştır. Deney düzeneğindeki beyaz LED lambanın üzerini gözenekli perdelerle kapatılarak, düşük ışık yoğunlukları elde edilmiştir. Deney düzeneğimize ışık yoğunluklarını Li-Cor LI-190SA kuantum sensörü (Li-Cor, Lincoln, Nebraska, USA) ölçülerek belirlenmiştir. Karanlık ve aydınlık evre süreleri 12 saat periyotlar olarak ayarlanmıştır (Lee ve ark. 2015). AQUAMEB 9 suşları düşük ışık yoğunlukları 3 ve yüksek ışık yoğunlukları 2 tekrarlı olmak üzere $24 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$ 'de 49 gün boyunca, AQUAMEB 20 ise düşük ve yüksek ışık yoğunluklarında 3 tekrarlı olarak $24 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$ 'de 32 gün boyunca büyütülmüştür. *Dunaliella* suşlarının büyümesini belirlemek için 3 günde bir alınan kültür örneklerinin hücre sayımları yapılmıştır. AQUAMEB 9 suşlarından 0, 16, 32 ve 49. günlerde, AQUAMEB 20 suşlarından 0, 16 ve 32 günlerinde total karotenoid ve klorofil pigment ölçümleri için 10 ml numune alınmıştır. Alınan pigment numuneleri $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de, 4500 rpm'de 10 dk (Beckman Allegra, X 30R, Beckman Coulter, CA, USA) santrifüjlenerek, peletler analizlere kadar $-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de dondurucuda saklanmıştır.

3.4.1. Büyüme deneylerinde kullanılan *Dunaliella* sp. AQUAMEB 9 ve AQUAMEB 20 suşları

3.4.1.1. AQUAMEB 9

Tez çalışması deneylerinde kullanılan BTÜ Mikroalg Kültür koleksiyonundan *Dunaliella* sp. AQUAMEB 9 suşunun mikroskop görüntüsü, Şekil 3.7'de tür bilgileri Çizelge 3.3'de verilmiştir.



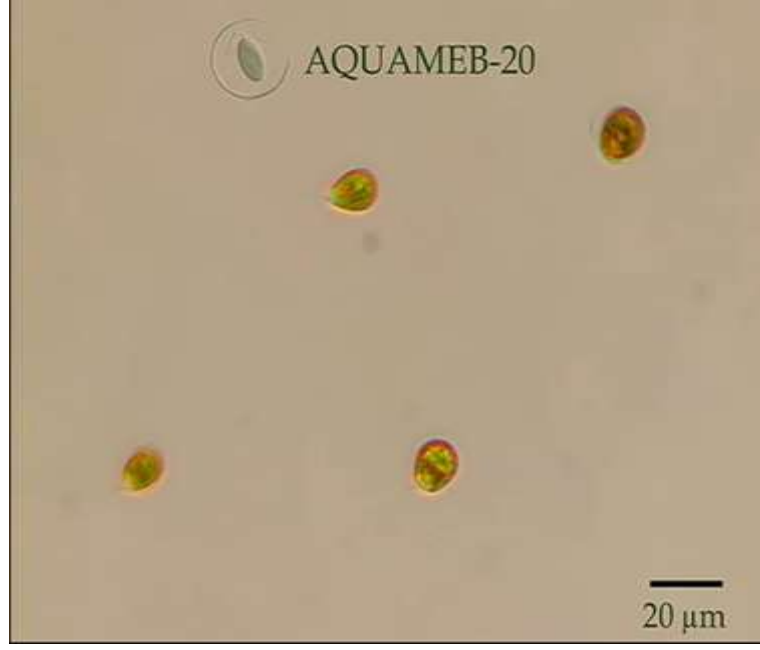
Şekil 3.7. AQUAMEB 9, İzmir Çamaltı tuzlasından 285 ppt tuzluluktan izole edilen halotolerant bir suş olan *Dunaliella* sp.'nin mikroskop görüntüsü (Yılmaz 2016a).

Çizelge 3.3. BTÜ Mikroalg Kültür koleksiyonundan AQUAMEB 9

Adlandırma numarası	AQUAMEB 9
Sınıfı	Chlorophyceae
Tür	<i>Dunaliella</i>
Cins	<i>Dunaliella</i> sp.
Koleksiyon numarası	Çamaltı tuzlası, İzmir-Türkiye, K1 kristalizasyon havuzu
Koleksiyon tarihi	27.04.2015
İzole eden	Mete Yılmaz / Gizem Dönmez
Kültür ortamı	165 ppt PES

3.4.1.2. AQUAMEB 20

Tez çalışması deneylerinde kullanılan BTÜ Mikroalg Kültür koleksiyonundan *Dunaliella* sp. AQUAMEB 20 suşunun mikroskop görüntüsü, Şekil 3.8'de tür bilgileri Çizelge 3.4'de verilmiştir.



Şekil 3.8. AQUAMEB 20, Tuz Gölünden izole edilen halotolerant bir suş olan *Dunaliella* sp.'nin mikroskop görüntüsü (Yılmaz 2016b).

Çizelge 3.4. BTÜ Mikroalg Kültür koleksiyonundan AQUAMEB 20

Adlandırma numarası	AQUAMEB 20
Sınıfı	Chlorophyceae
Tür	<i>Dunaliella</i>
Cins	<i>Dunaliella</i> sp.
Koleksiyon numarası	Tuz Gölü, Türkiye
Koleksiyon tarihi	25.07.2015
İzole eden	Mete Yılmaz / Mihriban Özen
Kültür ortamı	165 ppt PES

3.4.2. *Dunaliella* sp. AQUAMEB 9 ve AQUAMEB 20 suşlarında Total karotenoid Miktarının belirlenmesi

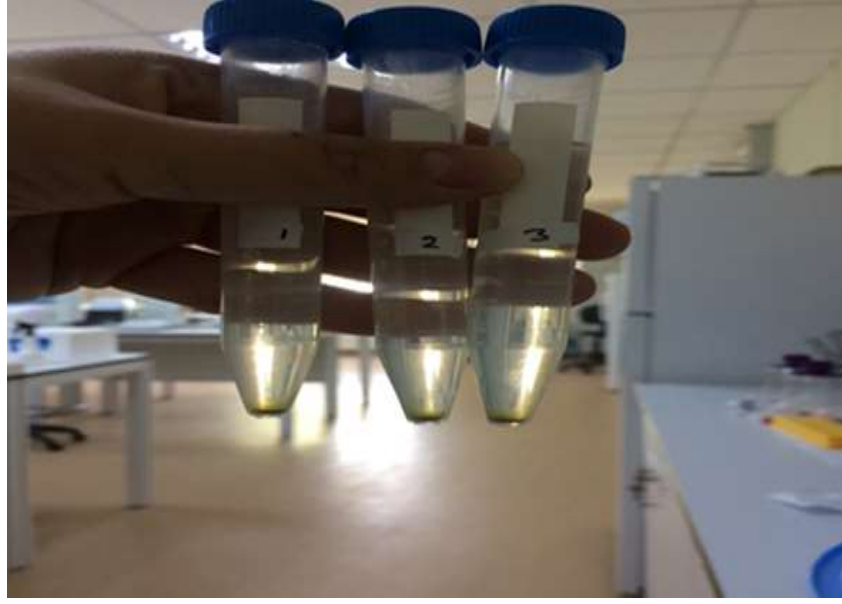
Dunaliella suşlarının büyüme deneyleri sırasında beta karoten ekstraksiyonu için 3 günde bir steril falkon tüplere alınan 10 ml'lik örnekler Şekil 3.9'da gösterilmiştir. -20°C'de dondurucuda muhafaza edilmiş, örnekler deney esnasında buz kalıbı üzerinde bekletilmiştir. Beta karoten ekstraksiyonu için çözücü olarak saf aseton (Merck) kullanılmıştır. Örnek ve çözücünün iyi bir şekilde nüfus edebilesi için vortekslenmiştir. 4 °C'de 4000 xg'de 10 dk Beckman Allegra (Beckman, Kaliforniya, ABD) santifürijde çöktürülmüştür. Ksantofil miktarı ve beta karoten miktarının toplamı Toplam karotenoid miktarını verir. Toplam karotenoid miktarı total pigment ekstraktından hesaplanmıştır (Çizelge 3.5). Klorofil a ve klorofil b'nin maksimum absorpsiyon yaptığı 661,6 nm ve 644,8 nm dalga boylarındaki ölçümleri ve karotenoid pigmentlerinin en iyi absorpsiyon yaptığı dalga boyunda 470 nm' de ölçüm yapılmıştır. 470 nm dalga boyundaki absorbans değerinde karotenoidlerin absorpsiyonunun yanısıra çok düşük miktarda klorofil a ve klorofil b'nin absorpsiyonu olmaktadır. Bu yüzden 470 nm'de ölçülen klorofil a ve klorofil b değerlerinin belirli katsayılarla çarpılmasıyla total karotenoid miktarı hesaplanmıştır (Pisal ve ark. 2005). Ekstraksiyon sonrasında, süpernatantlar VWR UV-1600 PC Spektrofotometrede (VWR, Pensilvanya, ABD) ölçülmüştür. Ölçülen absorbans değerlerindeki miktarlar formülde yerlerine yazılarak total karotenoid miktarları hesaplanmıştır. Denklem (3.1) (3.2) (3.3) (3.4) görüleceği üzere, Ca, klorofil a konsantrasyonunu ($\mu\text{g/mL}$), Cb, klorofil b konsantrasyonu ($\mu\text{g/mL}$), C(x+b), total karotenoid konsantrasyonu ($\mu\text{g/mL}$) göstermektedir. Karotenoid miktarlarının aynı gündeki optik yoğunluk değerlerine bölünmesi birim biyomas başına düşen total karotenoid miktarlarını vermektedir (Lichtenthaler 1987).

$$Ca = 11.24 \times A661.6 - 2.04 \times A644.8 \quad (3.1)$$

$$Cb = 20.13 \times A644.8 - 4.19 \times A661.6 \quad (3.2)$$

$$Ca+b = 7.05 \times A661.6 - 18.09 \times A644.8 \quad (3.3)$$

$$Cx+c = 1000 \times A470 - 1,90 \times Ca - 63,14 \times Cb \quad (3.4)$$



Şekil 3.9. Beta karoten ekstraksiyonu için alınan örnekler

3.4.3. *Dunaliella* sp. AQUAMEB 9 ve AQUAMEB 20 suşlarının büyüme oranlarını belirlemek için hücre sayımı

Hücre sayımı için *Dunaliella* sp. AQUAMEB 9 suşları için 4 defa, AQUAMEB 20 suşları için ise 3 defa kültür örneği alınmıştır. Hücre sayımı için 2 ml'lik ependorf tüplere 1,5 ml örnek alınarak, 30 µl lügol solüsyonuyla hücreler fikse edilmiştir (Şekil 3.12). Ependorf tüpleri önce biyofilm ardından alüminyum folyo ve siyah plastik ambalaj ile sarılarak ışık geçirmeyen karanlık ve serin bir ortamda muhafaza edilmiştir. Fikse edilen örneklerin hücre sayımları Olympus CKX41 inverted mikroskop (Olympus, Tokyo, Japonya) altında Utermohl metodla sayılmıştır. Her örnekten 1 ml numune alınarak, 20 µl lügol solüsyonu eklenmesiyle kültürler Utermohl haznelinde çöktürülmüştür (Şekil 3.12). Örneklerden mikroskopta 20 fotoğraf alınarak,

AQUAMEB 9'dan 3000, AQUAMEB 20' den 4800 fotoğraf olmak üzere Image J programında hücre sayımları yapılmıştır (Hötzel ve Croomee 1999).

Orijinal kültürlerin birim hacmine düşen hücre sayısı Şekil.3.10' da verilen formülle hesaplanmıştır.

$$\text{Toplam hücre sayısı} = \frac{(\text{sayılan hücre sayısı} \times \text{Utermöhl toplam taban alanı})}{(\text{Bir fotoğraf alanı} \times \text{sayım yapılan fotoğraf sayısı} \times \text{çöktürülen hacim})}$$

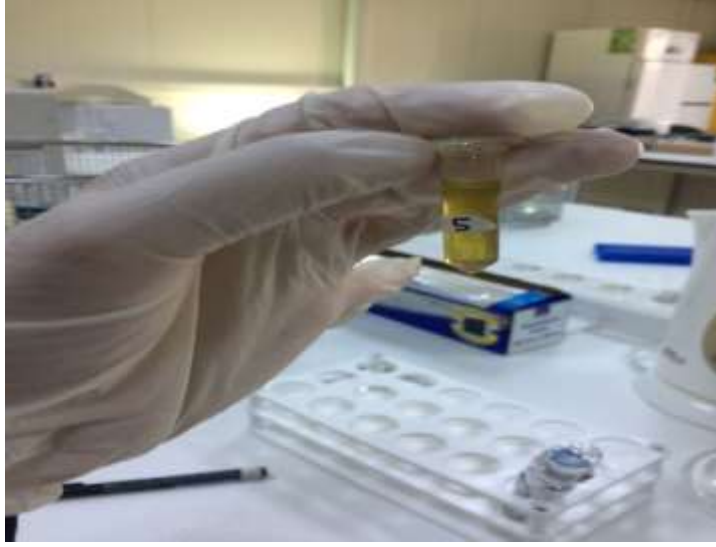
Şekil 3.10. Kültürlerin birim hacmine düşen hücre sayısı hesaplama formülü

3.4.3.1. Lügol solüsyonu hazırlanması

1000 ml lügol solüsyonu hazırlamak için, çekerocakta 900 ml saf suya 100 gr KI ilave edilmiştir. Çözündükten sonra 50 gr I ilavesiyle, 1-3 saat tamamen çözünene kadar manyetik karıştırıcıyla karıştırılmıştır. Çözündükten sonra 100 ml glasiyal asetik asit ilave edilerek homojenizasyon olana kadar 1 saat karıştırılmıştır (Çizelge 3.5). Hazırlanan lügol çözeltisi biyofilm, alüminyum folyo ve siyah plastik ambalaja geçirilerek serin ve karanlık ortamda muhafaza edilmiştir.

Çizelge 3.5. Lügol solüsyonu içeriği

Lügol solüsyonu	1000 ml
KI (Potasyum iyodür)	100 gr
I (İyodat)	50 gr
Glasiyal asetik asit	100 ml



Şekil 3.11. Hücre sayımı için alınan lügollü örnek

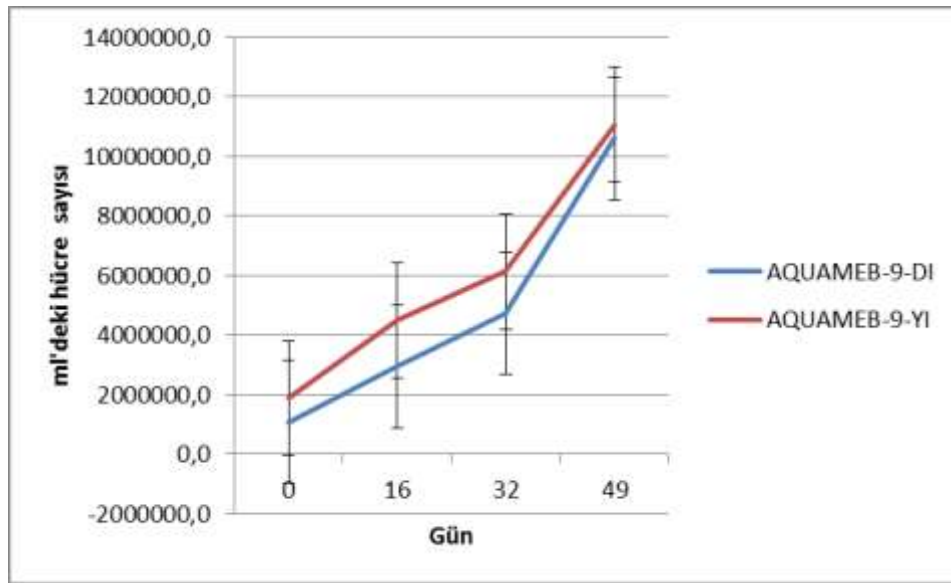


Şekil 3.12. Uthermohl görüntüsü

4. BULGULAR

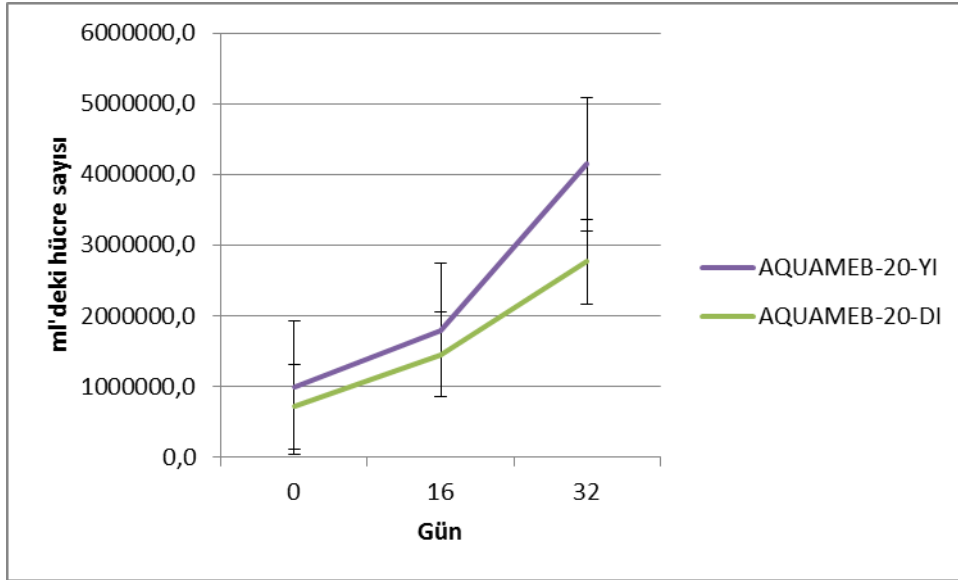
4.1. *Dunaliella* sp. AQUAMEB 9 ve AQUAMEB 20 Suşlarında Hücre Sayımı ve Büyüme Grafikleri

AQUAMEB 9 suşunun yüksek ışık ve düşük ışık altındaki tekrarlarından 16 gün aralıklarla alınan örneklerden hücre sayımı yapılmıştır ve hesaplanan hücre sayıları yardımıyla büyüme grafikleri oluşturulmuştur. Büyüme grafikleri incelendiğinde, düşük ışıktaki tekrarlar 32. güne kadar doğrusal bir büyüme göstermiş ve 32. günden itibaren de artan bir ivmeyle doğrusal büyümeye devam etmiştir. Yüksek ışıktaki tekrarlar 16. güne kadar doğrusal büyüme göstermiş; 16 ile 32. gün arasında azalan ivmeyle büyümeye devam edip 32. günden itibaren ivmesini arttırarak büyümeye devam etmiştir. AQUAMEB 9 *Dunaliella* sp. suşunun ($65 \mu\text{mol.foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) düşük ışık yoğunluğunda yetiştirilen kültürlerinde hücre sayısı $10,5 \times 10^6$ hücre/ ml^{-1} , ($650 \mu\text{mol.foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) yüksek ışık yoğunluğunda yetiştirilen kültürlerinde, $11,05 \times 10^6$ hücre/ ml^{-1} olarak hesaplanmıştır. 49 günlük büyüme periyodunda AQUAMEB 9'un düşük ve yüksek ışıktaki tekrarları karşılaştırıldığında belirgin bir fark görülmemiştir (Şekil 4.1).



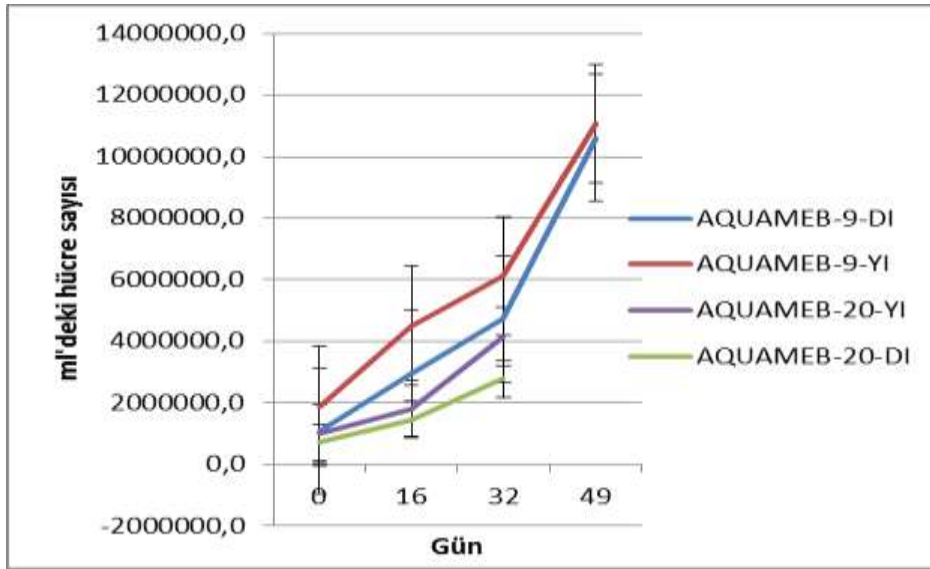
Şekil 4.1. *Dunaliella* sp. AQUAMEB 9 suşunun düşük ($65 \mu\text{mol.foton. m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) ve yüksek ($650 \mu\text{mol.foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) ışık yoğunluklarında büyüme eğrileri. Hata çubukları tekrarlar arasındaki varyansı gösteren standart hatayı belirtmektedir. (DI: düşük ışık, YI: yüksek ışık)

AQUAMEB 20 suşunun yüksek ışık ve düşük ışık altındaki tekrarlarından 16 gün aralıklarla alınan örneklerden hücre sayımı yapılarak hesaplanan hücre sayıları yardımıyla büyüme grafikleri oluşturulmuştur. AQUAMEB 20 suşunun büyüme grafikleri incelendiğinde, düşük ve yüksek ışıktaki tekrarları 16. güne kadar her ikisi de doğrusal bir büyüme göstermiştir. 16. günden itibaren AQUAMEB 20'nin düşük ışık altındaki tekrarları, 32. güne kadar doğrusal büyümeye devam etmiştir. AQUAMEB 20'nin yüksek ışık altındaki tekrarları ise artan bir ivmeyle doğrusal büyüme göstermiştir. AQUAMEB 20 *Dunaliella* sp. suşunun hücre sayıları düşük ışık ($65 \mu\text{mol.foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) yoğunluğunda yetiştirilen kültürlerinde $2,7 \times 10^6$ hücre/ ml^{-1} , yüksek ışık ($650 \mu\text{mol.foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) yoğunluğunda yetiştirilen kültürlerinde, $4,1 \times 10^6$ hücre/ ml^{-1} olarak hesaplanmıştır. 32 günlük bir büyüme periyodunda AQUAMEB 20'nin yüksek ışık altındaki tekrarlarının düşük ışıktaki tekrarlarıyla karşılaştırıldığında AQUAMEB 20'nin yüksek ışık altındaki tekrarlarının hücre sayıları arasında artan belirgin bir fark görülmüştür. AQUAMEB 20'nin yüksek ışık yoğunluklarındaki suşlarının tekrarlarında da daha iyi büyüme gelişme gösterdiğini hücre sayısındaki artıştan söyleyebiliriz (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. *Dunaliella* sp. AQUAMEB 20 suşunun düşük ($65 \mu\text{mol.foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) ve yüksek ($650 \mu\text{mol.foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) ışık yoğunluklarında büyüme eğrileri. Hata çubukları tekrarlar arasındaki varyansı gösteren standart hatayı belirtmektedir. (DI: düşük ışık, YI: yüksek ışık)

Laboratuvar şartlarında gerçekleştirilen deneyler sonucunda yüksek ışık ve düşük ışık tekrarları karşılaştırıldığında, AQUAMEB 9'un hem yüksek hem düşük ışık tekrarlarının AQUAMEB 20'den daha iyi büyüme gösterdiği tespit edilmiştir. Işık şiddetlerine göre türlerin büyüme özellikleri karşılaştırıldığında ise yüksek ışık altında her iki türün tekrarlarında düşük ışık tekrarlarına göre daha iyi büyüme gözlenmiştir. Yüksek ışık yoğunluğunun hücre büyümesi üzerine olumlu etkisinin olduğu söyleyebiliriz (Şekil 4.3).

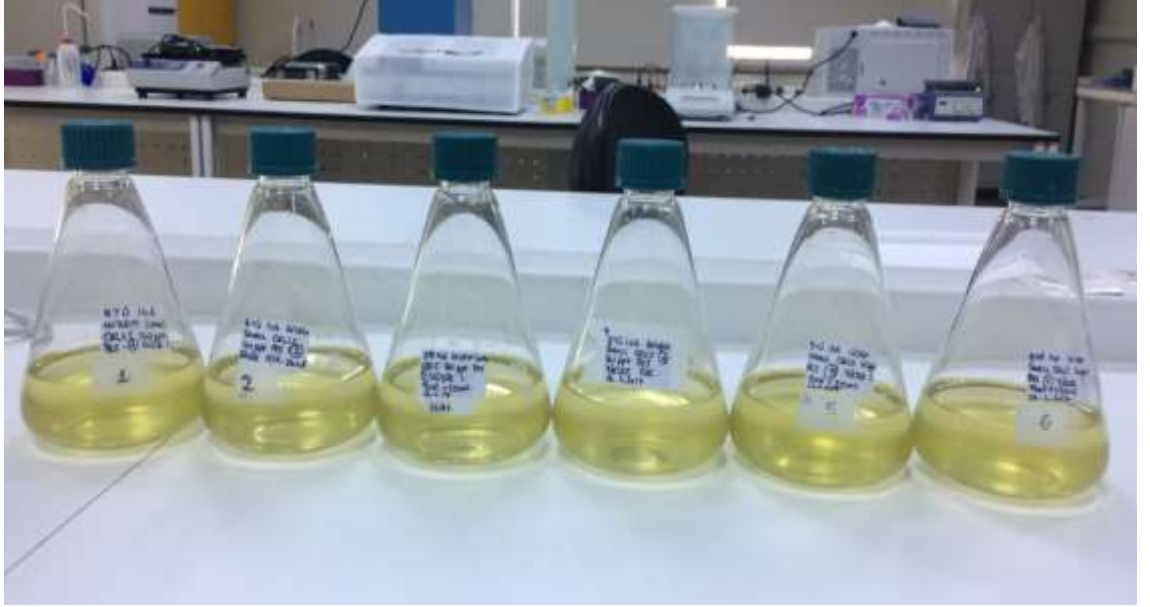


Şekil 4.3. *Dunaliella* sp. AQUAMEB 9 ve AQUAMEB 20 suşunun düşük ($65 \mu\text{mol.foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) ve yüksek ($650 \mu\text{mol.foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) ışık yoğunluklarında büyüme eğrileri. Hata çubukları tekrarlar arasındaki varyansı gösteren standart hatayı belirtmektedir. (DI: düşük ışık, YI: yüksek ışık)

4.2. *Dunaliella* sp. AQUAMEB 9 ve AQUAMEB 20 suşlarının düşük ve yüksek ışık yoğunluklarındaki büyüme özellikleri

Farklı genetik yapı ve farklı pigment üretimine sahip olan *Dunaliella* sp. AQUAMEB 9 ve AQUAMEB 20 suşlarının düşük ve yüksek ışık yoğunluklarında büyüme özellikleri incelenmiştir. Kültürlerin renk değişimleri incelendiğinde, *Dunaliella* sp. AQUAMEB 9 suşunun kültürleri sarı, yeşil renkte görünmektedir (Şekil 4.4). Kültürlerin, 16. günlerinde AQUAMEB 9'un düşük ışık altındaki tekrarları yeşil renge dönmeye başlamıştır, yüksek ışık altındaki tekrarlarında ise, sarımsı renge dönmeye başladığı gözlenmiştir (Şekil 4.5). Kültürlerin, 32. günlerinde AQUAMEB 9'un düşük ışık

altındaki tekrarları yeşil renkte, yüksek ışık altındaki tekrarlarında ise, sarımsı renk gözlenmiştir (Şekil 4.6). Kültürlerin 49. gününde Şekil 4.7’de görüldüğü gibi düşük ışık altındaki tekrarlarında koyu yeşile döndüğü gözlenmiştir. *Dunaliella* sp. AQUAMEB 9 suşunun yüksek ışık altındaki tekrarlarının renkleri açılarak, sarımsı renge döndüğü gözlenmiştir.



Şekil 4.4. *Dunaliella* sp. AQUAMEB 9 suşlarının ilk günündeki renkleri



Şekil 4.5. *Dunaliella* sp. AQUAMEB 9 suşlarının 16. günündeki renk değişimleri



Şekil 4.6. *Dunaliella* sp. AQUAMEB 9 suşlarının 32. günündeki renk değişimleri



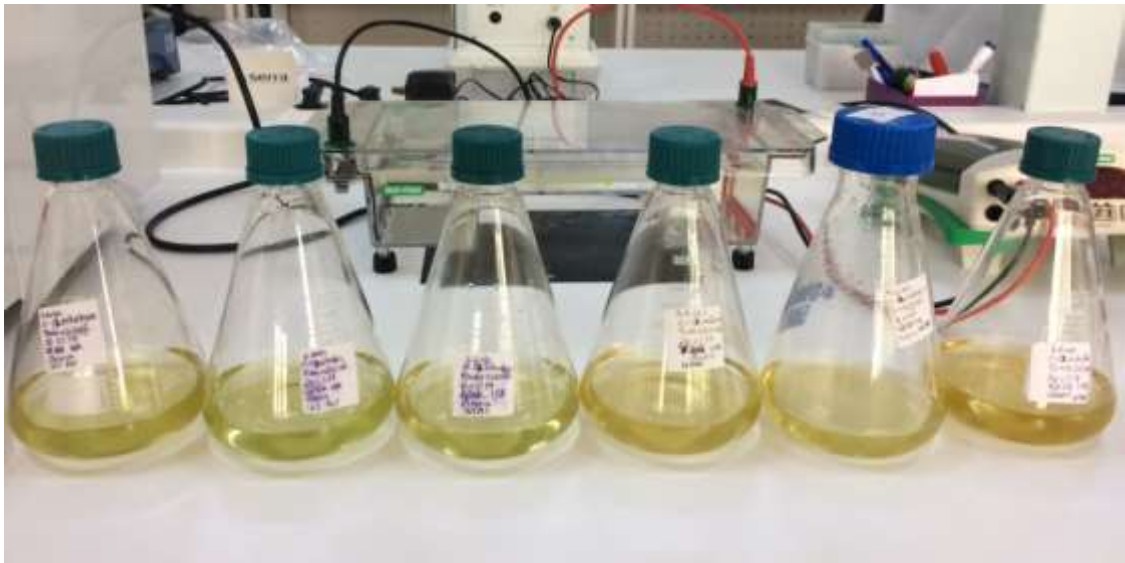
Şekil 4.7. *Dunaliella* sp. AQUAMEB 9 suşlarının 49. günündeki renk değişimleri

Kültürlerin renk değişimleri incelendiğinde, *Dunaliella* sp. AQUAMEB 20 suşunun tekrarları, Şekil 4.8'de görüldüğü gibi sarımsı açık yeşil renkli olarak deneye başlanmıştır. 16. günündeki renk değişimlerine bakıldığında, AQUAMEB 20'nin düşük

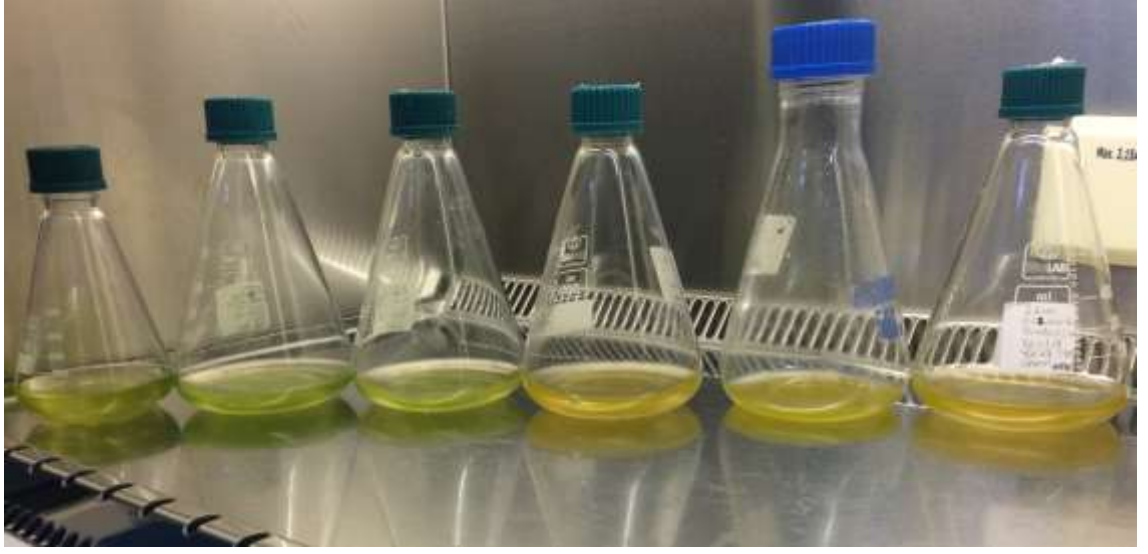
ışık altındaki tekrarlarının daha net koyulaşarak yeşil rengine dönmeye başladığı, yüksek ışık altındaki tekrarlarının sarımsı turuncu renge dönmeye başladığı gözlenmiştir (Şekil 4.9). *Dunaliella* sp. AQUAMEB 20 suşunun düşük ışık altındaki tekrarlarının koyu yeşil renkte olduğu, AQUAMEB 20 suşunun yüksek ışık altındaki tekrarlarının renkleri karotenoid üretiminden dolayı sarımsı, turuncu renge döndüğü gözlenmiştir.(Şekil 4.10).



Şekil 4.8. *Dunaliella* sp. AQUAMEB 20 suşlarının ilk günündeki renkleri



Şekil 4.9. *Dunaliella* sp. AQUAMEB 20 suşlarının 16. günündeki renk değişimleri



Şekil 4.10. *Dunaliella* sp. AQUAMEB 20 suşlarının 32. günündeki renk değişimleri

Şekil 4.11.'de *Dunaliella* sp. AQUAMEB 20'nin düşük ışık altındaki kültürün deneyin son zamanlarındaki görüntüsü, Şekil 4.12. *Dunaliella* sp. AQUAMEB 20'nin yüksek ışık altındaki kültürün görüntüsü deneyin son zamanlarındaki görüntüsü verilmiştir.



Şekil 4.11. *Dunaliella* sp. AQUAMEB 20'nin düşük ışık altındaki kültürün görüntüsü

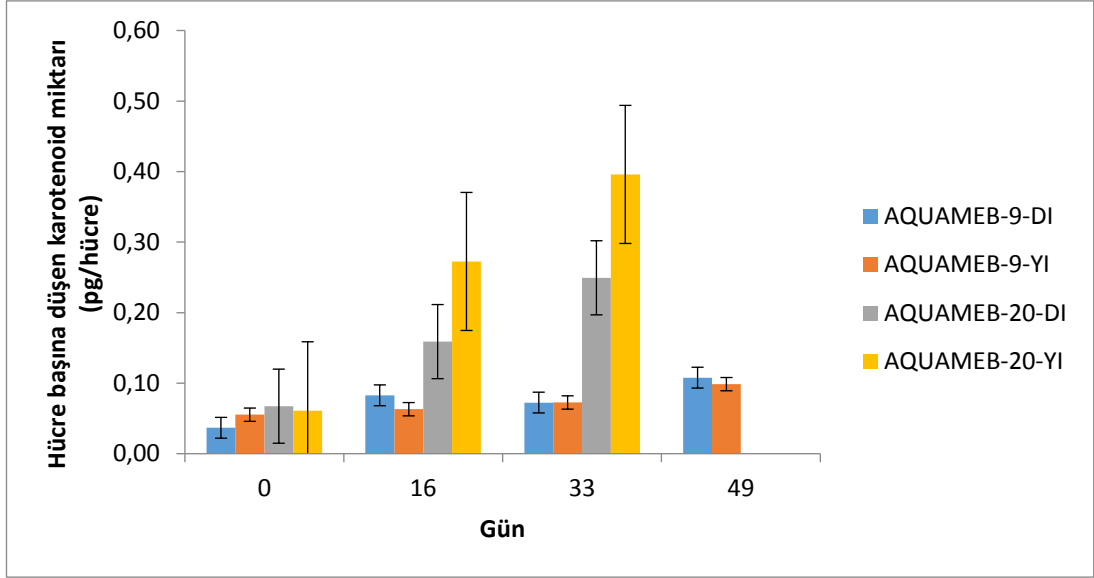


Şekil 4.12. *Dunaliella* sp. AQUAMEB 20'nin yüksek ışık altındaki kültürün görüntüsü

4.3. *Dunaliella* sp. AQUAMEB 9 ve AQUAMEB 20 Suşlarının Düşük ve Yüksek Işık Yoğunluklarında Pigment Üretimleri

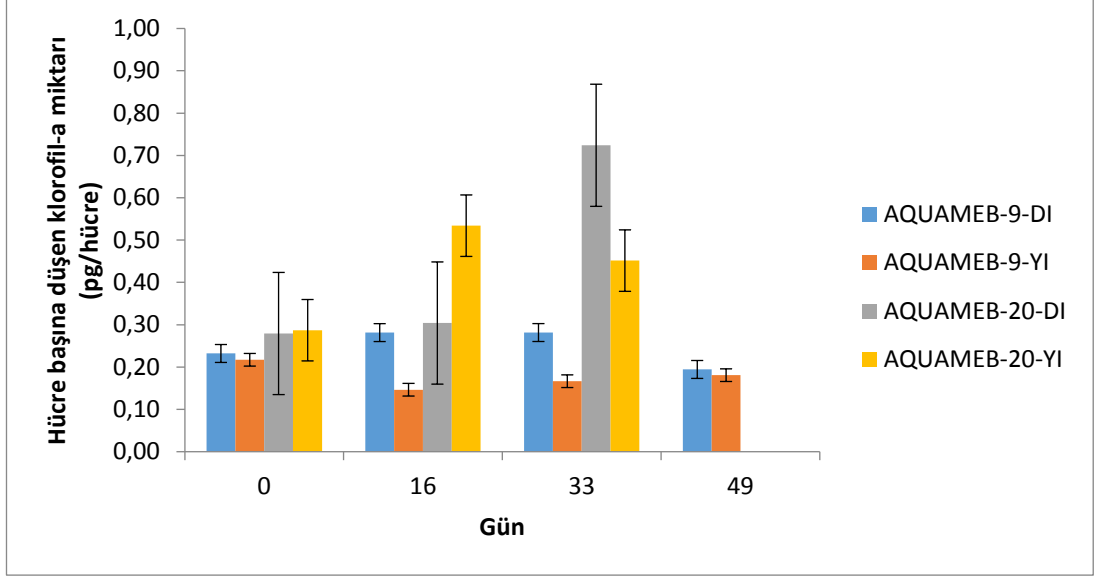
4.3.1. Spektrofotometrik yöntemlerle total karotenoid, klorofil a ve klorofil b konsantrasyonlarının belirlenmesi

Düşük ve yüksek ışık yoğunluklarında yetiştirilen *Dunaliella* sp. AQUAMEB 9 ve AQUAMEB 20 suşlarından büyüme deneylerinde AQUAMEB 9'dan 0, 16, 32, 49. günlerde AQUAMEB 20'den 0, 16, 32. günlerde üretilen pigment miktarlarını belirlemek için örnekler alınmıştır. Spektrofotometrik yöntemlerle total karotenoid, (chl-a) klorofil a ve (chl b) klorofil b konsantrasyonları belirlenmiştir. Bu konsantrasyonların numune alınan hücre sayısına bölünmesiyle birim biyokütle başına düşen toplam pigment konsantrasyonları hesaplanmıştır.



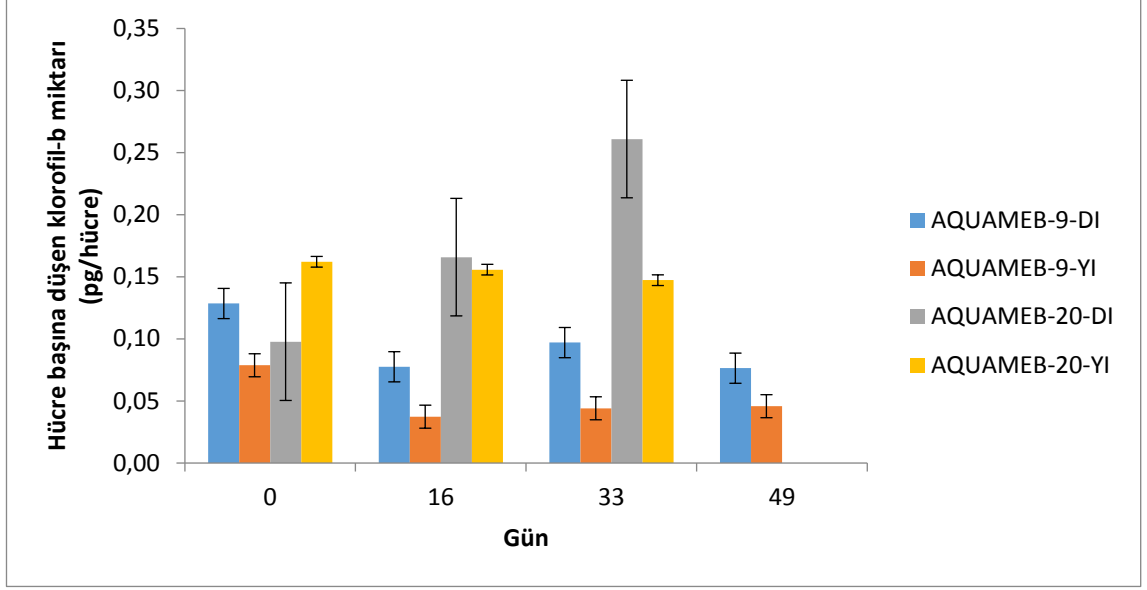
Şekil 4.13. *Dunaliella* sp. AQUAMEB 9 ve AQUAMEB 20 suşunun düşük ($65 \mu\text{mol.foton. m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) ve yüksek ($650 \mu\text{mol.foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) ışık yoğunluklarında hücre başına düşen total karotenoid miktarlarının sütunları. Hata çubukları tekrarlar arasındaki varyansı gösteren standart hatayı belirtmektedir. (DI: düşük ışık, YI: yüksek ışık)

Deney başlangıcında en düşük toplam karotenoid miktarına sahip olan AQUAMEB 9'un düşük ışık altındaki tekrarları 16. güne kadar hafif artan doğrusal büyüme gösterirken, 16. günden 32. güne kadar hafif azalan doğrusal bir büyüme göstermiştir. AQUAMEB 9'un düşük ışık altındaki tekrarlarından sonra en düşük toplam karotenoid miktarına sahip olan AQUAMEB 9'un yüksek ışık altındaki kültürleridir. AQUAMEB 9'un yüksek ışık altındaki tekrarları 32. güne kadar doğrusal büyüme göstermiştir. AQUAMEB 9'un düşük ve yüksek ışık altındaki kültürleri 32. günden 49. güne kadar olan periyotta doğrusal büyümeleri ve toplam karotenoid miktarları hemen hemen aynı seviyededir. 32 günlük bir büyüme periyodunda AQUAMEB 9'un yüksek ışıktaki tekrarlarının düşük ışıktaki tekrarlarıyla karşılaştırıldığında belirgin bir fark görülmemiştir. Deney başlangıcında AQUAMEB 20'nin düşük ve yüksek ışık tekrarlarının toplam karotenoid miktarları eşittir. AQUAMEB 20'nin düşük ışık altındaki tekrarları ilk günden 32. güne kadar, sabit olarak artan doğrusal büyüme göstermiştir. Deney başlangıcında en yüksek total karotenoid miktarına sahip olan AQUAMEB 20'nin yüksek ışık altındaki tekrarları 32 günlük periyotlarda doğrusal olarak artan bir ivmeyle en yüksek total karotenoid miktarına sahip olduğu görülmüştür (Şekil 4.13).



Şekil 4.14. *Dunaliella* sp. AQUAMEB 9 ve AQUAMEB 20 suşunun düşük ($65 \mu\text{mol.foton. m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) ve yüksek ($650 \mu\text{mol.foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) ışık yoğunluklarında hücre başına düşen total klorofil a (chl-a) miktarlarının sütunları. Hata çubukları tekrarlar arasındaki varyansı gösteren standart hatayı belirtmektedir. (DI: düşük ışık, YI: yüksek ışık)

Deney başlangıcında hücre başına düşen en düşük klorofil a miktarı AQUAMEB 9 yüksek ışık altındaki tekrarları ve onu takiben, AQUAMEB 9 düşük ışık altındaki tekrarları olmuştur. 49. günün sonunda ise AQUAMEB 9'un yüksek ve düşük ışık altındaki tekrarlarında hücre başına düşen en düşük klorofil a miktarlarına sahip olduğu görülmüştür. AQUAMEB 20 düşük ışık altındaki tekrarları ve yüksek ışık altındaki tekrarları hemen hemen aynı seviyede en yüksek klorofil a miktarlarına sahip olduğu görülmüştür. AQUAMEB 20 düşük ışık altındaki tekrarları 0. günden 16. güne kadar hafif artan doğrusal büyüme gösterirken, 16. günden 32. güne kadar artan bir ivmeyle doğrusal büyüme göstererek hücre başına düşen en yüksek klorofil a miktarına sahiptir. AQUAMEB 20 yüksek ışık altındaki tekrarları ise 0. günden 16. güne kadar artan bir ivmeyle doğrusal büyüme gösterirken, 16. günden 32. güne kadar, azalan bir ivmeyle doğrusal büyüme göstermiş olup AQUAMEB 20 yüksek ışık AQUAMEB 20 düşük ışıktan sonra en yüksek klorofil a miktarını sahip olduğu görülmüştür (Şekil 4.14).



Şekil 4.15. *Dunaliella* sp. AQUAMEB 9 ve AQUAMEB 20 suşunun düşük ($65 \mu\text{mol.foton. m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) ve yüksek ($650 \mu\text{mol.foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) ışık yoğunluklarında hücre başına düşen total klorofil b (chl-b) miktarlarının sütunları. Hata çubukları tekrarlar arasındaki varyansı gösteren standart hatayı belirtmektedir. (DI: düşük ışık, YI: yüksek ışık)

Deney başlangıcında hücre başına düşen en düşük klorofil b miktarı AQUAMEB 9 yüksek ışık altındaki tekrarları olup, 49. günlük periyodun sonunda ise yine en düşük klorofil b miktarına sahip olduğu görülmüştür. AQUAMEB 9 yüksek ışık altındaki tekrarları takiben, AQUAMEB 9 düşük ışık altındaki tekrarları 49 günlük periyodun sonunda en düşük klorofil b miktarına sahip olduğu görülmüştür. AQUAMEB 20 düşük ışık altındaki tekrarları ise başlangıçta en düşük ikinci klorofil b miktarına sahipken, 49 günlük periyod boyunca artan bir ivmeyle doğrusal büyüme göstererek hücre başına düşen en yüksek klorofil b miktarına sahip olduğu görülmüştür. AQUAMEB 20 yüksek ışık altındaki tekrarları ise 49 günlük periyod boyunca düşük miktarda azalan doğrusal büyüme göstererek AQUAMEB 20 düşük ışık altındaki tekrarlarından sonra en yüksek ikinci klorofil b miktarına sahip olduğu görülmüştür (Şekil 4.15).

TARTIŞMA ve SONUÇ

Mikroalg biyoteknolojisinde ticari öneme sahip olan *Dunaliella* sp. AQUAMEB 9 ve AQUAMEB 20 suşlarını etkileyen çevresel faktörlerden büyüme ve beta karoten üretim potansiyellerine etkilerini gözlemlemek amacıyla farklı ışık yoğunluklarında, düşük ($65 \mu\text{mol.foton. m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) ve yüksek ($650 \mu\text{mol.foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) yetiştiriciliği yapılmıştır. Total karotenoid miktarları spektrofotometrik yöntemlerle, büyüme özelliklerinin tespiti için hücre sayımı yapılmıştır.

Tez deneylerinin sonucunda AQUAMEB 9 ve AQUAMEB 20 suşlarının yüksek ışık yoğunluğunda ($650 \mu\text{mol.foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) tekrarlarının düşük ışık konsantrasyonunda ($65 \mu\text{mol.foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) tekrarlarına göre daha fazla karotenoid ürettikleri görülmüştür. Büyüme deneylerinin sonucunda düşük ışık konsantrasyonunda ve yüksek ışık yoğunluğunda en iyi büyüme özelliği *Dunaliella* sp. AQUAMEB 9 suşunda görülmüştür. *Dunaliella* sp. suşlarının büyüme özellikleri karşılaştırıldığında yüksek ışık yoğunluğunda fazla miktarda beta karoten üreten AQUAMEB 20 suşunun yüksek ışık yoğunluklarında daha iyi büyüdüğü tespit edilmiştir. Laboratuvar şartlarında gerçekleştirilen deneylerde ulaşılan hücre sayıları, AQUAMEB 9 *Dunaliella* sp. suşunun ($65 \mu\text{mol.foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) düşük ışık yoğunluğunda yetiştirilen kültürlerde $10,5 \times 10^6$ hücre/ ml^{-1} , ($650 \mu\text{mol.foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) yüksek ışık yoğunluğunda yetiştirilen kültürlerde, $11,05 \times 10^6$ hücre/ ml^{-1} olarak hesaplanmıştır. AQUAMEB 20 *Dunaliella* sp. suşunun ($65 \mu\text{mol.foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) düşük ışık yoğunluğunda yetiştirilen kültürlerde $2,7 \times 10^6$ hücre/ ml^{-1} , ($650 \mu\text{mol.foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) yüksek ışık yetiştirilen kültürlerde, $4,1 \times 10^6$ hücre/ ml^{-1} olarak hesaplanmıştır. En yüksek hücre sayısı *Dunaliella* sp. suşunun yüksek ışık yoğunluğunda yetiştirilen kültürlerde, $11,05 \times 10^6$ hücre/ ml^{-1} olarak tespit edilmiştir.

Yapılan araştırmalarda, yüksek ışık yoğunluğunun *Dunaliella salina*'ya etkisi araştırılmıştır. 250 ml'lik erlenlerde 100ml'lik kültür ortamı kullanılmıştır. Deney başlangıcında, 800 lux ışık yoğunluğunda yetiştirilen kültürler, 2300 lux ışık yoğunluğuna kadar değiştirilmiştir. Işık kaynağı olarak, metal halide lambaları (Philiphs BLW, 70W, 1200 lux) kullanılmıştır. 10 günlük sürenin sonunda, 800 lux ışık yoğunluğu altında gerçekleştirilen kültürde, hücre yoğunluğu $2,31 \times 10^6$ hücre/ml, 2300

lux ışık yoğunluğunda gerçekleştirilen kültürde, $1,91 \times 10^6$ hücre/ml tespit edilmiştir (Pisal ve Lele 2005). Yapılan bu çalışmada ışık yoğunluğu arttıkça, hücre sayılarında azalma görülmüştür. Tez çalışmasında deneyler sonucu ışık yoğunluğu arttıkça, hücre sayılarında artış görülmüştür. Yapılan bu çalışma, tez çalışmamızın sonucuyla farklılık göstermektedir

Yapılan bir diğer çalışmada, İki fazlı biyoreaktörlerin fermentat ekstraksiyonunda, ışık yoğunluğunun *Dunaliella salina* da beta karoten ekstraksiyonu üzerine etkisi araştırılmıştır. (SYLVANIA CF-EL 55W / 840) aydınlatılmış floresan lambalar kullanılarak, ($850 \mu\text{mol.foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) ışık yoğunluğundan, ($1150 \mu\text{mol.foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) 'e kadar değişen üç farklı ışık yoğunluğu kullanılmıştır. Düşük ışık yoğunluğunda, $1,5 \times 10^{-8}$ hücre, orta seviyede ışık yoğunluğunda $2,7 \times 10^{-8}$ hücre, yüksek ışık yoğunluğunda ise $4,5 \times 10^{-8}$ hücre tespit edilmiştir. Deneylerin sonucunda, hücrelerin beta karoten içeriği, ışık yoğunluğu oranını artırmıştır. Beta karoten ekstraksiyon oranının hücrelerin β -karoten içeriği ile ilgili olduğunu ve temel olarak beta karotenin hacimsel üretimi ile ilişkili olmadığı tespit edilmiştir (Hejazi ve Wijffels 2003).Yapılan bu çalışma ışık yoğunluğunun artmasıyla, hücre sayılarında artış tespit edilmiştir. Bu çalışma tez çalışmamızın onucuyla benzerlik göstermektedir.

Sıcaklık, ışık ve tuzluluk değişikliği mikroalglerin büyüme ve biyokimyasal kompozisyonlarını etkilemektedir (Utting, 1985, Hu 2004). Türlerin ekstrem koşullarda, düşük ışık konsantrasyonları veya yüksek ışık konsantrasyonları gibi çevresel faktörlere tepki olarak beta karotenoid üretimi tetiklenir. Türlerin stres koşullarında verdikleri tepkiler türler arası değişim gösterir. Mikroalglerin karotenoid üretimi, türden türe farklılık gösterebilmektedir. Her türün gerek biyokimyasal kompozisyonu, gerek bulunduğu habitat farklılık gösterdiği gibi gerekse, bünyelerinde ürettikleri karotenoid miktarları farklılık göstermektedir.

Yüksek ışık yoğunluklarında yapılan kültürlerde klorofil a ve pigment değerleri azalmaktadır, dolayısıyla fotosentez oranı azalmakta, beta karoten değerlerinde artış gözlemlenmektedir (Sukenic ve ark. 1993). Hadi ve ark. (2008) yapmış olduğu çalışmada, farklı tuz yoğunluklarında farklı seviyede karoten birikimi ve renk değişimi

meydana gelmiştir, aynı tuz yoğunluklarında bulunan farklı *Dunaliella* türleri de farklı tepkiler vermiştir. Farklı ışık yoğunluklarında da farklı türler farklı tepkiler verebilmesi muhtemeldir. Canlı hücreler, metabolik reaksiyonlar sonucu serbest oksijen radikalleri (ROS)'a karşı bünyenin oluşturduğu doğal savunma mekanizması olarak antioksidan olarak adlandırılan bileşikler üretir. Karotenidler, antioksidan olarak hücre dokularını zararlı faktörlerden koruması insan sağlığı için önemlidir (Yanar ve ark. 2004). Karotenoidleri, hastalıklara karşı koruyucu etki göstermekte ve beta karoten, lutein gibi karotenler kanser tedavisinde uygulanmaktadır (Richmond 2000) Beta karoten provitamin A öncüsüdür. Gıdalarda gıda katkı maddesi olarak, gıda, yem ve ilaç ve kozmetik sektöründe kullanılmaktadır. Beta karoten doğal antioksidan olarak adlandırılır

(Gökpınar ve ark. 2006). Mikroalgler gıda, yem, kozmetik alanında kullanılmaktadır. *Dunaliella* sp. gibi bazı mikroalgler, antioksidan, beta karoten benzeri biyoaktif bileşenleri üretme potansiyeline sahiptir. Mikroalglerin ürettikleri biyoaktif metabolitler farmasötik endüstrisinde kullanılmaktadır. Teröpotik amaçla deri kanseri tedavisinde beta karoten pigmenti kullanılmaktadır (Becker 1995). Tıp alanında beta karoten pigmentinin doğal ve sentetik formlarının prostat kanser hücrelerinde yapılan çalışmada, doğal olarak üretilen beta karotenin sentetik formlara oranla kanser hücrelerinde yüksek apoptoz oranı sağladığı tespit edilmiştir (Jayappriyan ve ark. 2013).

Karotenoid endüksiyonunun dalga boyundan bağımsız olduğu, ışık yoğunluğuna bağlı olduğu gözlenmiştir (Ben - Amotz ve Avron 1989b).

Tez deneylerinin sonucunda AQUAMEB 9 ve AQUAMEB 20 şuşlarının yüksek ışık yoğunluğunda ($650 \mu\text{mol.foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) tekrarlarının düşük ışık konsantrasyonunda ($65 \mu\text{mol.foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) tekrarlarına göre daha fazla karotenoid ürettikleri görülmüştür. *Dunaliella* sp. şuşlarının hücre başına düşen total karotenoid miktarları karşılaştırıldığında yüksek ışık yoğunluğunda fazla miktarda beta karoten üreten AQUAMEB 20 şuşunun yüksek ışık yoğunluklarında daha iyi büyüdüğü tespit edilmiştir.

Laboratuar şartlarında gerçekleştirilen deneylerde ulaşılan hücre başına düşen total karotenoid miktarı, AQUAMEB 9 *Dunaliella* sp. şuşunun ($65 \mu\text{mol.foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) düşük ışık yoğunluğunda yetiştirilen kültürlerde, $0,11 \text{ pg/hücre}$, ($650 \mu\text{mol.foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)

yüksek ışık yoğunluğunda yetiştirilen kültürlerde, 0,10 pg/hücre olarak hesaplanmıştır. AQUAMEB 20 *Dunaliella* sp. suşunun ($65 \mu\text{mol.foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) düşük ışık yoğunluğunda yetiştirilen kültürlerde 0,25 pg/hücre, ($650 \mu\text{mol.foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) yüksek ışık yetiştirilen kültürlerde, 0,40 pg/ hücre, olarak hesaplanmıştır.

Tez deneylerinin sonucunda AQUAMEB 9 suşlarının yüksek ışık ($650 \mu\text{mol.foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) ve düşük ışık yoğunluklarındaki ($65 \mu\text{mol.foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) tekrarlarının hücre başına düşen klorofil b miktarlarında da azalma gözlemlenmiştir. AQUAMEB 9 *Dunaliella* sp. suşunun ($65 \mu\text{mol.foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) düşük ışık yoğunluğunda yetiştirilen kültürlerinde, hücre başına düşen klorofil b miktarı 0,08 pg/hücre, ($650 \mu\text{mol.foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) yüksek ışık yoğunluğunda yetiştirilen kültürlerde, hücre başına düşen klorofil b miktarı ise 0,05 pg/hücre olarak hesaplanmıştır. AQUAMEB 9 suşlarının yüksek ışık ($650 \mu\text{mol.foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) ve düşük ışık yoğunluklarındaki ($65 \mu\text{mol.foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) tekrarlarının hücre başına düşen klorofil b miktarlarında da artma gözlemlenmiştir. AQUAMEB 9 *Dunaliella* sp. suşunun ($65 \mu\text{mol.foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) düşük ışık yoğunluğunda yetiştirilen tekrarlarında, hücre başına düşen klorofil b miktarı 0,26 pg/hücre, ($650 \mu\text{mol.foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) yüksek ışık yoğunluğunda yetiştirilen kültürlerde, hücre başına düşen klorofil b miktarı ise 0,15 pg/hücre olarak hesaplanmıştır.

Yapılan araştırmalarda, yüksek ışık yoğunluğunun *Dunaliella salina*'ya etkisi araştırılmıştır. 100ml'lik kültür ortamı kullanılarak, 250ml'lik erlenlerde gerçekleştirilmiştir. Deney başlangıcında, 800 lux ışık yoğunluğunda yetiştirilen kültürler yoğunluğundan, 2300 lux ışık yoğunluğuna değiştirilmiştir. Işık kaynağı olarak, metal halide lambaları (Philips BLW, 70W, 1200 lux) kullanılmıştır. 10 günlük sürenin sonunda, 800 lux ışık yoğunluğu altında gerçekleştirilen kültürde, $10,25 \pm 0,30$ pg/ hücre, beta karoten miktarı, $1,51 \pm 0,04$ klorofil b oranı ise $0,14 \text{ g/g}^{-1}$ olarak, 2300 lux ışık yoğunluğu altında gerçekleştirilen kültürde, $6,81 \pm 0,17$ pg/ hücre, beta karoten miktarı, $2,72 \pm 0,07$ klorofil b oranı ise $0,41 \text{ g/g}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Deney çalışmalarımızda bulunan, total karotenoid miktarlarındaki artışlarla benzerlik göstermektedir (Pisal ve Lele 2004).

Yapılan çalışmalarda, *Dunaliella tertiolecta*'nın yüksek ışık yoğunluğundan ($700 \mu\text{mol quanto m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) düşük ışık yoğunluğuna ($70 \mu\text{mol quanto m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)'e direkt geçişinde *Dunaliella tertiolecta* türünün hücre yoğunluğunun iki kat azaldığını, düşük ışıkta

klorofil a değeri artarken, klorofil b ve toplam karotenoid değerlerinin dengesiz bir şekilde arttığını, klorofil a/klorofil b değerlerinin azaldığını gözlemlemişlerdir (Sukenic ve ark. 1990).

Yapılan bir diğer çalışmada, Urmia tuz gölünden izolasyonu yapılan *Dunaliella tertiolecta*'nın (0,05-3,0 M NaCl) tuz yoğunluklarında büyüme kinetikleri, total karotenoid ve beta karoten değerleri üzerinde etkisi araştırılmıştır. 25 °C sıcaklıkta, 14 saat aydınlık, 10 saat karanlık fotoperiyot uygulanmıştır. 50 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ışık yoğunluğunda büyütülmüştür. Sonrasında ışık yoğunluğu 150 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ arttırılmış, farklı tuz konsantrasyonlarında büyütülmüş, 8. ve 28. günlerde örnekler alınıp, karotenoid değerleri belirlenmiştir. Sabit büyüme evresinde, en yüksek karotenoid üretimi, 11,73 mg/L olarak, 0,5 M NaCl tuz konsantrasyonunda, 28. günde bulunmuştur (Fazeli ve ark. 2005).

AQUAMEB 9 *Dunaliella* sp. suşu normal şartlar altında, yeşil renge sahip bir kültürdür. AQUAMEB 9 kültüründe, hücre başına düşen total karotenoid miktarı ve dolaylı yoldan beta karoten üretimi artmıştır. Yüksek ışık stresi total karotenoid üretimini tetiklemiştir. Deneylemiz sonucunda, hücre başına düşen en yüksek total karotenoid miktarı *Dunaliella* sp. AQUAMEB 20 suşunun ($650 \mu\text{mol.foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) yüksek ışık yoğunluğunda yetiştirilen kültürlerinde hücre başına düşen total karotenoid miktarı, 0,40 pg / hücre olarak gözlenmiştir. Yüksek ışık yoğunluğu total karotenoid üretimini ve dolaylı yoldan beta karoten üretimini tetiklemiştir. AQUAMEB 9 ve AQUAMEB 20 farklı suşlar olduğundan, genel olarak AQUAMEB 20 AQUAMEB 9'dan daha yüksek oranda pigment üretim potansiyeline sahiptir.

Karotenoid pigmentlerinden olan beta karoten, lipidte çözünebilen turuncu renge sahip olan bir pigment ve antioksidandır. Gıda ve yiyeceklerde, renklendirici madde olarak, Kozmetiklerde yaygın olarak kullanılmaktadır. Mikroalglerden, *Dunaliella salina* ve *Dunaliella bardawil* doğal beta karoten kaynağıdır (Borowitzka ve Siva 2007). Yüksek ışık yoğunluğu, yüksek tuz yoğunluklarında, besin eksikliği ve ekstrem sıcaklıklar gibi ekstrem çevresel şartlarda *Dunaliella* sp. hücreleri, bünyelerinde kuru ağırlığının %10'una kadar beta karoten biriktirmektedir (Ben Amotz 1996, Ben Amotz ve Avron 1983, Kleinegris ve ark. 2009). Beta karotenin aşırı üretiminin lipid globüllerinin oluşumundan kaynaklandığı hipotezi de dahil olmak üzere alternatif düzenleyici

mekanizmalar da önerilmiştir (Rabbani ve ark. 1998). Beta karotenin aşırı üretimi *Dunaliella* sp.'nin hücrelerinde fotoinhibasyona karşı korunmasında rol oynamaktadır (Ben Amotz ve ark.1989). *Dunaliella* sp.'de beta karoten birikimin kontrol eden faktörler arasında en önemlisi ışık yoğunluğudur. İyi belirlenmiş kontrollü bir ışık rejiminde, stres şartlarına cevabıyla, *Dunaliella* sp. deneysel çalışmaların vazgeçilmezidir. Yüksek ışık yoğunluğuna geçişten hemen sonra hücreler beta karoten üretmeye başlamıştır. *Dunaliella salina*'da beta karoten birikimini etkileyen faktörler arasında en önemlisi yüksek ışık yoğunluğudur (Lamers ve ark. 2010).

Işık yoğunluğu mikroalglerin, kimyasal kompozisyonunu belirlemede önemli bir faktördür, fotoperiyot ile uygulandığında, mikroalgal büyümede kritik rol oynamaktadır. Mikroalglerin ürettiği pigmentler, (klorofil, fikobilin, karotenoidler) biyoaktif bileşenlere sahip olmasıyla umut vericidir. Mikroalgler tarafından üretilen beta karoten, astaksantin, lutein gibi pigmentlerin yaygın bir pazar potansiyeli vardır. Bu pigmentler, tilakoid membranlarında, fotosentezin temel ve fonksiyonel bileşenlerini oluşturduklarından mikroalg hücreleri için hayati öneme sahiptir (Guedes ve ark. 2011). Fotosentetik organizmalarda, karotenoidlerin önemli bir görevi vardır. Karotenoidler ya enerji absorbe etmekte, ya da foto oksidatif hasarlara karşı korumada önemli rol oynamaktadır (Demming-Addams ve Addams 2002). Oksidatif stres arttıkça, ROS (serbest reaktif oksijen türleri) artar. ROS türlerine karşı savunma mekanizması olarak karotenoidler artar. Karotenoidler, singlet oksijeni yakalamada katalitik özellikleriyle rol alır. Yüksek ışık yoğunluğu, tuz stresi gibi stres koşullarında, reaktif oksijen türleri (ROS) ile karoteogenez artar (Kobayashi ve ark. 1993). Uygun olmayan çevresel koşullarda, yüksek ışık yoğunluğu, besin eksikliğinde, fotosentez aşırı artar, elektron transfer oranı düşer, fotooksidatif hasarlar meydana gelir (Solovchenko ve ark. 2011). Bununla birlikte, beta karoten gibi bazı birincil karotenoidler ikincil metabolit olarak görev yapar ve bu nedenle stres koşulları altında birikir (Rabbani ve ark 1998). Işık, çoğu karotenoid, biyokütle üretimi için en önemli sınırlayıcı faktörlerden biridir (Cordero ve ark. 2011).

Bursa Teknik Üniversitesi Biyomühendislik bölümü Alg ve Siyanobakteri Kültür koleksiyonundan alınan, AQUAMEB 9 ve AQUAMEB 20 *Dunaliella* sp. suşlarının farklı ışık şiddetlerinde farklı karotenoid miktarları üretimi sonucunda, farklı pigment

Üretim potansiyellerine sahip olduğu, çalışmalarımız sonucunda saptanmıştır. Her mikroalgin optimum yaşam koşulları, farklı olduğundan, (ışık, pH, sıcaklık) gibi çevresel faktörler değiştirildiğinde farklı sonuçlar elde edilebilmektedir.

Bazı türler ekstrem koşullarda stres şartlarında bünyelerinde ürettikleri pigment maddelerine göre renk değiştirir. *Dunaliella* sp. suşlarının bir kısmı, turuncu, sarı, kırmızı renklere dönüşürken, *Dunaliella* sp. suşlarının bir kısmı ise her zaman yeşil renkte bulunmaktadır. Ancak hücre kültürünün yaşlanması durumunda bu yeşil renk koyulaşır. (Borowitzka ve Siva 2007).

Ülkemizde geniş bir mikroalg florası bulunmaktadır, ne yazık ki mikroalglerin ticari olarak üretimi kısıtlıdır. Ticari olarak öneme sahip mikroalglerin belirlenmesi ve mikroalglerin ürettiği pigmentlerin, biyoteknolojide kullanımına yönelik araştırmalar, bu alanın gelişmesine katkı sağlamak amacıyla yapılmıştır. lke ekonomisinde katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Aach H.G., 1952.** Über Wachstum und Zusammensetzung von *Chlorella pyrenoidosa* bei unterschiedlichen Lichtstärken und Nitratmengen, *Arch Mikrobiol.*, 17: 213-24 6.
- Ambati, R.R., Gogisety, D., Aswathanarayana, R.G., Ravi, S., Bikkina, P.N., Lei Bo&Su Yuepeng. 2018.** Industrial potential of carotenoid pigments from microalgae: Curreb trends and future prospects. *Critical reviews in food Science and Nutrition*, 22.
- Anonim, 1998.** Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th edn. Washington, DC: APHA, AWWA, WEF.
- Anonim, 2016.** İzmir Çamaltı tuzlası kurumsal tarihçesi. <https://www.binbirgida.com/kurumsal/tarihce/>-(Erişim tarihi: 27.12.2016)
- Anonim, 2018.** Türkiye de gübre ve tarım uygulamalarında kullanılan mikroalg gübresi. <http://mikroalg.com/portfoy/fikri-mulkiyet/urunler/terradoc/>-(Erişim tarihi: 09.11.2018)
- Anonim, 2019.** Beta Carotene Market Size, Industry Analysis Report, Regional Outlook, Application Development Potential, Price Trend, Competitive Market Share & Forecast, 2019 – 2025. <https://www.gminsights.com/industry-analysis/beta-carotene-market/>-(Erişim tarihi: 21.08.2019)
- Akgün, A., 2014.** Mikroalg yetiştiriciliği ve yetiştirilen alglerin ticari amaçlı kullanımı, Lisans Tezi, YTÜ, İnşaat Fakültesi, İstanbul.
- Avron, M., 1992.** Osmoregulation. In: *Dunaliella: Physiology, biochemistry an dbiotechnology*. Ed.: Avron, M., Ben-Amotz, A. CRC Press, Boca Raton,Florida, pp: 135 - 164.
- Avron, M., Ben-Amotz, A., 1992.** *Dunaliella: physiology, biochemistry and biotechnology*. CRC Press, Boca Raton, Florida, pp: 256.
- Bañuelos, B., Hernández Josué, I.B, Mendoza, L.S.R., 2015.** Handbook of Marine Microalgae Biotechnology Chapter 18 - Production of Biopharmaceuticals in Microalgae Advances Academic Press, pp: 281-290
- Becker, E.W., 1994.** Microalgae: Biotechnology & Microbiology, Cambridge University press, USA.
- Becker, E.W., 1995.** Microalgae: Biotechnology and Microbiology, Cambridge University Press, Vol:1,Cambridge UK, pp: 293.
- Beijerinck M.W., 1890.** Kulturversuche mit Zoochloren, Lichenengonidien und anderen niederen *Algen*, *Bot Z*, 48, 725-785.
- Belle, A.J. 2007.** Laboratory evaluation of *Dunaliella tertiolecta* as a candidate algal species for tertiary wastewater treatment of nitrogen and phosphorus-laden effluents impacting marine environments. *MSc Thesis*, Louisiana State University,
- Ben-Amotz, A., 1993.** New mode of *Dunaliella* biotechnology: two phase growth forb-carotene production. *J. Appl. Phycol.*, 7: 65 -68.

- Ben-Amotz A., 1996.** Effect of low temperature on the stereoisomer composition of β -carotene in the halotolerant alga *Dunaliella bardawil* (Chlorophyta). *J. Phycol.*, 32(2): 272–275.
- Ben-Amotz, A., 2004.** Industrial Production of Microalgal Cell-mass and Secondary Product Major Industrial Species: *Dunaliella*. In: Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology, Ed.: A. Richmond., Blackwell Synergy, pp.120–128.
- Ben-Amotz, A., Avron, M., 1980.** Glycerol, β -carotene and Dry Algal Meal Production by Commercial Cultivation Of *Dunaliella*. In Algae Biomass, Production and Use. Elsevier/North Holland Biomedical Press, Amsterdam, 603–661pp.
- Ben-Amotz, A., Avron, M., 1983.** On the factors which determine massive β -carotene accumulation in the halotolerant alga *Dunaliella bardawil*. *Plant Physiol*, 72: 593–597.
- Ben-Amotz, A., Avron, M., 1989a,** The Biotechnology of Mass Culturing of *Dunaliella* for Products of Commercial Interest. In Algal and Cyanobacterial Biotechnology, Longman Scientific and Technical Press, London, 90–114 pp.
- Ben-Amotz, A., Avron, M., 1989b.** The wavelength dependence of massive carotene synthesis in *Dunaliella bardawil* (Chlorophyceae). *J. Phycol.*, 25: 175–178.
- Ben-Amotz, A., Avron, M., 1990.** The biotechnology of cultivating of the halotolerant alga *Dunaliella*. *Tibtech*, 8: 121–126.
- Ben-Amotz, A., Shaish, A., 1992.** β -carotene biosynthesis. In *Dunaliella: Physiology, Biochemistry, and Biotechnology*. Ed.: Avron, M. and Ben-Amotz, A., Boca Raton: CRC press, pp. 205–216.
- Ben-Amotz, A., Polle Jürgen, E.W., Subba Rao, D.V., 2009.** The Alga *Dunaliella*: Biodiversity, Physiology, Genomics and Biotechnology. Science Publishers, Enfield, NH, 555 pp.
- Benlloch, S., Lopez-Lopez, A., Casamayor, E.O., Ovreas, L., Goddard, V., Daae, F. L., Smerdon, G., Massana, R., Joint, I., Thingstad, F., 2002.** Prokaryotic genetic diversity throughout the salinity gradient of a coastal solar saltern. *Environ. Microbiol.*, 4: 349–360.
- Bigogno, C., Goldberg, K., I, Boussiba., Vonshak, S., Cohen, A., 2002.** Lipid and fatty acid composition of the green algae *Parietochloris incisa* *Phytochemistry*, 60: 497–503.
- Bin, S., Wang, Z.P., Liu, X.Y., Yu, J.X., Lan, J.J., Wang, J.M., Ma, L.F., Chen, Z.Y., 2013.** Breeding of a *Chlorella* strain with high yield of polysaccharide and its effect on growth and immunoregulation of *Litopenaeus vannamei*. *J. Nucl. Agric. Sci.*, 27: 168–172.

- Boonyaratpalin, M., Thongrod, S., Supamattaya, K., Britton, G., Schlipalius, L.E., 2001.** Effects of b-carotene source, *Dunaliella salina*, and astaxanthin on pigmentation, growth, survival and health of *Penaeus monodon*. *Aquacult. Res.*, 31: 182–190.
- Brown, A.D., Borowitzka, L.J., 1979.** Halotolerance of *Dunaliella*. In *Biochemistry and Physiology of Protozoa*, Ed., Levandowsky, M., Hutner, S.H., New York: Academic Press, pp: 139–190.
- Borowitzka, M.A., 1990.** The mass culture of *Dunaliella salina*. In *Technical Resource Paper. Regional Workshop on the Culture and Utilization of Seaweeds 2. Regional*
- Borowitzka, M.A., 1992.** Algal biotechnology products and processes matching science and economics. *Journal of Applied Phycology*, 267–279.
- Borowitzka, M.A., 1995.** Microalgae as a source of pharmaceuticals and other biologically active compounds. *J. Appl. Phycol.*, 7: 3–15.
- Borowitzka, M.A., 1999.** Pharmaceuticals and agrochemicals from microalgae, 313–352. *Chemicals From Microalgae*, Ed.: Cohen, Z., Taylor, Francis Ltd., U.K, pp: 419.
- Borowitzka, M.A., 2013.** High-value products from microalgae their development and commercialisation, *J Appl. Phycol.*, 743–756.
- Borowitzka, M.A., Borowitzka, L.J., 1988a.** Algal Growth Media Sources of Algal Culture. In *Microalgal Biotechnology*, Ed.: Borowitzka, M.A., Borowitzka, L.J., Cambridge University Press, New York, 455–465 pp.
- Borowitzka, M.A. Borowitzka, L.J., 1988b.** Vitamins and fine chemicals from microalgae. In *Micro-algal Biotechnology*. Ed.: Borowitzka, M.A., Borowitzka, L.J., Cambridge University Press, New York, pp:153–196.
- Borowitzka, M.A., Borowitzka, L.J., 1992,** *Microalgal biotechnology*, Cambridge University press, Cambridge, 477p.
- Borowitzka, M.A., Siva, C.J., 2007.** The taxonomy of the genus *Dunaliella* (Chlorophyta, Dunaliellales) with emphasis on the marine and halophilic species, *Journal of Applied Phycology*, 19 (5): 567–590.
- Borowitzka, L.J., Borowitzka, M.A., 1989.** b-carotene (provitamin A) production with algae. In *Biotechnology of Vitamins, Pigments and Growth Factors* ed. Vandamme, E.J. London: Elsevier Applied Science, pp: 15–26.
- Borowitzka, L.J., Brown, A.D., 1974.** The salt relations of marine and halophilic species of the unicellular green algae, *Dunaliella*. *Arch. Microbiol.*, 96: 37 -52.
- Brown, M.R., Mular, M., Miller, I., Farmer, C., Trenerry, C., 1999.** The vitamin content of microalgae used in aquaculture. *J. Appl. Phycol.*, 11: 247–255.
- Chandra, R., Parra, R., Iqbal, H.M.N., 2017.** Phycobiliproteins: A Novel Green Tool from Marine Origin Blue-Green Algae and Red Algae. *Protein Pept. Lett.*, 24: 118–125.

- Chinnasamy, S., Bhatnagar, A., Hunt, R.W., Das, K.C., 2010.** Microalgae cultivation in a wastewater dominated by carpet mill effluents for biofuel applications. *Bioresource Technology*, 101(9): 105-397.
- Chisti, Y., 2006.** Microalgae as sustainable cell factories. *Environ. Eng. Manag.J.*, 5: 261-274.
- Chisti, Y., 2007.** Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*, 25(3): 294-306.
- Chisti Y., Yan J., 2011.** Energy from algae: Current status and future trends: Algal biofuels – A status report, *Appl. Energ.*, 88 (10): 3277-3279.
- Cifuentes, A.S., González, M.A., Parra, O.O., 1996.** The effect of salinity on the growth and carotenogenesis in two Chilean strains of *Dunaliella salina* Teodoresco. *Biol. Res.* 29 :227-236.
- Cirik, S., Gökpınar, S., 1999.** Plankton Bilgisi ve Kültürü, Ege Üniversitesi Yayınları, 2. baskı, İzmir, 274 s.
- Cohen, Z., 2000.** Chemicals from microalgae. Taylor& Francis publishers, pp: 419.
- Cohn F., 1850.** Zur naturgeschichte des *protococcus pluvialis* kützing, *Nova Acta Academia Leopoldensis Caroliensis*, 22, 607.
- Comstock, G.W., Helzlsouer, K.I., Bush, T.L., 1991.** Prediagnosticserum levels of carotenoids and vitamin E as related to subsequent cancer in Washington County, Maryland. *Am. J. Clin. Nutr.*, 53: 260-264.
- Cordero, B.F., Couso, I., León, R., Rodríguez, H., Vargas, M.A., 2011.** Enhancement of carotenoids biosynthesis in *Chlamydomonas reinhardtii* by nuclear transformation using a phytoenesynthase gene isolated from *Chlorella zofingiensis*. *Appl., Microbiol., Biotechnol.*, 91: 341-351.
- Crocker, M., Morton, S. 2010.** Development of an algae-based system for CO2 mitigation from coal-fired power plants. *Energia*,
- Çalışan Eleren, Ö., Öner, B., 2019.** Sürdürülebilir ve çevre dostu biyoyakıt hammaddesi: Mikroalgler, *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi Pamukkale Univ Muh Bilim Derg.*, 25(3): 304-319.
- Çelekli, A., ve Dönmez, G., 2001.** Bir *Dunaliella* türünün gelişimine ve beta karoten üretimine ph ve tuz konsantrasyonlarının etkisi. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 1. Alg Teknoloji Sempozyumu, 79-86 pp.
- Çelikel, N., Kınık, Ö., Gönç S., Kavas, G., 2006.** Mikroalglerin gıdalarda renk verici madde (pigment) kaynağı olarak kullanımı, Türkiye 9. Gıda Kongresi, 24 °C±1 -26 Mayıs 2006, Bolu, pp: 447-450.
- Demming-Adams, B., Adams, W.W.III., 2002.** Antioxidants in photosynthesis nutrition. *Science* 298,:2149-2153.

- Demirel, G., Özpınar, H., 2003.** Yosunlar ve Hayvan beslemede kullanımları. Uludağ Üniv, Fac.Vet. J. Med.22, 1.2.3, Yıl:2003, ss103-108.
- Deng X., Li, Y., Fei X., 2009.** Microalgae: A promising feedstock for biodiesel, *African Journal of Microbiology Research*, 3 (13): 1008-1014, 2009.
- Dudu, E.Ü., Kanlıtepe, Ç., Çıracı, C., Dönmez, G., 2001.** Tuz Gölünden (Konya-Türkiye) izole edilen *Dunaliella* türlerinin gliserol üretim kapasitesinin belirlenmesi. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi, 1. Alg Teknoloji Sempozyumu, 225-232 pp.
- Dufosse, L., Galaup, P., Yaron, A., Arad, S.M., Blanc, P., Chidambara Murthy, K.N., Ravishankar, G.A., 2005.** Microorganisms and microalgae as sources of pigments for food use: a scientific oddity or an industrial reality. *Trends Food Sci Technol.*, 16: 389–406.
- Duvall, M.N., Fraker, R.N., 2009.** Algae-based biofuels attract incentives and investments. Washington, D.C.: Beveridge & Diamond, P.C.
- Elcik, H., Çakmakçı, M., 2017.** Mikroalg üretimi ve mikroalglerden biyoyakıt eldesi, *Journal of the Faculty of Engineering and Arcitecture of Gazi Unversity* 32(3): 795-820
- Fabregas, J., García, D., Fernandez-Alonso, M., Rocha, A. I., Gómez-Puertas, P., Escribano, J. M., Otero, A., Coll, J. M., 1999.** In vitro inhibition of the replication of Haemorrhagic septicaemia virus (VHSV) and African swine fever virus (ASFV) by extracts from marine microalgae. *Antiviral Research*, 44: 67–73
- Famintzin A., 1871.** Die anorganischen Salze als ausgezeichnete Hilfsmittel zum Studium der Entwicklung niederer chlorophyllhaltiger Organismen, *Bull Acad Sci St Petersburg*, 17, 31-70.
- Farrar W.V., 1966.** Tecuitlatl: a glimpse of Aztec food technology, *Nature*, 211, 341-342.
- Foster, S., Thomson, D., Maher, W., 2008.** Uptake and metabolism of arsenate by anoxic cultures of the microalgae *Dunaliella tertiolecta* and *Phaeodactylum tricornutum*. *Mar Chem.*, 108, 172–183.
- Fazeli, M. R., Tofighi, H., Samadi, N., Jamalifar, H. (2005).** Effects of salinity on β -carotene production by *Dunaliella tertiolecta* DCCBC26 isolated from the Urmia salt lake, north of Iran., *Bioresource Technology*, 97(18): 24 °C±1 53–24 °C±1 56.
- Garcia-Gonzalez, M., Moreno, J., Canavate, J.P., Anguis, V., Prieto, A., Manzano, C., Folrencia, F.J., and Guerrero, M.G., 2003.** Condition for open-air outdoor of *Dunaliella salina* in southern Spain. *J Appl Phycol.*, 15: 177–184.
- Gibor, A., 1956,** The Culture of Brine Algae. *Biol Bull (Woods Hole)* 3, 223–229p.
- Gordillo, F.J.L., C. Jimenez, J. Chavarria, F.X. Niell, 2001.** Photosynthetic acclimation to photon irradiance and its relation to chlorophyll fluorescence and carbon

assimilation in the halotolerant green alga *Dunaliella viridis* *Photosynthesis Research*, 68: 225–235.

Gökpınar, G., Koray, T., Akçiçek, E., Göksan, T., Durmaz, Y., 2006. Algal Antioksidanlar . E.Ü. Su Ürünleri Dergisi, 23: 85-89.

Göksan, T., Gökpınar G., 2005. *Haematococcus pluvialis* flotow (Chlorophyceae)'un farklı ışık şiddetlerinde vejetatif büyüme özellikleri, *E. Ü. Su Ürünleri Dergisi*, 22: 21-24.

Guedes, A.C., Amaro, H.M., Malcata, F.X., 2011. Microalgae as sources of carotenoids. *Marine Drugs*. 9, 625–644.

Guillard, R.R.L., 1975. Culture of Phytoplankton for Feeding Marine Invertebrates.in Ed.: Smith, W.L., M.H. Chanley., Culture of Marine Invertebrate Animals, Plenum Press, New York, NY.

Guillard, R.R.L., 2004, Purification methods for microalgae, In: Anderson, A.R., Algal culturing techniques: Pycological Society of America, Elsevier Academic Press, pp: 117-131.

Guzman, S., Gato, A., Calleja, J.M., 2001. Anti-Inflammatory, analgesic and free radical scavenging activities of the marine microalgae *Chlorella stigmatophora* and *Phaeodactylum tricornutum*. *Phytother. Res.*, 15: 224 °C±1 –230.

Guzman, S., Gato, A., Lamela, M., Freire-Garabal, M.; Calleja, J.M., 2003. Anti-inflammatory and immunomodulatory activities of polysaccharide from *Chlorella stigmatophora* and *Phaeodactylum tricornutum*. *Phytother. Res.*, 17: 665–670.

Hadi, M.R., Shariati, M., Afsharzadeh, S., 2008. Microalgal biotechnology: carotenoid and glycerol production by *Dunaliella* sp. algae isolated from the Gave khooni salt marsh, Iran, *Biotech. Bioproc. Eng.*, 13 (5) : 540 544.

Haiduc, A.C., Brandenberger, M., Suquet, S., Vogel F., Bernier-Latmani, R., Ludwig, C., 2009. SunChem: an integrated process for the hydrothermal production of methane from microalgae and CO2 mitigation. *J. Appl. Phycol.*, 21: 529–541.

Hamed, I., 2016. The Evolution and Versatility of Microalgal Biotechnology: A Review Comprehensive Reviews in food science and food safety. 20: 1104–1123.

Harder R., von Witsch H., 1942. Bericht über Versuche zur Fettsynthese mittels autotropher Microorganismen, *Forschungsdienst Sonderheft*, 16: 270-275.

Hatanaka, Y., Inaoka, K., Kobayashi, O., Higashihara, M., Hiyama, K., 1998. Sensitivity of the surface coat of the halotolerant green alga *Dunaliella parva* (Volvocales, Chlorophyceae) to lysozyme. *Phycol Res.*, 46: 1–147.

Hejazi, M.A., Wijffels, R.H., 2003. Effect of light intensity on b-carotene production and extraction by *Dunaliella salina* in two-phase bioreactors. *Elsevier, Biomolecular Engineering* 20: 171-175.

- Hejazi, M.A., de Lamarliere, C., Rocha, J.M.S., Vermuë, M., Tramper, J., ve Wijffels, R.H., 2002.** Selective extraction of carotenoids from the microalga *Dunaliella salina* with retention of viability. *Biotechnology and Bioengineering*, 79: 29-36.
- Heydarizadeh, P., Poirier, I., Loizeau, D., Ulmann, L., Mimouni, V., Schoefs, B., Bertrand, M., 2013.** Plastids of Marine Phytoplankton Produce Bioactive Pigments and Lipids. *Mar. Drugs*, 11: 3425–3471.
- Horrobin, D., 1999.** Lipid metabolism, human evolution and schizoprenia. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty acids, Volume 60, 5-6, pp: 31-437.
- Hosikian, A., Lim, S., Halim, R., Danquah, M.K., 2010.** Chlorophyll extraction from microalgae: A review on the process engineering aspects. *Int. J. Chem. Eng.*
- Hossain A.B.M.S., Boyce A.S.A.N., Chowdhury P., Naqiuddin M., 2008.** Biodiesel fuel production from algae as renewable energy. *Am. J. of Biochem. Biotech.*, 4 (3): 250-254.
- Hötzel, G., Croome, R., 1999.** A phytoplankton methods manual for Australian freshwaters, 66.
- Hu, Qiang., 2004.** Environmental effects on cell compositions, in Handbook of microalgal culture: Biotechnology and applied phycology, Ed.: Richmond, A., Blacwell publishing company, pp:83-93.
- Jayappriyan, K.R., Rajkumar, R., Venkatakrisnan, V., Nagaraj, S., Rengasamy, R., 2013.** In vitro anticancer activity of natural β -carotene from *Dunaliella salina* EU5891199 in PC-3 cells, *Biomedicine & Preventive Nutrition*, 3(2): 99–105.
- KarginYilmaz, H., 2008.** Mersin için Mikroalg Üretiminin Önemi, Mersin Sempozyumu.
- Kerby, N., Rowell, P., 1992.** Potential and commercial applications for photosynthetic prokaryotes', *Photosynthetic prokaryotes*, 93-120.
- Kim, S.K., Ravichandran, Y.D., Khan, S.B., Kim, Y.T., 2008.** Prospective of the cosmeceuticals derived from marine organisms. *Biotechnol. Bioprocess Eng.*, 13: 511–523.
- Klausner, A., 1986.** Algaculture: food for thought. *Biotechnology* 4: 947–953.
- Kleinegris D., Janssen M., Brandenburg WA., Wijffels RH., 2009.** The selectivity of milking of *Dunaliella salina*. *Mar., Biotechnol* 12: 14–23.
- Kobayashi, M., Kakizono, T., Nagai, S., 1993.** Enhanced carotenoid biosynthesis by oxidative stress in acetate-induced cyst cells of a green unicellular alga, *Haematococcus pluvialis*. *Applied Environmental Microbiology*. 59: 867–873.
- Koller, M., Muhr, A., Braunegg, G., 2014.** Microalgae as versatile cellular factories for valued products. *Algal Res.*, 6: 52–63.

- Koray, T., 2002.** Denizel Fitoplanktonlar, Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları No:32, İzmir, 228 s.
- Koru, E., 2004.** Artemia and it's importance in Çamaltı Saltworks (Izmir, Turkey) ecosystem (in Turkish). *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi* 21: 187-189.
- Koru, E., Cirik, S., 2001.** A Study of the *Artemia* Population of Çamaltı Saltworks (Izmir/Turkey), In, Ed.:Özhan, E., Yüksel, Y., Turkey's Coasts 01, Turkey's Coast and Sea Areas 3 th. National Conference, 26-29 June 2001 Istanbul, 321-328.
- Koru, E., 2013.** Çamaltı Tuzlası (Sasalı-İzmir) Artemia Populasyonunun Akuakültür Bakımından Potansiyeli *Menba Su Ürünleri Fakültesi Dergisi Araştırma/Research Article Menba Journal of Fisheries Faculty*, 2147-2254.
- Lakaniemi, A., Tuovien, O., 2012.** Production off electricity and butanol from microalgal biomass in microbbiial fuel cells. *Bioenerg. Res.*, 5: 481-491.
- Lamers, P.P., vande Laak, C.C., Kaasenbrood, P.S., Lorier, J., Janssen, M., De Vos,R.C., 2010.** Carotenoid and fatty acid metabolism in light-stressed *Dunaliella salina*. *Biotechnol.Bioeng.*, 106: 638–648.
- Lee C.S., Lee, S.A., Ko, S.R., Oh, H.M., Ahn, C.Y., 2015.** Effects of photoperiod on nutrient removal, biomass production, and algal-bacterial population dynamics in lab-scale photobioreactors treating municipal wastewater, *Water Res.*, 68: 680-691.
- Leonardi, P.I., Caceres, E.J., 1994.,** Comparative analysis of the fine structure of young and adult individuals of *Dunaliella salina* (Polyblepharidaceae, Chlorophyceae) with emphasis on the flagellar apparatus. *Journal Phycol.*, 30: 642–653.
- Lewis, M.A., Weber, D.E., Stanley, R.S.,1998.** Comparative animal and plant toxicities of 10 treated effuents discharged to nearcoastal areas of the Gulf of Mexico. *Water Environ. Res.*, 70: 1108–1117.
- Liang, S., Xueming, L., Chen, F., Chen, Z., 2004.** Current microalgal health food R&D activities in China. *Hydrobiologia*, 512: 45–48.
- Lichtenthaler, H.K., 1987.** Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes, *Methods in Enzymology*, 148(C): 350–382.
- Liu, L., Pohnert G., Wei, D., 2016.** Extracellular Metabolites from Industrial Microalgae and Their Biotechnological Potential. *Marine drugs*, 14(10): 191.
- Madkour, F.F., Gaballah, M.M., 2012.** Phytoplankton assemblage of a solar saltern in Port Fouad Egypt. *Oceanologia* 54: 687-700.
- Masojidek, J., Koblizek, M., Torzillo, G., 2004.** Photosynthesis in microalgae. In: Eds.: Richmond, A.,andbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology. Blackwell Science, Oxford, 20–39 pp.
- Mclachlan, J., Yentsch, C.S., 1959.** Observations on the Growth of *Dunaliella euchlora* in Culture. *Biol .Bull., (Woods Hole)* 116: 461–471.

- Melkonian, M., Kröger, K.H., Marquardt, K.G., 1980.** Cell shape and microtubules in zoospores of the green alga *Chlorosarcinopsis gelatinosa* (Chlorosarcinales): Effects of low temperature, *Protoplasma*, 104 (3–4): 283–293.
- Melkonian, M., Preisig, H.R., 1984.** An ultrastructural comparison between *Spermatopsis* and *Dunaliella* (Chlorophyceae). *Pl.Sys.Evol.*, 164: 31–46.
- Milledge, J.J., 2011.** Commercial application of microalgae other than as biofuels: A brief review. *Rev. Environ. Sci.Biotechnol.*, 10: 31–41.
- Milano, J., Ong, H.C., Masjuki H.H., Chong W.T., Lam, K.M., Loh, P.K., Vellayan, V., 2016.** Microalgae biofuels as an alternative to fossil fuel for power generation. *Elsevier Renewable and Sustainable Energy Reviews* 58: 180–197.
- Guedes, A.C., Amaro, H.M., Malcata, F.X., 2011.** Microalgae as sources of carotenoids. *Mar. Drugs.*, 9: 625–644.
- Mourelle, L.M., Gomez, P.C., Legido, J.L., 2017.** The Potential Use of Marine Microalgae and Cyanobacteria in Cosmetics and Thalassotherapy Cosmetics. review *MDPI*, 14
- Oliveira, L., Bisalputra, T., Antia, N.J., 1980.** Ultrastructural observation of the surface coat of *Dunaliella tertiolecta* from staining with cationic dyes and enzyme treatments. *New Phytol.* 85: 385–392.
- Oren, A., 2005.** A hundred years of *Dunaliella* research: 1905-2005. *BioMed Central* 14
- Oren, A., 2010.** Industrial and environmental applications of halophilic microorganisms. *Environmental Technology* 31: 825-834.
- Oren A., 2014.** The ecology of *Dunaliella* in high-salt environments. *Journal of Biological Research*. 21 (1): 23
- Oswald W.J., Gotaas H.B., Golueke C.G., Kellen W.R., 1957.** Algae in waste treatment, *Sewage Wastes*, 29: 437-457.
- Oswald W.J., Golueke C.G., 1960.** Biological transformation of solar energy, *Adv. Appl. Microbiol.*, 2: 223-262.
- Özen, M., Seren Karatay, G., Yılmaz, M., Balcı, M., Dirlik, C., Koru, E., 2016.** Bursa Teknik Üniversitesi alg ve siyanobakteri kültür koleksiyonu: Tür çeşitliliği ve filogenetik karakterizasyonları, 2.Ulusal Alg Teknolojisi Sempozyumu, 24-27 Mayıs 2016, Seferihisar, İzmir.
- Patil, V., Reitan, K. I., Knudsen, G., Mortensen, L., Kallqvist, T., Olsen, E., Vogt, G., Gíslérød, H.R., 2005.** Microalgae as source of polyunsaturated fatty acids for aquaculture. *Curr. Topics Plant. Biol.*, 6:57-65.
- Pisal, D.S., Lele, S.S., 2005.** Carotenoid production from microalga, *Dunaliella salina*, *Indian J., Biotechnol.*, 4 (4), 476–483.

- Portier, R.J. Miller, G.P., 1991.** Immobilized microbe bioreactors for wastewater treatment. *Waste Manage Res.*, 9: 445–451.
- Pulz, O., 2001.** Photobioreactors: production systems for phototrophic microorganisms. *Applied Microbiology Biotechnology*, 57: 287-293.
- Pulz, O., Gross, W., 2004.** Valuable products from biotechnology of microalgae. *Appl Microbiol Biotechnol.*, 65: 635–648.
- Rabbani S., Beyer P., von Lintig J., Hugueney P., Kleinig H., 1998.** Induced β -carotene synthesis driven by triacylglycerol deposition in the unicellular alga *Dunaliella bardawil*. *Plant Physiol.*, 116(4): 1239–1240.
- Raposo, M.F.d.J., Morais R.M.S.C.d., Morais A.M.M.B., 2013.** Bioactivity and applications of sulphated polysaccharides from marine microalgae. *Marine drugs*, 11(1): 233–252.
- Raton, Bridle, P., Timberlake, CF., 1997.** Anthocyanins as natural food colourselected aspects. *Food Chem.*, 58: 103-109.
- Reish, D.J., Lemay, J.A., 1988.** Bioassay Manual for Dredged Materials. Technical Report, DACW-09-83R-005, US Army Corps of Engineers, Los Angeles, CA
- Richmond, A., 2000.** Microalgal biotechnology at the turn of themillennium: A personal view. *J. Appl. Phyco.*, 12: 441-451.
- Richmond, A., 2004.** Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology, Blackwell Publishing Ltd. RICHMOND, A., 1986. Outdoor Mass Cultures of Microalgae. Ed.: A. Richmond, Handbook of microlagal mass cultures of microalgae. CRC Press, INC. Boca Raton, Florida. 285-329pp.
- Riemersma, R.A., Wood, D.A., Macintyre, C.C.A., Elton, R.A., Gey, K.F., Oliver, M.F., 1991.** Risk of angina pectoris and plasma concentrations of vitamins A, C and E and carotene. *Lancet*, 337: 1–5.
- Rojan, P.J, Anisha, G.S, Nampootheri K.M, Pandey A., 2011.** Micro and macroalgal biomass: A renewable source for bioethanol. *Bioresource Technology*, 102(1): 186-193.
- Santin Montanya, I., Sandin Espana., P., Garcí'a Baudin J.M., Coll-Morales, J., 2007.** Optimal growth of *Dunaliella primolecta* in axenic conditions to assay herbicides. *Chemosphere*, 66: 1315–1322.
- Sasson A., 1997.** Microalgal Biotechnologies: Recent Developments and Prospects for Developing Countries. BIOTEC Publication, 2nd Asia-Pacific Marine Biotechnology Conference and 3rd Asia-Pacific Conference on Algal Biotechnology, 3-4 April, 1997, Thailand.
- Sayo, T., Sugiyama, Y., Inoue, S., 2013.** Lutein, a nonprovitamin A, activates the retinoic acid receptor to induce HAS3-dependent hyaluronan synthesis in keratinocytes. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 6: 1282–1286.

Shah, M.M.R., Liang, Y., Cheng, J.J., Daroch, M., 2016. Astaxanthin-Producing Green Microalga *Haematococcus pluvialis*: From Single Cell to High Value Commercial Products. *Front. Plant Sci.*, 7, 531.

Shaish, A., Hararia, A., Hananshvilib, L., Cohena, H., Bitzura, R., Luvisha, T., Ulmana, E., Golanc, M. 2006., 9-cis b-carotene-rich powder of the alga *Dunaliella bardawil* increases plasma HDL-cholesterol in fibrates-treated

Shklar, G., Schwartz, I., Trickier, D., Reid, S., 1989. Regression of experimental cancer by oral administration of combined alpha-tocopherol and beta-carotene. *Cancer*, 12: 321–325.

Sharma, O.P., 1986. Text book of Algae, New Delhi. Tata McGraw Hill Publishing, 395 pp.

Sharma, T., Gour, R.S., Kant, A., Chauhan, R.S., 2016. Lipid content in *Scenedesmus* species correlates with multiple genes of fatty acid and triacylglycerol biosynthetic pathways. *Algal Res.*, 12: 341–349.

Singh J., Gu S., 2010. Commercialization potential of microalgae for biofuels production, *Renewable Sustainable Energy Rev.*, 14 (9): 2596-2610,

Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E., Isambert, A., 2006. Commercial applications of microalgae. *J. Biosci. Bioeng.*, 101:87–96.

Solovchenko, A.E., Khozin-Goldberg, I., Recht, L., Boussiba, S., 2011. Stress- Induced changes in optical properties, pigment and fatty acid content of *Nannochloropsis* sp.: implications for non-destructive assay of total fatty acids. *Mar. Biotechnol.*, 13: 527–535.

Suganya, T., Varman, M., Masjuki, H.H., Renganathan, S., 2016. Macroalgae and microalgae as a potential source for commercial applications along with biofuels production: A biorefinery approach. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 55: 909-941.

Skajenes, K., Lindblad P., Muller J., 2007. BioCO₂ – ‘A multidisciplinary, biological approach using solar energy to capture CO₂ while producing H₂ and high value products’. *Elsevier Biomolecular Engineering*, 24: 405–413.

Stich, H.F., Rosin, M.P., Hornby, A.P., Mathew, B., Sankaranarayanan, R., Nair, M.K. 1988. Remission of oral leukoplakias and micronuclei in tobacco / betel quidchewers treated with beta-carotene and with beta-carotene plus vitamin A. *Int J Cancer*, 42:195–199

Sukatar, A., 2002. Alg kültür yöntemleri, Ege Üniversitesi Yayınları, 184, İzmir, 168 s

Sukenik, A., Bennett, J., Bertrand, A.M., Falkowski, P.J., 1990. Adaptation of the Photosynthetic Apparatus to Irradiance in *Dunaliella tertiolecta*. *Plant Physiol.*, 92: 891-898.

Sukenik, A., Yamaguchi, Y., Livne, A., 1993. Alterations in lipid molecular species of marine e Eustigmatophyte *Nannochloropsis* sp. *Journal Phycology*, 29: 620-626.

- Supamattaya, K., Kiriratnikom, S., Boonyaratpalin, M., Borowitzka, L., 2005.** Effect of a *Dunaliella* extract on growth performance, health condition, immune response and disease resistance in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Aquaculture* 24 (8): 207–216.
- Talbot, P., de la Noue, J., 1993.** Tertiary treatment of wastewater with *Phormidium bohneri* under various light and temperature conditions. *Water Res.*, 27: 153–159.
- Tang, G., Suter, P.M., 2011.** Vitamin A, Nutrition, and Health Values of Algae: *Spirulina*, *Chlorella*, and *Dunaliella*. *J. Pharm. Nutr. Sci.*, 1: 111–118.
- Thakur, A., Kumar, H.D., 1999.** Nitrate, ammonium, and phosphate uptake by the immobilized cells of *Dunaliella salina*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 62: 70–78.
- Tompkins, J., De Ville, M., (Mitzi), Day, J., Turner, M., 1995.** Culture collection of algae & protozoa: Catalogue of strains. Ambleside, UK, 204 pp.
- Tornwall, M.E., Virtamo, J., Korhonen, P.A., Virtanen, M.J., Taylor, P.R. Albanes, D., Huttunen, J.K., 2004.** Effect of α -tocopherol and β -carotene supplementation on coronary heart disease during the 6-year post-trial follow-up in the ATBC study. *Eur. Heart J.*, 25: 1171- 1178 .
- Tsuji, N., Hirayanagi, N., Okada, M., Miyasaka, H., Hirata, K., Zenk, M. Miyamoto, K., 2002.** Enhancement of tolerance to heavy metals and oxidative stress in *Dunaliella tertiolecta* by Zn-induced phytochelatin synthesis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 293: 653–659.
- Utting, S.D., 1985.** Influence of nitrogen availability on the biochemical composition of three unicellular marine algae of commercial importance. *Aquacult. Engin.*, 4: 175-190.
- Watanabe, M.M., Suda, S., Kasai, F. and Sawaguchi, T., 1985,** Axenic cultures of three species of *Microcystis* (Cyanophyta=Cyanobacteria), *Bull. Jap. Fed. Culture Coll.*, 1: 57-63 pp.
- Woutersen, R.A., Garderen-Hoetmer, A.V., 1988.** Inhibition of dietary fat promoted development of (pre)neoplastic lesions in exocrine pancreas of rats and hamsters by supplemental selenium and b-carotene. *Cancer Lett.*, 49: 79–85.
- Wrigley, T.J., Toerien, D.F, 1990.** Limnological aspects of small sewage ponds”. *Water Research*. 24(1): 83-90
- Xu, N., Zhang, X., Fan, X., Han, L., Zeng, C., 2001.** Effects of nitrogen source and concentration on growth rate and fatty acid composition of *Ellipsoidion* sp. (Eustigmatophyta). *Journal of Applied Phycology*, 13: 463-469.
- Van den Hoek, C., Mann, D.G., Jahns, H.M., 1995.** Algae: An introduction to phycology, Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Van Poppel, G., 1993.** Carotenoid and cancer-an update with emphasis on human intervention studies. *Eur. J. Cancer.*, 29: 1335–1344.

Vismara, R., Verni, F., Barsanti, L., Evangelista, V., Gualtieri, P., 2004, A short flagella mutant of *Dunaliella salina* (Chlorophyta, Chlorophyceae). *Micron.*, 35: 337-344.

Vonshak, A., Torzillo, G., 2003. International workshop and training course on photobioreactors. Ebiltem Yayınları, Vol:1, İzmir, pp: 6.

Yamaoka, Y., Takimura, O., Fuse, H., Murakami, K., 1999. Effect of glutathione on arsenic accumulation by *Dunaliella salina*. *Appl. Organomet Chem.*, 13: 89–94.

Yanar, Y., Çelik, M., Yanar, M., 2004. Seasonal changes in total carotenoid contents of wild marine shrimps (*Penaeus semisulcatus* and *Metapenaeus monoceros*) inhabiting the eastern Mediterranean. *Food Chemistry*, 88 (2): 267-269.

Yılmaz, M., 2016a. Aquatic microbial ecology & biotechnology laboratory <https://www.aquameb.org/product-page/dunaliella-sp-aquameb-9->(Erişim tarihi: 24.08.2016).

Yılmaz, M., 2016b. Aquatic microbial ecology & biotechnology laboratory <https://www.aquameb.org/product-page/dunaliella-sp-aquameb-20->(Erişim tarihi: 24.08.2016).

Zhang, Q., Hong Y., 2014. Comparison of growth and lipid accumulation properties of two oleaginous microalgae under different nutrient conditions, *Front. Environ. Sci. Eng.*, Higher Education Press and Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 7

ÖZGEÇMİŞ

- Adı Soyadı : Gizem Dönmez
Doğum Yeri ve Tarihi : 21.09.1991
Yabancı Dil : İngilizce
- Eğitim Durumu
Lise : Bursa Süleyman Çelebi Lisesi
Lisans : Biyoloji-Adalet
Yüksek Lisans : Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü,
Hidrobiyoloji Anabilim Dalı
- Çalıştığı Kurumlar : Bursa Sınav Koleji - Biyoloji Öğretmeni (2016)
Dönmez Plastik A.Ş. İnsan Kaynakları Müdürü(2016-2019)
- Çalıştığı Projeler : "İzmir Çamaltı Tuzlası'nın Mikrobiyal Çeşitliliği ve
Bulunan Organizmaların Biyoteknolojik Potansiyellerinin
Araştırılması" isimli 114Z274 numaralı 1001 Tübitak
Projesi- Bursiyer (2014-2016)
- İletişim (e-posta) : gizemseren16@hotmail.com
gizem_seren_karatay@hotmail.com
- Yayınları : **Özen, M., Seren Karatay, G., Yılmaz., M., Balcı, M.,
Dirlik, C., Koru, E., 2016.** Bursa Teknik Üniversitesi alg
ve siyanobakteri kültür koleksiyonu: Tür çeşitliliği ve
filogenetik karakterizasyonları, 2.Ulusal Alg Teknolojisi
Sempozyumu, 24 -27 Mayıs 2016, Seferihisar, İzmir.

BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TEZ ÇOĞALTMA VE ELEKTRONİK YAYIMLAMA İZİN FORMU

Yazar Adı Soyadı	Gizem DÖNMEZ
Tez Adı	İzmir Çamaltı Tuzlası ve Tuz Gölünden İzole Edilen İki <i>Dunaliella</i> sp. suşunun Büyüme ve Toplam Karotenoid Üretme Özelliklerinin Belirlenmesi
Enstitü	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Hidrobiyoloji Anabilim Dalı
Tez Türü	Yüksek Lisans Tezi
Tez Danışman(lar)ı	Prof. Dr. Şükran DERE Prof. Dr. Mete YILMAZ
Çoğaltma (Fotokopi Çekim) izni	<input checked="" type="checkbox"/> Tezimden fotokopi çekilmesine izin veriyorum <input checked="" type="checkbox"/> Tezimin sadece içindekiler, özet, kaynakça ve içeriğinin % 10 bölümünün fotokopi çekilmesine izin veriyorum <input type="checkbox"/> Tezimden fotokopi çekilmesine izin vermiyorum
Yayımlama izni	<input checked="" type="checkbox"/> Tezimin elektronik ortamda yayımlanmasına izin veriyorum

Hazırlamış olduğum tezimin belirttiğim hususlar dikkate alınarak, fikri mülkiyet haklarım saklı kalmak üzere Bursa Uludağ Üniversitesi Kütüphane ve Dokümantasyon Daire Başkanlığı tarafından hizmete sunulmasına izin verdiğimi beyan ederim.

Tarih : 27.11.2019

İmza :

