

T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARKLI LED IŞIK KAYNAKLARININ *DUNALIELLA SALINA* TEODORESCO (*CHLOROPHYCEAE*) BÜYÜME VE PİGMENT İÇERİĞİNE ETKİSİ

Koray BENAS

Su Ürünleri Yetiştiricilik Anabilim Dalı

ÇANAKKALE

T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARKLI LED IŞIK KAYNAKLARININ *DUNALIELLA SALINA* TEODORESCO (*CHLOROPHYCEAE*) BÜYÜME VE PİGMENT İÇERİĞİNE ETKİSİ

Koray BENAS

Su Ürünleri Yetiştiricilik Anabilim Dalı

Tezin Sunulduğu Tarih: **03/02/2017**

Tez Danışmanı:

Doç. Dr. İlknur AK

ÇANAKKALE

Koray BENAS tarafından Doç. Dr. İlknur AK yönetiminde hazırlanan ve **03/02/2017** tarihinde aşağıdaki jüri karşısında sunulan "**Farklı LED Işık Kaynaklarının *Dunaliella salina* TEODORESCO (*Chlorophyceae*) Büyüme ve Pigment İçeriğine Etkisi**" başlıklı çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Su Ürünleri Yetiştiricilik Anabilim Dalı'**nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak oybirliği ile kabul edilmiştir.

JÜRİ

Doç. Dr. İlknur AK ……

Başkan

Prof. Dr. Sebahattin ERGÜN ……

Üye

Prof. Dr. Semra CİRİK ……

Üye

Prof. Dr. Levent GENÇ
Müdür
Fen Bilimleri Enstitüsü

Sıra No:

Bu tez çalışması ÇOMÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından FYL-2014-419 numaralı projeden desteklenmiştir.

İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI

Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

Koray BENAS

TEŞEKKÜR

Öğrenim hayatım boyunca çalışmalarıyla örnek olarak bana öncülük eden ve bu tezin her aşamasında desteklerini esirgemeyen saygı değer danışman hocam Doç. Dr. İlknur AK'a, çalışma süresince tüm zorlukları benimle göğüsleyen annem Tülay PALA'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Koray BENAS

Çanakkale, Ocak 2017

SİMGELER VE KISALTMALAR

%	Yüzde
‰	Binde
ºC	Santigrad derece
g	Gram
l	Litre
mg	Miligram
ml	Mililitre
µmol	Mikromol
<	Küçük
>	Büyük
m	Metre
cm	Santimetre
nm	Nanometre
sn	Saniye
λ	Lamda
pg	Pikogram
hc	Hücre
rpm	Dakikadaki Devir Sayısı
UV	Ultraviyole
DPPH	2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil
β	Beta
DJ	Değiştirilmiş Johnson
ark.	Arkadaşları

ÖZET

FARKLI LED IŞIK KAYNAKLARININ *DUNALİELLA SALİNA* TEODORESCO (*CHLOROPHYCEAE*) BÜYÜME VE PİGMENT İÇERİĞİNE ETKİSİ

Koray BENAS
Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Su ürünleri Yetiştiricilik Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi
Danışman: Doç. Dr. İlknur AK
03/02/2017, 37

Bu çalışmada Ayvalık (Balıkesir) tuz üretim tesisinden izole edilen yeşil alglerden *D. salina* Teodoresco'nın farklı LED ışık kaynakları (mavi, kırmızı, sarı) ve farklı besin tuzu rejimlerinde (Değiştirilmiş Johnson (DJ) ortamı, fosfat ilave edilmeyen DJ ortamı, azot ilave edilmeyen DJ ortamı, azot ve fosfat ilave edilmeyen DJ ortamı) yetiştiriciliği yapılmıştır. Deneme gruplarının büyüme hızı ve biyokimyasal içeriklerinde meydana gelen değişimler izlenmiştir. Denemeler süresince en yüksek büyüme hızı, hücre sayısı ve kuru ağırlık değerleri değiştirilmiş Johnson ortamında ve kırmızı LED kullanılan deneme grubundan sırasıyla 4,30 gün^{-1}, 335,3 x 104 hc ml^{-1} ve 1430 mg l^{-1} olarak saptanmıştır. *D. salina* hücrelerinin en yüksek klorofil *a* ve β-karoten içerikleri sırasıyla 10,70 ve 3,49 mg l^{-1} olarak Değiştirilmiş Johnson ortamı ve floresan lamba kullanılan gruptan belirlenmiştir. Ayrıca grupların DPPH radikalleri temizleme aktivitesi ve ham yağ içerikleri de çalışılmıştır. En yüksek temizleme aktivitesi % 74,12 olarak mavi LED kullanılan gruplarda bulunmuştur. En yüksek ham yağ içeriği kırmızı LED lamba kullanılan ve fosfat içermeyen değiştirilmiş Johnson ortamı kullanılan grupta % 34,10 olarak hesaplanmıştır. Çalışma sonucunda LED lambaların *Dunaliella salina*'nın büyümesi ve biyokimyasal kompozisyonu üzerine etkilerinin olduğu saptanmıştır.

Anahtar sözcükler: *Dunaliella Salina*; Yetiştiricilik, LED Işık Kaynakları, Büyüme, Biyokimyasal Kompozisyon.

ABSTRACT

EFFECT OF DIFERENT LED SOURCES ON GROWTH AND PIGMENT COMPOSITION OF *DUNALIELLA SALINA* TEODORESCO (*CHLOROPHYCEAE*)

Koray BENAS

Çanakkale Onsekiz Mart University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Master of Science Thesis in Aquaculture

Advisor: Assoc. Prof. Dr. İlknur AK

03/02/2017, 37

In this study, *Dunaliella salina* Teodoresco which was isolated from Ayvalık salt works (Balıkesir) were cultured at different LED light sources (blue, red and yellow) and nutrient regimes (Modified Johnson (MJ) medium, MJ without phosphate, MJ without nitrogen, MJ without both nitrogen and phosphate). The growth rates and biochemical composition of the groups were monitored. During the experiments, the maximum growth rate, cell number and dry weight of the cultures were determined as 4,30 day^{-1}, 335,3 x 10^4 cell ml^{-1} and 1430 mg l^{-1} in red LED lights with using modified Johnson medium. The highest chlorophyll *a* and β-carotene content of the *D. salina* cells were measured in fluorescent lamps with using modified Johnson medium as 10,70 and 3,49 ml^{-1}, respectively. In addition this parameters, DPPH radical scavenging activity and crude lipid content of the cultures were monitoring. The highest DPPH radical scavenging activity was found in blue LED as 74,12 %. The highest lipid content of the cultures was determined in red LED lights with using modified Johnson medium without the phosphate as 34,10 %. At the end of the study, it was determined that the LED lamps had effects on the growth and biochemical composition of *Dunaliella salina*:

Keywords: *Dunaliella Salina*; Culture, LED Light Sources, Growth, Biochemical Composition.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ SINAVI SONUÇ FORMU ii
İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI iii
TEŞEKKÜR iv
SİMGELER VE KISALTMALAR v
ÖZET vi
ABSTRACT vii
ŞEKİLLER DİZİNİ x
ÇİZELGELER DİZİNİ xi
BÖLÜM 1
GİRİŞ 1
BÖLÜM 2
ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR 3
2.1. *Dunaliella* sp.'nin Sistematikteki Yeri 3
2.2. *Dunaliella sp.*'nin Biyolojisi 3
2.3. *Dunaliella sp.*'nin Dağılımı ve Ekolojisi 5
2.4. *Dunaliella salina*'da *β*-karoten Üretimi 5
2.5. LED Lambaların Tanımı ve Önemi 7
2.6. LED Lambaların Mikroalg Yetiştiriciliği Üzerine Etkisi 7
BÖLÜM 3
MATERYAL VE YÖNTEM 11
3.1. Organizma ve Kültür Şartları 11
3.2. Deneme Koşulları 11
3.3. Analizler 11
BÖLÜM 4
ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA 15
4.1. Farklı Renklerdeki LED Lambaların Algin Büyüme Hızına Etkisi 15
4.2. Farklı Renklerdeki LED Lambaların Algin Hücre Sayısına Etkisi 17
4.3. Farklı Renklerdeki LED Lambaların Algin Kuru Ağırlık Üzerine Etkisi 20
4.4. Farklı Renklerdeki LED Lambaların Pigment içerikleri Üzerine Etkisi 23
4.5. Farklı LED Renklerdeki Lambaların Algin Serbest Radikal Engelleme Kapasitesi Üzerine Etkisi 28
4.6. Farklı Renklerdeki LED Lambaların Algin Ham Yağ İçeriği Üzerine Etkisi 29
BÖLÜM 5
SONUÇ VE ÖNERİLER 31
KAYNAKLAR 32

ÖZGEÇMİŞ I

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 2. 1. Denemelerde kullanılan *Dunaliella salina*'nın genel görünümü. 3
Şekil 2. 2. *Dunaliella salina* hücrelerinin genel görünümü. 1. β-karoten biriktirmiş formu, 2. Yeşil formu, 3. Karoten biriktirmeye başlamış formu, 4. *Dunaliela viridis* (Massjuk ve ark., 2007)…….....4
Şekil 4. 1. Değiştirilmiş Johnson ortamında yetiştirilen *D. salina* kültürlerinin büyüme hızlarında meydana gelen değişimler.....15
Şekil 4. 2. Fosfat ilave edilmeyen deneme gruplarının büyüme hızlarında meydana gelen değişimler.....16
Şekil 4. 3. Azot ilave edilmeyen deneme gruplarının büyüme hızlarında meydana gelen değişimler.....16
Şekil 4. 4. Azot ve fosfat ilave edilmeyen deneme gruplarının büyüme hızlarında meydana gelen değişimler. 17
Şekil 4. 5. Değiştirilmiş Johnson ortamında yetiştirilen *D. salina* kültürlerinin hücre sayılarında meydana gelen değişimler. 18
Şekil 4. 6. Fosfat ilave edilmeyen deneme gruplarının hücre sayılarında meydana gelen değişimler.....18
Şekil 4. 7. Azot ilave edilmeyen deneme gruplarının hücre sayılarında meydana gelen değişimler.....19
Şekil 4. 8. Azot ve fosfat ilave edilmeyen deneme gruplarının hücre sayılarında meydana gelen değişimler. 19
Şekil 4. 9. Değiştirilmiş Johnson ortamında yetiştirilen *D. salina* kültürlerinin kuru ağırlık meydana gelen değişimler.....21
Şekil 4. 10. Fosfat ilave edilmeyen deneme gruplarının kuru ağırlık miktarlarında meydana gelen değişimler.....21
Şekil 4. 11. Azot ilave edilmeyen deneme gruplarının hücre sayılarında meydana gelen değişimler.....22
Şekil 4. 12. Azot ve fosfat ilave edilmeyen deneme gruplarının kuru ağılık miktarlarında meydana gelen değişimler.....22
Şekil 4. 13. Azot ve fosfat ilave edilen deneme gruplarının klorofil *a* ve β-karoten miktarlarında meydana gelen değişimler.....23
Şekil 4. 14. Fosfat ilave edilmeyen deneme gruplarının klorofil *a* ve β-karoten miktarlarında meydana gelen değişimler.....24
Şekil 4.15. Azot ilave edilmeyen deneme gruplarının klorofil *a* ve β-karoten miktarlarında meydana gelen değişimler.....24
Şekil 4. 16. Azot ve fosfat ilave edilmeyen deneme gruplarının klorofil *a* ve β-karoten miktarlarında meydana gelen değişimler. 25
Şekil 4.17. Azot ve fosfat ilave edilen deneme gruplarının klorofil *a* ve β- karoten miktarlarında meydana gelen değişimler.....26
Şekil 4. 18. Fosfat ilave edilmeyen deneme gruplarının klorofil *a* ve β- karoten miktarlarında meydana gelen değişimler.....26
Şekil 4. 19. Azot ilave edilmeyen deneme gruplarının klorofil *a* ve β- karoten miktarlarında meydana gelen değişimler.....27
Şekil 4.20. Azot ve fosfat ilave edilmeyen deneme gruplarının klorofil *a* ve β- karoten miktarlarında meydana gelen değişimler.....27
Şekil. 4. 21. Deneme gruplarının serbest radikal engelleme miktarında meydana gelen değişimler.....28
Şekil. 4. 22. Deneme gruplarının ham yağ miktarında meydana gelen değişimler. 30

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 3.1. *Dunaliella* kültürlerinde kullanılan değiştirilmiş Johnson (DJ) ortamının besin tuzları 12
Çizelge 3.2.Değiştirilmiş Johnson ortamı demir Solüsyonu..... 12
Çizelge 3.3. Değiştirilmiş Johnson ortamında kullanılan A5 iz metal solüsyonu 12
Çizelge 3.4. Deneme grupları 13

BÖLÜM 1
GİRİŞ

Mikroalgler ekosistemde ekolojik ve biyolojik aktiviteleri ile birlikte içerdikleri çeşitli etkin maddeler nedeniyle üzerinde son zamanlarda yoğun çalışmalar yapılan organizmalardır. Ekosistemdeki rolleriyle birlikte hücre içinde pigment, yağ asitleri, protein, vitamin, hidrokarbon, antibiyotik, polisakkarit gibi pek çok metaboliti yüksek miktarlarda doğal olarak biriktirebilmektedirler.

Başlıca tuz gölleri ve tuzlalarda dağılım gösteren yeşil alglerden (*Chlorophyta*) *Dunaliella* türleri *β*-karoten ve gliserol bakımından en zengin alg kaynağıdır (Ben-Amotz ve Avron, 1983; Ben-Amotz,2004; Dudu ve ark., 2001; Oren, 2006). *Dunaliella* flagellatları olan ökaryotik ve hücre çeperi olmayan bir cinstir. Bu özelliği ile *Volvocales* ordosunun diğer cinslerinden ayırmaktadır. Hücrelerinin elastik bir plazma membranı ile çevrili olması *Dunaliella* türlerinin hücre şeklinin değişmesinde ve osmotik değişimlere karşı adaptasyonunda bir avantaj sağlamaktadır. Osmoregülasyon ile hücre dışı osmotik basınca karşı hücre içindeki gliserol konsantrasyonunu değişim göstermektedir (Borowitzka ve Borowitzka, 1992; Jimenez ve ark., 1991).

İlk kez 1970'li yılların sonunda Ölü Deniz'de (İsrail) izole edilen *Dunaliella* türlerinin kuru ağırlıklarının yaklaşık %10'u kadar *β*-karoten içerdiğinin saptanması ile bu antioksidanın üretimine olan ilgiyi artmıştır. Günümüzde, Avustralya ve İsrail'de doğal lagüner alanlarda veya açık havuzlarda yetiştirilen *Dunaliella salina* (Dunal) Teodoresco *β*-karoten üretiminde kullanılmaktadır. *Dunaliella* türlerinin yetiştiriciliği sonucu elde edilen *β*-karoten gıda endüstrisinde, eczacılık, kozmetik, tıp alanlarında ve biyomedikal araştırmalarda kullanılmaktadır (Bosma ve Wijffels, 2003). Endüstriye üretimde ihtiyaç duyulan *β*-karoten büyük oranda laboratuvar koşullarında sentetik yollarla üretilen formdan karşılanmaktadır. Fakat doğal karotenlere olan talebin artması, araştırmacıları farklı doğal kaynaklardan *β*-karoten üretimine yönlendirmiştir (Vega ve ark., 1996).

LED; ışık yayan diyotların (light emitting diodes) kısaltılmış tanımıdır. Bu lambalar farklı dalga boyu genişliğinde ışık yayarlarken çok güçlü renkte ışık üretirler (Glemser ve ark., 2016). LED lambalar florsan lamba ile karşılaştırıldığında, floresan lambaların cıva içerdiği görülmektedir. Ayrıca LED kaynakları durağan hale dönebildiği ve açılıp kapanma esnasında titreşim etkisi göstermediği çeşitli çalışmalar sonucunda saptanmıştır (Glemser ve ark., 2016; Oruç, 2011). Işık kaynağı olarak LED lambaların dalga boyu, bitkilerin klorofil üretmesini karşılayacak düzeyde olduğu Paudel ve ark. (2008) tarafından

bildirilmiştir. Ayrıca, bir LED lambaların bitkisel üretimde kullanılmasının ekonomik olduğu da düşünülmektedir (Javanmardian ve Palsson, 1991).

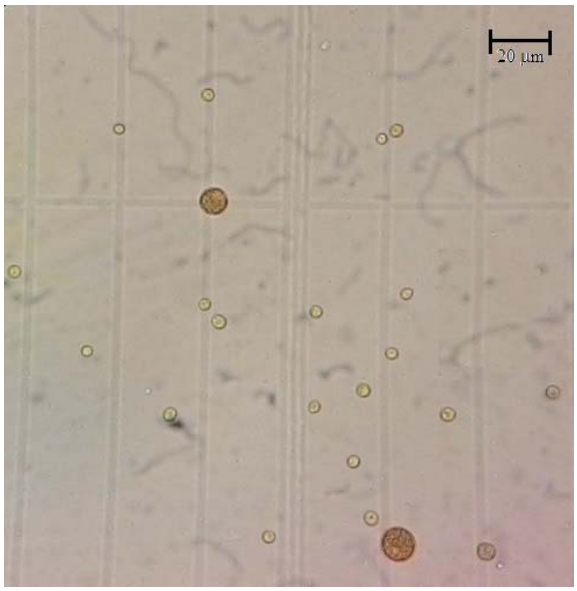
Doğal tuz gölleri ve tuzlalar bakımından zengin olan ülkemizde *Dunaliella* türleri üzerine yapılan çalışma çalışmalar (Dudu ve ark., 2001; Çelekli ve Dönmez, 2006; Durmaz ve Gökpınar, 2006; Ak ve ark., 2008; Yılancıoğlu ve ark., 2014; Çakmak ve ark., 2014; Çelekli ve ark., 2012; İmamoğlu ve ark., 2014) olmasına karşın algin ticari üretimi henüz yapılmamaktadır. Tez çalışması kapsamında yeşil alglerden *D. salina*'nın (*Chlorophyceae, Volvocales*) vejetatif yetiştiriciliği yapılarak ağırlık, pigment, antioksidan ve yağ içeriği ölçümleriyle farklı dalga boylarındaki ışığın *D. salina*'nın büyüme hızı ve biyokimyasal kompozisyonuna olan etkisi araştırılmıştır.

BÖLÜM 2
ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. *Dunaliella* sp.'nin Sistematikteki Yeri

Dunaliella cinsi ilk defa 1905 yılında Teodoresco tarafından, M.F. Dunal'in onuruna isimlendirilen *Dunaliella salina* türü ile tanımlanmıştır (Oren, 2006). Çok tuzlu yerlerde kırmızı rengin alglerden kaynaklandığını bulan Teodoresco'nun *D. salina*'nın tanımlanmasından bu yana çok farklı habitatlarda birçok türü saptanmıştır (Borowitzka ve Borowitzka, 1992). *Chlorophyceae* sınıfının, *Volvocales* takımının içerisinde yer alan *Dunaliella* genusuna ait günümüzde 22 türü rapor edilmiştir (Borowitzka ve Siva, 2007).

Tuzlalarda *D. salina, D. viridis, D. parva, D. ruineniana, D. gracilis, D. pseudosalina, D. bioculata, D. minutissima* ve *D. granulata* türlerinin yaygın olduğu yapılan literatür incelemelerinde saptanmıştır (Ben-Amotz ve ark., 1982; Borowitzka ve Borowitzka, 1992; Borowitzka ve Siva, 2007; Massjuk ve ark., 2007; Oren, 2006). Ülkemizde ise *Dunaliella sp*. Çamaltı tuzlası (İzmir), Ayvalık Tuzlası, Tuz Gölü (Konya), Gökçeada Tuz Gölü (Çanakkale), Dalyan Tuz Gölü (Çanakkale) ve Gelibolu Tuz Gölünden (Çanakkale) rapor edilmiştir (Çelekli ve Dönmez, 2006; Dudu ve ark., 2001; Ak, 2008).

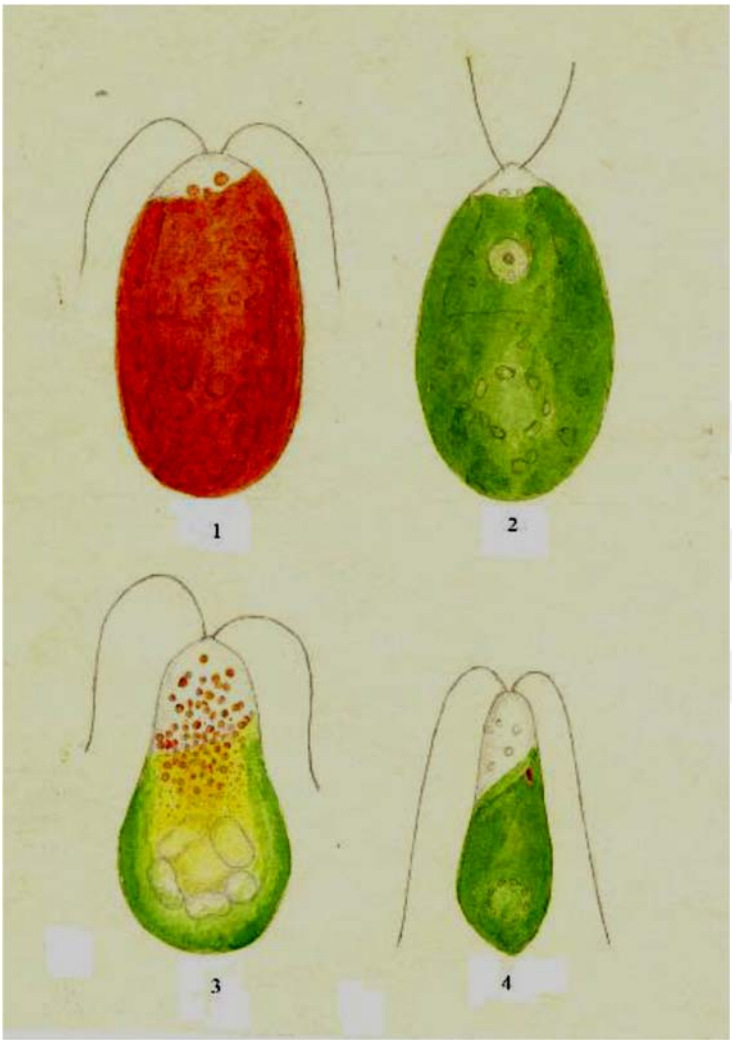


Şekil 2. 1. Denemelerde kullanılan *Dunaliella salina*'nın genel görünümü (x40, orjinal)

2.2. *Dunaliella sp.*'nin Biyolojisi

Dunaliella hücrelerinin ovoid, küresel, piriform, fusiform veya elipsoidal şekillerde

olabildiği ve uzunluğu 5 - 25 µm arasında genişliğinin ise 3 - 13 µm arasında değiştiği gözlemlenmiştir. Hücreler aynı zamanda nişasta granülleriyle çevrili pirenoid merkezli fincan şeklinde tek bir kloroplast içermektedir (Oren, 2006).



Şekil 2. 2. *Dunaliella salina* hücrelerinin genel görünümü. 1. β-karoten biriktirmiş formu, 2. Yeşil formu, 3. Karoten biriktirmeye başlamış formu, 4. *Dunaliela viridis* (Massjuk ve ark., 2007)

Hücre morfolojisi çevresel koşullardan belli ölçüde etkilenmektedir. Logaritmik ve sabit büyüme safhalarında hücre morfolojisinde çarpıcı değişiklikler meydana geldiği gözlemlenmiştir. Bu değişiklikler nedeni ile hücrelerin palmella veya nadiren kist (aplanospor) formunda olabileceği bildirilmiştir. Aplanospor oluşumu ortam şartlarının değişmesi, tuzluluğun düşmesi veya ortamın kuruması gibi olağanüstü şartlar altında oluşmaktadır. Seksüel üreme, izogami ile *Chlamydomonas* türündeki gibi konjugasyonla gerçekleşir. Zigot, yeşil veya kırmızı renkte kalın ve yumuşak hücre duvarı ile çevrilidir.

Dinlenme safhasından sonra zigotun hücre duvarı patlayarak 2, 4, 8 veya 16 kardeş hücre salmaktadır (Borowitzka ve Borowitzka, 1992; Borowitzka ve Siva, 2007; Oren, 2006).

2.3. *Dunaliella sp.*'nin Dağılımı ve Ekolojisi

Dunaliella cinsi çok farklı ekosistemlerde dağılım göstermektedir. Çok geniş pH, tuzluluk ve sıcaklık aralığında dağılım göstermektedirler. Tuz göllerinde, tuzlu bataklıklar ve lagünlerde, denize yakın tuzlu su birikintilerinde ve tuz üretim tesislerinin buharlaştırma havuzlarında en büyük birincil üreticilerdir (Ben-Amotz, 1991). *Dunaliella salina* tuza toleransı en yüksek olan ökaryotik fotosentetik organizma olarak tanımlanmaktadır. ‰ 5 - % 30 tuzluluk aralığında dağılım göstermektedir. Öriterm canlı özelliği gösteren *Dunaliella* genusu -35 ºC ile 40 ºC arasında yaşamını sürdürebilmektedir. *Dunaliella salina*'nın fotosentetik aktivitesinin -8 ºC'ye kadar devam ettiği Borowitzka ve Borowitzka (1992) tarafından bildirilmiştir. Bu türün optimum büyümesi ise 24-28 ºC sıcaklık aralıklarında olmaktadır (Ben-Amotz, 1991).

Dunaliella türleri su kolonunda homojen olarak dağılmazlar. *D. salina* ve bazen *D. parva* su kolonunun yüzeyindeki birkaç santimetrelik kısımda baskındırlar. Bu özellikleri nedeniyle zaman zaman yüzeyde farklı bir tabaka oluştururlar. *D. viridis* derin su kolonunda ve sedimentin yüzeyinde bulunur. Sığ havuzlarda yapılan gözlemlerde *D. viridis* ve *D. parva*'nın su kolonunda vertikal göç ettiğini göstermiştir. Yaklaşık % 25 tuzlulukta ve yüksek ışık yoğunluğunda, *D. parva* hücreleri dibe doğru göç etme eğilimindeyken, *D. salina* hücreleri askıda kalma eğilimi gösterir. Göçün nedeni ışık yoğunluğuna algin fotosentetik tepkisidir. Ben-Amotz ve Shaish (1992) doğal habitatlarındaki yüksek ışık yoğunluğuna karşı koruma amacıyla *D. salina* alginin β-karoten içeriğinin yüksek oluğunu bildirmişlerdir. Bu açıklamayı kloroplastın dış yüzeyinde yer alan, *D. salina* tarafından biriktirilen karotenlerin gözlemlenmesi desteklemiştir. Vertikal göçlerin yanı sıra, doğal *Dunaliella* popülasyonları göl veya tuz buharlaştırma havuzlarının yüzeyinde yoğunlaşmış halde oldukları ve hareket ettikleri sık sık gözlemlenmektedir (Avron, 1992).

2.4. *Dunaliella salina*'da *β*-karoten Üretimi

Dunaliella salina bilinen alg türleri arasında en yüksek *β*-karoten içeriğine sahip algdir. Karoten üretimi yüksek ışık, tuzluluk, sıcaklık ve besin tuzlarının sınırlandığı şartlar altında olmaktadır (Leach ve ark., 1998). *Dunaliella*'daki *β*-karoten kloroplastta yağ

damlacıkları şeklinde birikir (Ben-Amotz, 2004). Doğal turuncu renkli pigmentlerden olan *β*-karoten, Vitamin A'nın ilk halidir (Leach ve ark., 1998). Toplam karoten konsantrasyonu algin hücre ağırlığının % 14'üne kadar ulaşabilmektedir (Ben-Amotz, 2004; Borowitzka ve Borowitzka, 1992). *Dunaliella* türlerindeki *β*-karoten all-*trans* ve 9-*cis* adlı iki stereoizomerden oluşmaktadır. İki izomerin oranları türlere göre farklılık gösterse de, *D. salina*'da her iki formda eşit miktarda bulunmaktadır. Hayvan dokularında etkili şekilde birikmekte ve yağda erimektedir (Leach ve ark., 1998). Bakır ve kurşunun ortamda yüksek olduğu durumlarda *D. salina*'daki karoten seviyesi artabilmektedir (Borowitzka ve Borowitzka, 1992).

Algin büyüme oranının düşük ve alg üzerindeki fizyolojik stresin yüksek olduğu şartlarda *β*-karoten üretimi en yüksek seviyede olmaktadır. Büyüme oranı ve karoten üretimi arasındaki ilişki tuzluluğun % 15'den % 25'e çıkarıldığı *D. salina* kültürlerinde saptanmıştır. Transferden sonra bölünme dururken hücrelerdeki toplam karoten içeriği 4 – 5 gün içerisinde doğrusal olarak yükselmiştir. Bu süre zarfında toplam karoten miktarı < 10 mg l^{-1} (hücre protein) $^{-1}$ ve toplam karoten içerisinde *β*-karoten oranı % 50'den % 90'a ulaşmıştır (Marin ve ark., 1998). Loeblich (1982) farklı ışık yoğunluklarında *D. salina* yetiştirmiş ve ışık yoğunluğunun artmasıyla toplam karoten içeriğinin doğrusal olarak arttığını göstermiştir. Alg hücresindeki toplam karoten miktarı, ışık yoğunluğunun 10 µmol foton $m^{-2}s^{-1}$'dan 396 µmol foton $m^{-2}s^{-1}$' ye yükselmesiyle 4,5 kat artmıştır. Klorofil *a* ve *b* foton akış yoğunluğunun yükselmesi nedeniyle azalmıştır. Benzer sonuçlar Ben-Amotz ve Avron (1983) tarafından % 0,5 *β*-karoten içeren (kuru ağırlık) $^{-1}$ *D. bardawil* (= *salina*) 1 x 10^{-3} $jcm^{-2}s^{-1}$ de yetiştirildiğinde elde edilmiştir.

Çelekli ve ark., (2012) farklı tuz, pH ve ışık şiddetlerinde *D. salina* yetiştirerek β karoten birikimini Modifiye Lojistik, Gompertz, Schnute, Richards ve Stannard modelleri kullanılarak saptamaya çalışmıştır. Modifiye lojistik ve Gompertz modellerinin *D. salina*'nın β karoten birikiminde tuz, pH ve ışık şiddetlerinin etkilerini belirlemek amacıyla kullanılabileceğini saptamışlardır.

Lamers ve ark. (2012), *D. salina* üzerine yaptığı çalışmada azot tüketiminin beta karoten, ışık şiddetinin biyokütle artışına olan etkisini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda *D.salina*'nın hücre içi beta karoten yoğunluğunun %6 olduğunu belirlemişlerdir.

Wu ve ark. (2015) *D. salina*'da beta karoten miktarını yüksek ölçüde KNO_3 konsantrasyonu uygulayarak geliştirmişlerdir. Düşük nitrat konsantrasyonunun *D. salina*'nın beta karoten biriktirmeye uygun olduğunu bildirmişlerdir. Çalışma sonucunda en yüksek kuru ağırlık ve beta-karoten miktarları 2.25 g l^{-1} ve 79,2 mg g^{-1} olarak

saptamışlardır.

Antioksidan ve sitotoksik etkisi nedeniyle Singh ve ark. (2016) *Dunaliella salina*'nın karoten üretimini arttırmak için farklı tuzluluk, azot ve sıcaklık koşullarında yetiştirmişlerdir. Stres koşulları altında *D. salina*'nın karoten ve antioksidan aktivitesinin arttığı bildirmişlerdir.

2.5. LED Lambaların Tanımı ve Önemi

Işık Yayan Diyotlar (LED); yarı iletken ve belirli bir dalga boyunda ışık yayma özelliğine sahip diyot temelli bir elektronik devre elemanıdır (Glemser ve ark., 2016). Fotonlar, elektrik akımının yarı iletken tabakaların arasından geçmesiyle üretilmektedir. LED'in hangi renkte ışık yayması isteniyorsa indiyum, arsenit, alüminyum, nitrit, galyum, fosfat gibi kimyasal malzemelerden gerekli oranda yarı iletken malzemeye ilave yapılır. Böylece istenilen dalga boyunda LED çipinin ışıma yapması sağlanır (Oruç, 2011). LED lambaların ışık yayılımları "darbe genişlik modülasyonu" veya "sabit akım azaltımı" uygulanarak ayarlanabilmektedir. Sabit akım azaltımı programlanabilen sürücüler olup alglerin ihtiyaç duydukları ışık yoğunluğun oluşturulmasına olanak sağlar (Chen ve ark., 2012). Floresan veya halojen lamba gibi ışık kaynaklarına oranla LED lambalar ısıyı etkin şekilde ışığa dönüştürerek alg hücrelerine zarar vermeden etkin şekilde fotobiyoreaktör sistemlerinde iç ve dış ışık kaynağı olarak kullanılabilmektedir (van Wagenen ve ark., 2014; Radzun ve ark., 2015). LED lambalar; küçük boyutlu olmaları, sağlam bir yapıya sahip olmaları, uzun ömürlü olmaları, yüksek etkinlik faktörü değerine sahip olmaları, renk değişim olanağı sağlamaları, ışınımlarında optik ısınma olmaması ve zararlı gaz içermemeleri olmaları nedeniyle mikro alg yetiştiricilik sistemlerinde kullanımları gün geçtikçe yaygınlaşmaktadır (Glemser ve ark., 2016).

2.6. LED Lambaların Mikroalg Yetiştiriciliği Üzerine Etkisi

LED lambaların alg kültürlerinde kullanımına yönelik çalışmalar, LED lamba teknolojilerinin ilerlemesiyle birlikte son yıllarda artış göstermiştir. Yüksek yoğunluklu alg kültürleri elde edilebilmesi amacıyla 680 nm dalga boylu (kırmızı) LED lambalar kullanılmıştır. Çalışma sonucunda alüminyum arsenid çiplerinden oluşmuş kırımızı LED lambanın *Chlorella pyrenoidosa*'nın hücre yoğunluğunu mililitrede $2x10^9$'ye ulaştığı ve ikilenme zamanının 12 saatten daha az bir sürede gerçekleştiği araştırmacılar tarafından

bildirilmiştir (Lee ve Palsson 1995).

Işık yoğunluğu ve kalitesinin mavi-yeşil alglerden *Synechoccus sp.*'nin fikosiyanin üzerine etkisini Takano ve ark. (1995) incelemişlerdir. Çalışma sonucunda kırmızı LED lambaların (660 nm) algin fikosiyanin üretimini tetiklediği saptamışlardır.

Matthijs ve ark. (1996), yeşil alglerden *Chlorella pyrenoidosa*'nın pigment üretimi için en uygun dalga boyunun 659 nm olduğu (kırmızı) bildirmişlerdir. Ayrıca, LED lambaların alg kültürlerinde kullanılarak enerji tasarrufunun sağlanacağı da belirtilmiştir.

Wang ve ark. (2007), mavi-yeşil alglerden *Spirulina platensis*'in büyümesi üzerine kırmızı, mavi, yeşil, sarı ve beyaz LED lambaların etkisini araştırmıştır. Çalışma sonucunda en yüksek büyüme (0,40 gün^{-1}) 3000 µmol $m^{-2}s^{-1}$ ışık şiddeti uygulanan kırmızı LED lambadan elde edilmiştir.

14 mm ışık yoluna sahip panel fotobiyoreaktörde 2100 µmol m^{-2} s^{-1} şiddetindeki kırmızı LED lambalar kullanılarak yapılan *Chlorella sorokiniana* üretiminde günlük hasat miktarına etkisini Cuaresma ve ark. (2009) araştırmışlardır. En yüksek üretim 0,24 saat^{-1} hasat uygulanan kültürlerde 707g k.a. m^{-2} h^{-1} olarak belirlenmiştir.

Chen ve ark. (2010), mavi-yeşil alglerden *Spirulina platensis* kullanılarak yapılan benzer bir çalışmada ise kırmızı LED lambaların algin büyümesine uygun olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, 750 - 1500 µmol m^{-2} s^{-1} şiddetindeki sarı ışığın ise klorofil *a* üretimini tetiklediği gözlemlenmiştir. 3000 µmol m^{-2} s^{-1} şiddetindeki mavi ışığın ise klorofil *a* ve fikosiyanin üretimini arttırdığı saptanmıştır. Çalışma sonucunda biyomas üretimi ile fikosiyanin miktarı arasında zıt bir ilişki olduğu bildirilmiştir.

Chlorella sp.'nin kırmızı, mavi ve beyaz LED lambalar kullanılarak yetiştiriciliği Oruç (2011) yapılmıştır. En yüksek hücre yoğunluğu floresan lamba kullanılan kontrol grubunda (96 x 10^6 hücre ml^{-1}) tespit edilmiştir. Omega 3 miktarı en yüksek beyaz LED kullanılan kültürlerde %20,61 olarak, omega 6 ise en yüksek mavi LED kullanılarak kültürlerde % 27,28 olarak saptanmıştır. Çalışma sonucunda mavi LED lambalarının harcanan elektrik maliyeti ve yağ asidi kompozisyonu için daha verimli olduğu belirlenmiştir.

Fu ve ark. (2012), *Chlorella vulgaris*'i LED lambalar kullanarak yetiştiriciliğini yapmışlardır. Denemenin başlangıcında düşük maliyetli LED lambalar kullanılmıştır. Ancak kültür yoğunluğunun artmasıyla ışık kaynağı yetersiz kalmış bu nedenle yüksek maliyetli 680 nm dalga boyunda ışık yayan LED lambalar kullanılmıştır. Deneme sonucunda hücre ağırlığının 20 d ka h l^{-1}'e ulaştığı belirlenmiştir.

D. salina'da β karoten lipit granülleri içinde biriktiği tespit edilmiştir. Aynı zamanda

D. salina bileşiminde yağ asidi içeriği saptanmıştır. Azot ilave edilmeyen kültürlerin toplam yağ asidi miktarı hücre içi konsantrasyonunda önemli ölçüde değişmediği gözlemlenmiştir. Bu daha önce de belirtilerin β karoten ve toplam yağ asit birikiminin bir birleriyle ilişkisi olmadığı görülmüştür. Ancak, hem yüksek ışık hem de azot stresi için β karoten birikimi etkilediği Lamers ve ark. (2010) tarafından bildirilmiştir.

Das ve ark. (2011) mavi, kırmızı, yeşil ve beyaz LED lambalarda *Nannochloropsis* sp.' nin fototrofik ve miksotrofik yetiştiriciliğinde büyüme ve yağ üretimini araştırmışlardır. Fototrofik kültürlerde toplam yağ miktarı yeşil LED lambalar ile % 20,45 olarak bulunmuştur. Maksimum yağ üretim verimliliği ise 55,13 mg l^{-1} gerçekleştirilen aydınlatmada bulunmuştur. Yeşil LED ile maksimum yağ birikimi gerçekleşirken mavi LED ile maksimum yağ üretim verimliliği elde edilmiştir.

Dunaliella salina türünün EgeMacc-024 yetiştiriciliğine etki ettiği sıcaklık ve büyüme hızını belirlemek için İmamoğlu ve ark. (2012) çalışma yapmışlardır. Çalışma sonucunda Optimal büyüme koşullar altında 22.09 °C'de, ışık şiddeti 55.75 mol foton m^{-2} s^{-1}'de, klorofil *a* konsantrasyonu 6,47 mg l^{-1} olarak bulunmuştur. Bununla birlikte, *D.salina* için maksimum spesifik büyüme hızı belirlenen koşullar altında 0,22 $gün^{-1}$, katlama zamanının 3,15 gün olduğu tespit edilmiştir.

Nannochloropsis oculata'nın büyüme ve yağ birikimi üzerine LED lambaların etkisini Kural (2013) araştırmıştır. Mavi ve beyaz LED lambaların kültürü büyütmek amacıyla, beyaz ve kırımızı LED lambaların ise hücrelerde stresi başlatmak amacıyla kullanılabileceğini bildirmiştir.

N-P-K gübresi ile zenginleştirilen yapay ortam (MD1) ve deniz suyu (MD4) kullanılarak *D. salina*'nın biyokütle, hücre yoğunluğu ve klorofil *a* ölçümleri yapılmıştır. MD4 ortamında *Dunaliella* hücrelerinin uyarıldığı ve 3 gün sonra büyüme gözlendiği bildirilmiştir. İki kültürde durağan fazda 2 hafta sonunda hücre ölümleri aşaması başlamıştır. MD4 ortamı düşük maliyetli ve yüksek verimlilik sağlamasına rağmen büyüme hızı ve pigment üretimi için optimize olmadığı belirlenmiştir (Tran ve ark., 2013).

Nannochloropsis salina ve *Dunaliella salina* türlerinin büyüme hızı ve yağ içeriğine etkilerini Chen ve ark. (2015) tarafından incelenmiştir. Besin tuzu eksikliğinin *N. salina*'nın yağ içeriğini arttırdığı gözlenmiştir. İki türün yağ içerikleri karşılaştırıldığında; *D. salina*'nın c-linolenik asit bakımından, *N. salina*'nın ise palmitoleik asit bakımından daha zengin olduğu bildirilmiştir.

Wu ve ark. (2016) *Dunaliella salina*'nın büyüme ve β karoten birikimi üzerine ışık, sıcaklık, KNO_3 ve $CO(NH_2)_2$'nin etkileri incelemişlerdir. Deneme sonuçlarına göre

faktörlerin β katoren üretimi üzerine etki sırası; sıcaklık >ışık şiddeti > KNO_3 > $CO(NH_2)_2$ > suş > $NaHCO_3$ olarak belirlenmiştir. Algin optimal büyümesinin 135,3 mmol m^{-2} s^{-1} ve 22 °C olduğunu belirlemişlerdir. En yüksek β karoten üretiminin ise 245,6 mmol m^{-2} s^{-1} ve 22 °C olduğunu (117,99 mg l^{-1}) saptamışlardır.

Mikro alglerden *Nannochloropsis oculata* ve *Tetraselmis chuii* türleri farklı LED lamba türleri ve renkleri kullanılarak yetiştirilmiştir (Schulze ve ark., 2016). Her iki alg türünde en yüksek C:N oranı floresan lambanın kullanıldığı kontrol gruplarından elde edilmiştir. Çalışma sonucunda 390 – 450 ile 630 – 690 nm dalga boylarının alglerin karbon fiksasyonu ile azot ve fosfat alım hızlarını arttırmak amacıyla birlikte kullanılması gerektiğini bildirmişlerdir.

Ra ve ark. (2016) *Nannochloropsis salina, N. oculata* ve *N. oceanica'*nın yağ içeriği üzerine ışık şiddeti, nitrat konsantrasyonu ile yeşil LED lambaların etkilerini araştırmışlardır. Yeşil LED lamba uygulanan alglerin yağ içerikleri *N. salina* için % 52, *N. oceanica* için % 53 ve *N. oculata* için %56 olarak bulunmuştur.

BÖLÜM 3
MATERYAL VE METOT

3.1. Organizma ve Kültür Şartları

Araştırma materyali olarak Ayvalık tuz gölünden izole edilen ve Borowitzka ve Siva (2007)'ya göre tayin edilen *Dunaliella salina* kullanılmıştır. Çalışma, Deniz Bilimleri Fakültesi, Su Ürünleri Yetiştiriciliği Ana Bilim Dalına ait laboratuvarlarda gerçekleştirilmiştir. Stok kültürler Değiştirilmiş Johnson ortamında (Johnson ve ark., 1968) 50 µmol foton m^{-2} s^{-1} ışık şiddetinde muhafaza edilmiştir.

3.2. Deneme Koşulları

Algin büyüme ve β karoten birikimi gerçekleştirdiği ışık kaynağını ve besin tuzu kompozisyonunu belirlemek amacıyla yapılan çalışmada; mavi (~460 nm), kırmızı (~660 nm), sarı (~590 nm) LED ve floresan (36W Master TL-D/840) lambalar ışık kaynakları, Değiştirilmiş Johnson (DJ) ortamı (1. Deneme), Fosfat içermeyen DJ ortamı (2. Deneme), Azot içermeyen DJ ortamı (3. Deneme) ile Fosfat ve Azot içermeyen DJ ortamı (4. Deneme) kültür ortamı olarak kullanılmıştır. Deneme grupları Tablo 1'de özetlenmiştir. Değiştirilmiş Johnson besin ortamının içerikleri Tablo 2,3 ve 4'de listelenmiştir. Denemeler 1 l'lik steril kültür kaplarında yapılmış olup tüm ışık kaynakları için ışık şiddeti 100 µmol foton m^{-2} s^{-1} olarak ayarlanmıştır. Kültürlerin sıcaklığı klimatize ortamda 20 ± 1ºC'de sabit tutulmuştur Hücrelerin kültür içinde sürekli şekilde karışımı Medo LA-100 marka hava motoru ile gerçekleştirilmiştir. Deneme gruplarının ışık şiddetleri LI-250A ışıkölçer (Li-Cor, USA) kullanılarak ayarlanmıştır.

3.3. Analizler

Denemeler süresince, kuru ağırlık içerikleri, hücre sayıları, spesifik büyüme hızı, Klorofil *a* ve β karoten, günlük olarak ölçülmüştür. Kuru ağırlık değerleri Zhu ve Lee (1997)'ye göre üç günde bir incelenmiştir. Bu amaçla önceden darası alınan Whatman GF/C filtre kâğıtlarından 20'şer ml süzülen alg örnekleri amonyum bikarbonat ile yıkanıp 105 ^{o}C lik etüvde 2 saat kurutulduktan sonra hassas terazide tartımı yapılmıştır.

Çizelge 3.1. *Dunaliella* kültürlerinde kullanılan Değiştirilmiş Johnson (DJ) ortamının besin tuzları

Kimyasal Madde	Miktar
$NaNO_3$	1,5 g l^{-1}
KH_2PO_4	1,5 g l^{-1}
KCl	0,2 g l^{-1}
$CaCl_2$	1,5 g l^{-1}
$NaHCO_3$	0,043 g l^{-1}
$MgCl_2$	1,5 g l^{-1}
DJ demir solüsyonu	1 ml l^{-1}
DJ A_5 iz metal	1 ml l^{-1}
Saf Su	1 l

Çizelge 3.2.Değiştirilmiş Johnson ortamı demir solüsyonu

Kimyasal Madde	Miktar
Na_2EDTA	189 mg l^{-1}
$FeCl_3$	224 mg l^{-1}
Saf Su	1 l

Çizelge3.3. Değiştirilmiş Johnson ortamı A5 iz metal solüsyonu

Kimyasal Madde	Miktar
H_3BO_3	2,860 g l^{-1}
$MnCl_2.4H_2O$	1,819 g l^{-1}
$ZnSO_4.7H_2O$	0,222 g l^{-1}
$NaMoO_4.2H_2.O$	0,390 g l^{-1}
$CuSO_4.5H_2O$	0,079 g l^{-1}
$Co(NO_3)_3.6H_2O$	49,400 mg l^{-1}
Saf Su	1 l

Kültürlerdeki hücre sayımları 3 tekrarlı olarak Neubauer sayma kamarasında gerçekleştirilmiştir. Spesifik büyüme hızı (μ) logaritmik büyüme fazında aşağıdaki formüller uygulanarak hesaplanmıştır.

$$\mu=\ln X_1 - \ln X_2/t_1 - t_2 \quad (3.1)$$

Formülde X_1 ve X_2 sırasıyla t_1 ve t_2 zamanlarındaki hücre sayıları belirtmektedir.

Klorofil *a* % 90'lık aseton ile Scor-Unesco (1966)'ya göre tespit edilmiştir. β karoten

içeriği ise Ben-Amotz ve Avron (1983)'a göre yapılmıştır. Kültürlerin DPPH radikal temizleme aktiviteleri Sun ve ark. (2009) yöntemine göre saptanmıştır.

Tablo 3.4. Deneme grupları

Deneme Grubu	Işık Kaynağı	Işık Kaynağı Rengi	Besin Tuzu Değişimleri
1	LED	Mavi	Değiştirilmiş Johnson Ortamı
	LED	Kırmızı	
	LED	Sarı	
	Floresan	Beyaz	
2	LED	Mavi	Fosfat içermeyen Değiştirilmiş Johnson Ortamı
	LED	Kırmızı	
	LED	Sarı	
	Floresan	Beyaz	
3	LED	Mavi	Azot içermeyen Değiştirilmiş Johnson Ortamı
	LED	Kırmızı	
	LED	Sarı	
	Floresan	Beyaz	
4	LED	Mavi	Fosfat ve Azot içermeyen Değiştirilmiş Johnson Ortamı
	LED	Kırmızı	
	LED	Sarı	
	Floresan	Beyaz	

Alglerin toplam yağ içeriği Folch (1957) yöntemi ile belirlenmiştir. 30 °C'de kurutulmuş alg örneklerinden 0,5 g tartılmış ve metanol: kloroform çözeltisinden (1:2) 10 ml eklenmiştir. 24 saat ışık almayan bir ortamda bekletilen örnekler daha sonra membran filtrasyonda süzülmüştür. Önceden darası alınmış balona konan süzüntü 60 °C'de evaparatöre yerleştirilerek metanol: kloroform çözeltisinin uçurulması sağlanmıştır. Örnekler 60 °C etüv de kurutulmuştur, soğuması için desikatöre konmuş ve 0,0001 g hassasiyetli terazide tartılmışlardır. Ağırlık farklarından yararlanılarak yağ miktarı yüzde olarak hesaplanmıştır.

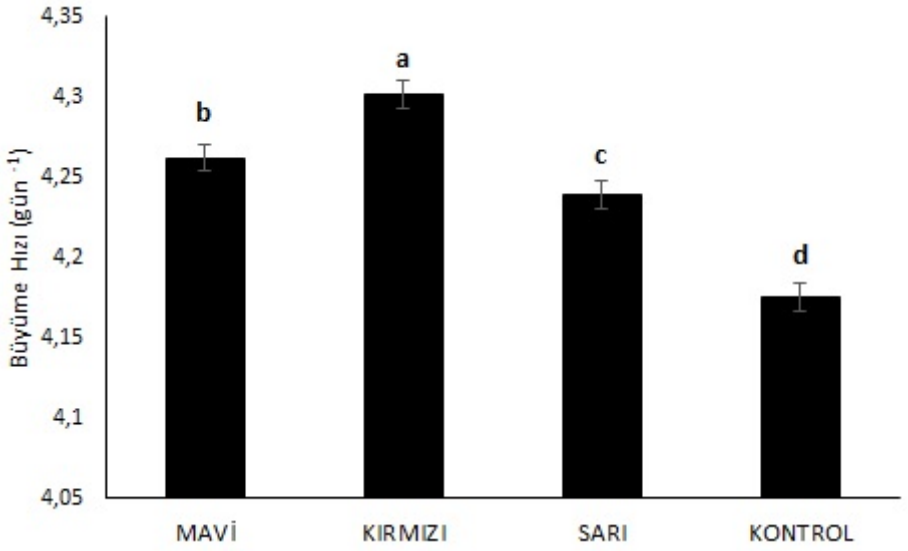
$$\text{Ham Yağ}(\%)=[(T_1-T_0)/m]*100 \quad (3.2)$$

Eşitlikte T_0: Balon jojenin ilk ağırlığı (g), T_1: İşlemden sonra balonun ve örnekteki yağın son ağırlığını (g), m: Örnek ağılığını (g) belirtmektedir

BÖLÜM 4
ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

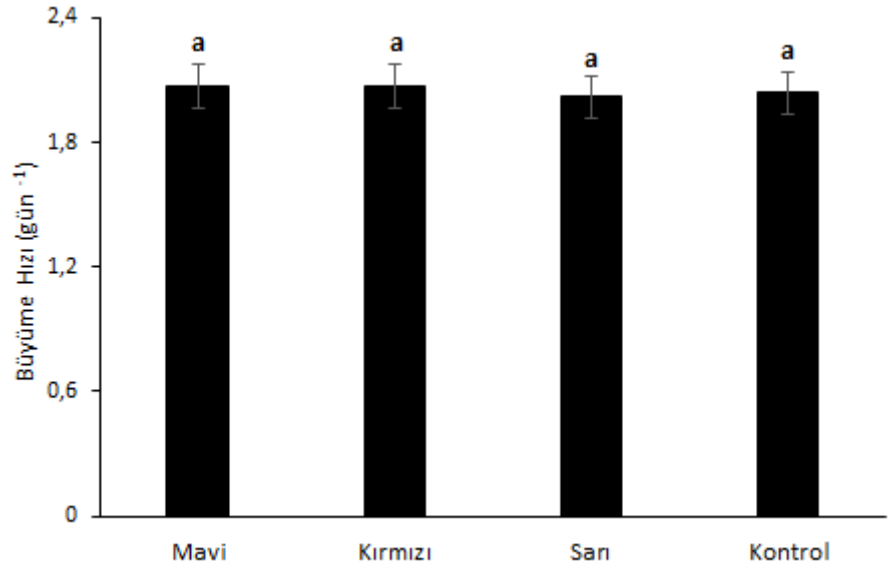
4.1. Farklı Renklerdeki LED Lambaların Algin Büyüme Hızına Etkisi

D. salina kültürlerinin en iyi büyüdüğü LED türünü belirlemek amacıyla değiştirilmiş Johnson ortamının kullanıldığı ilk denemede en yüksek büyüme hızı kırmızı LED lambaların kullanıldığı grupta 4,30 gün^{-1} olarak belirlenmiştir. En düşük büyüme hızı ise floresan lamba kullanıldığı kontrol grubunda 4,17 gün^{-1}olarak bulunmuştur (Şekil 4.1). Deneme gruplarının spesifik büyüme hızlarının arasında istatistiksel farklılıkların olduğu saptanmıştır ($p<0,05$).

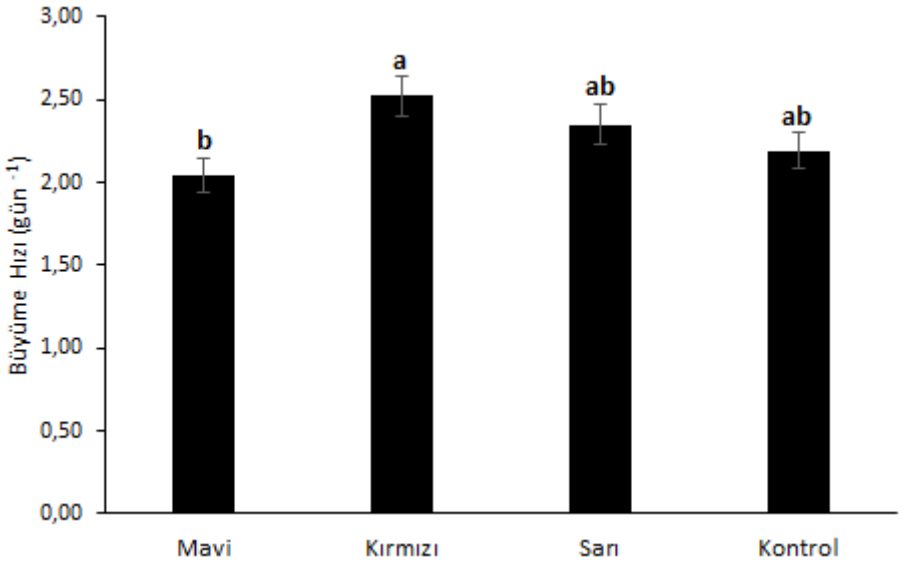


Şekil 4.1. Değiştirilmiş Johnson ortamında yetiştirilen *D. salina* kültürlerinin büyüme hızlarında meydana gelen değişimler

Fosfat ilave edilmeden hazırlanan değiştirilmiş Johnson ortamının kullanıldığı ikinci denemede; en yüksek büyüme hızı mavi ve kırmızı LED lambaların kullanıldığı grupta 2,07 gün^{-1} olarak saptanmıştır (Şekil 4.2.). En düşük büyüme hızı ise sarı LED lambanın kullanıldığı grupta 2,02 gün^{-1} olarak bulunmuştur. Deneme gruplarının spesifik büyüme hızlarının arasında istatistiksel farklılıkların olmadığı belirlenmiştir ($p>0,05$).

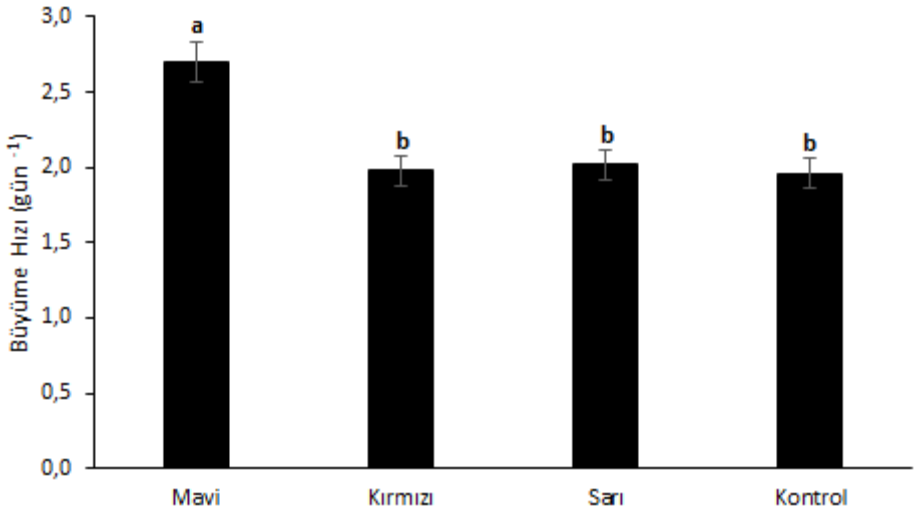


Şekil 4.2. Fosfat ilave edilmeyen deneme gruplarının büyüme hızlarında meydana gelen değişimler



Şekil 4.3. Azot ilave edilmeyen deneme gruplarının büyüme hızlarında meydana gelen değişimler

Azot kaynaklarının ilave edilmediği değiştirilmiş Johnson ortamında yetiştirilen deneme gruplarında; en yüksek büyüme hızı kırmızı LED lambaların kullanıldığı grupta 2,52 gün^{-1} olarak saptanmıştır. En düşük büyüme hızı ise mavi LED lambanın kullanıldığı grupta 2,04 gün^{-1} olarak bulunmuştur (Şekil 4.3.). Deneme gruplarının spesifik büyüme hızlarının arasında istatistiksel farklılıkların olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$).



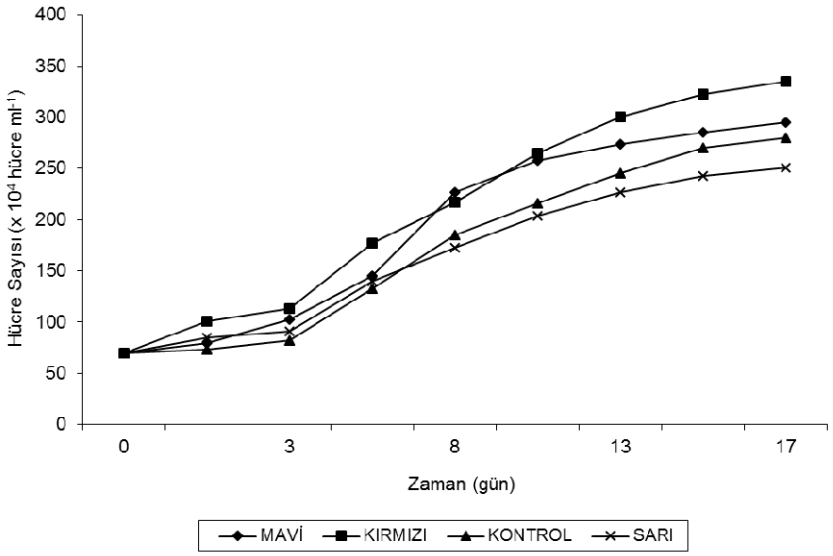
Şekil 4.4. Azot ve fosfat ilave edilmeyen deneme gruplarının büyüme hızlarında meydana gelen değişimler

Azot ve fosfat türevlerin kullanılmadan hazırlanan değiştirilmiş Johnson ortamına 20 gün boyunca alglerin büyüme hızlarındaki değişimler izlenmiştir. Deneme gruplarının büyüme hızları Şekil 4.4.'de gösterilmiştir. Grupların ortalama büyüme hızları 1,96 (kontrol) ile 2,70 (mavi LED) gün^{-1} arasında değişim göstermiştir. Grupların büyüme hızları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıkların bulunduğu belirlenmiştir ($p<0,05$).

Ginzburg ve Ginzburg (1981), Loeblich (1982) ile Ben-Amotz ve ark. (1982) farklı kültür koşulları altında gerçekleştirdikleri denemelerde *D. salina*'nın büyüme hızlarını 0,7 – 1,0 bölünme gün^{-1} olarak bildirmişlerdir. Denemelerde elde edilen büyüme hızları ile yukarıda belirtilen çalışmalardan daha yüksek olduğu gözlenmiştir. *Dunaliella* türlerinin büyüme özellikleri coğrafik bölgelere, türe ve suşa göre farklılık gösterebileceği Borowitzka ve Borowitzka (1992) tarafından bildirilmiştir.

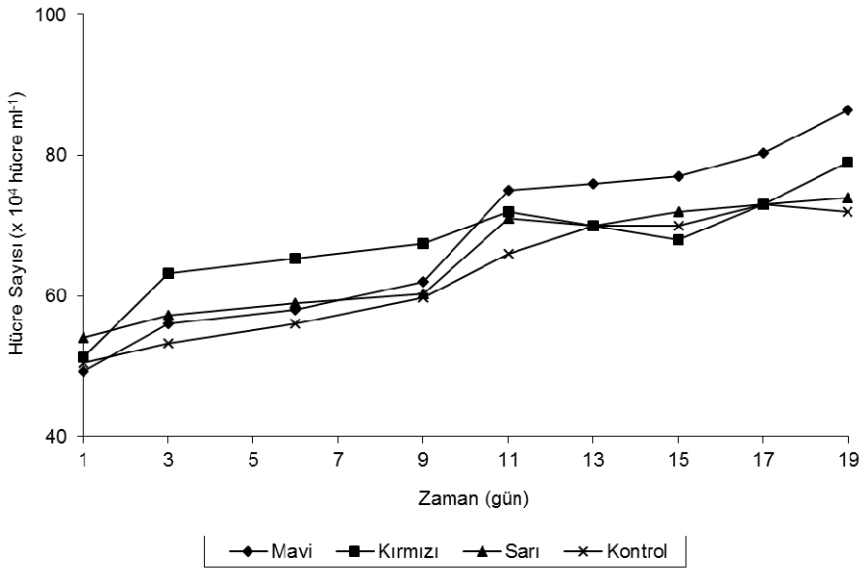
4.2. Farklı Renklerdeki LED Lambaların Algin Hücre Sayısına Etkisi

Çalışmalar süresince kültürlerden alınan örneklerin hücre sayıları ölçülmüştür. Değiştirilmiş Johnson ortamında azot ve fosfat kaynaklarının kullanıldığı birinci denemede *D. salina* kültürlerindeki en yüksek büyüme hızı kırmızı LED kullanılan gruplarda 335,3 x 10^4 hc ml^{-1} olarak belirlenmiştir. En düşük hücre yoğunluğu ise sarı LED kullanılan gruplarda (250,7 x 104 hc ml^{-1}) bulunmuştur (Şekil 4.5).

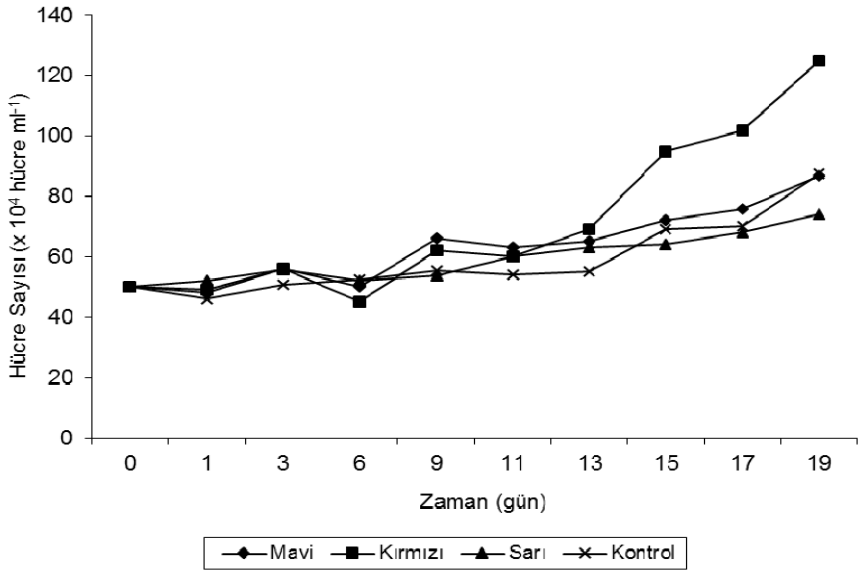


Şekil 4.5. Değiştirilmiş Johnson ortamında yetiştirilen *D. salina* kültürlerinin hücre sayılarında meydana gelen değişimler

Fosfatın kültür ortamına ilave edilmediği ikinci deneme grubunda en yüksek hücre sayısı mavi LED lambalarının kullanıldığı grupta (86,50 x 10^4 hc ml^{-1}) olarak belirlenmiştir (Şekil 4.6.). Floresan lambanın kullanıldığı kontrol grubu ile sarı LED lambaların kullanıldığı grubun büyüme eğrilerinin ve hücre sayılarının birbirine yakın olduğu saptanmıştır.

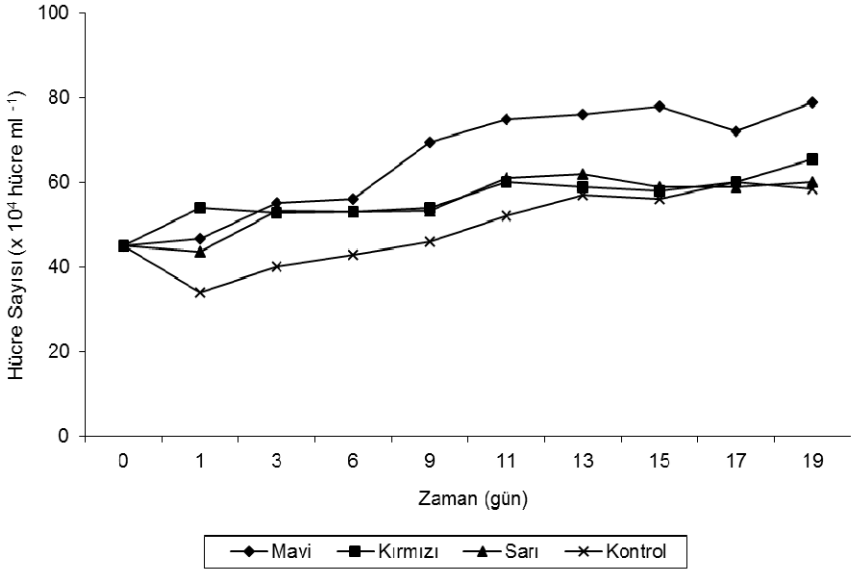


Şekil 4.6. Fosfat ilave edilmeyen deneme gruplarının hücre sayılarında meydana gelen değişimler



Şekil 4.7. Azot ilave edilmeyen deneme gruplarının hücre sayılarında meydana gelen değişimler

Azotun kullanılmadığı üçüncü denemede ise kültürlerin ilk yedi günü süresinde tüm grupların hücre sayılarının birbirine yakın olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.7.). 7. günden itibaren ise kırmızı LED lamba kullanılan grupta hücre sayısının diğer gruplara göre daha hızlı artış gösterdiği belirlenmiştir. Denemeler sonucunda en yüksek hücre sayısı kırmızı LED lambaların kullanıldığı grupta 125 x 10^4 hc ml^{-1} olarak bulunurken diğer grupların hücre sayılarını birbirine yakın olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.8. Azot ve Fosfat ilave edilmeyen deneme gruplarının hücre sayılarında meydana gelen değişimler

Azot ve fosfat kaynaklarının kullanılmadığı dördüncü denemenin hücre sayılarında meydana gelen değişimler günlük olarak izlenmiştir. En yüksek hücre sayısı mavi LED kullanılan gruplarda 79,0 x 10^4 hc ml^{-1} olarak saptanırken en düşük hücre sayısı kontrol grubunda 58,50 x 10^4 hc ml^{-1} olarak saptanmıştır.

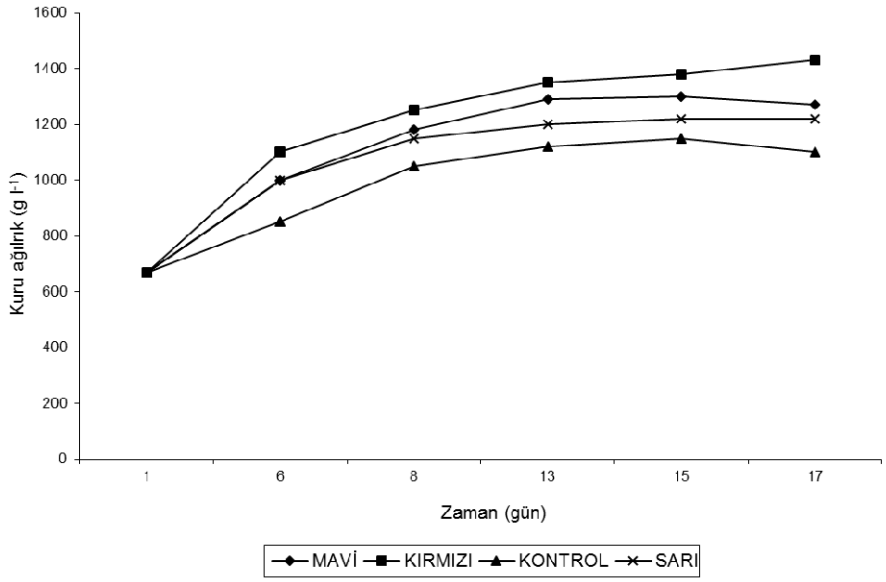
Mil'ko ve ark. (2011), Tran ve ark. (2013), Prieto ve ark. (2011); *Dunaliella* türlerinin karoten biriktirme kapasitelerini araştırmışlardır. Besin tuzu eksikliklerinin büyüme hızında ve hücre sayısında yükselmeye neden olmadığını bildirmişlerdir. Besin tuzu eksikliği olan grupların, değiştirilmiş Johnson ortamı kullanılan gruba göre çok daha az hücre sayısına sahip olduğu belirlenirmiş olup araştırma sonuçları Tran ve ark. (2013), ile benzerlik göstermektedir.

4.3. Farklı Renklerdeki LED Lambaların Algin Kuru Ağırlık Üzerine Etkisi

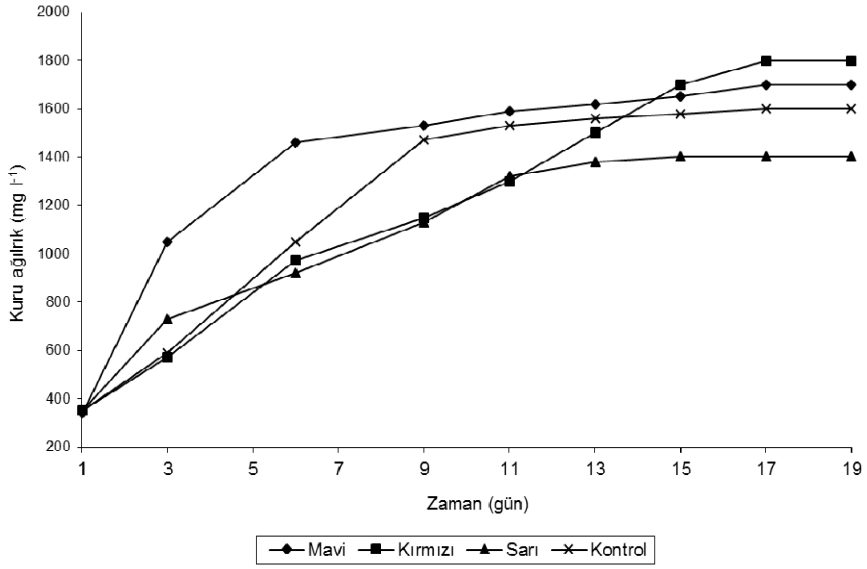
Çalışmalar sırasında kültürlerin kuru ağırlıklarında meydana gelen değişimler gün aşırı ölçülerek belirlenmeye çalışılmıştır. Kalın bir hücre çeperine sahip olmayan kültürlerin stres koşulları altında hücre sayıları artış göstermese bile kuru ağırlıklarında artışların olabileceği ve izlenmesi gerektiği Lamers ve ark. (2012) ve Wu ve ark. (2015) tarafından bildirilmiştir. Azot ve fosfatın kullanıldığı birinci deneme gruplarının kuru ağılık içeriklerinde meydan gelen değişimler Şekil 4.9'da gösterilmiştir. Deneme sonucunda en düşük kuru ağırlık miktarı kontrol grubunda 1100 mg l^{-1} (Kontrol) olarak belirlenirken en yüksek kuru ağrılık değeri 1430 mg l^{-1} olarak kırmızı LED lambaların kullanıldığı deneme grubundan elde edilmiştir.

Fosfatın kullanılmadığı ikinci deneme grubuna en düşük kuru ağırlık sarı LED lambaların kullanıldığı grupta (1400 mg l^{-1}) belirlenmiştir (Şekil 4.10). Kırmızı ve mavi LED lambaların kullanıldığı grupların ise kuru ağırlık değerlerini birbirine yakın olduğu (1800 ve 1700 mg l^{-1}) saptanmıştır.

Azotun kullanılmadığı üçüncü denemede Kırmızı LED lambalarının kullanıldığı grup ile Floresan lambanın kullanıldığı kontrol grubunu kuru ağırlık miktarlarının birbirlerine yakın olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.11). Deneme sonunda kuru ağırlık miktarları 930 (Sarı LED) – 1400 (Kırmızı LED) mg l^{-1} arasında değişim göstermiştir.



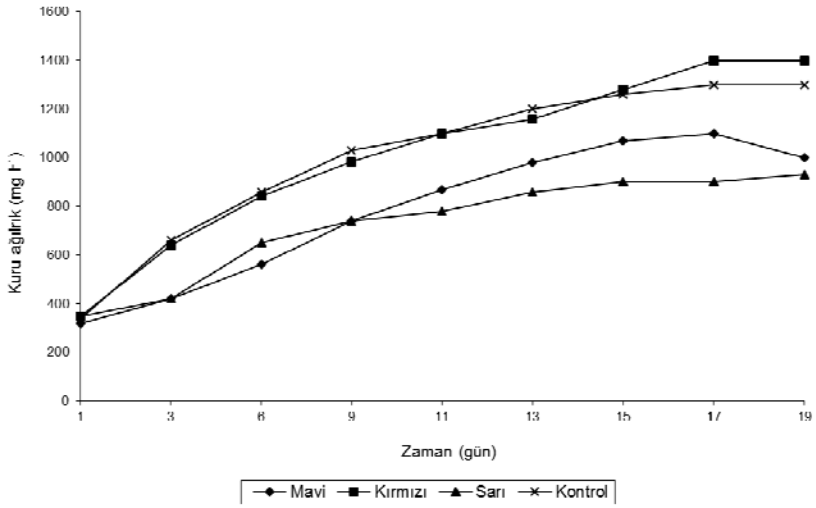
Şekil 4.9. Değiştirilmiş Johnson ortamında yetiştirilen *D. salina* kültürlerinin kuru ağırlık meydana gelen değişimler



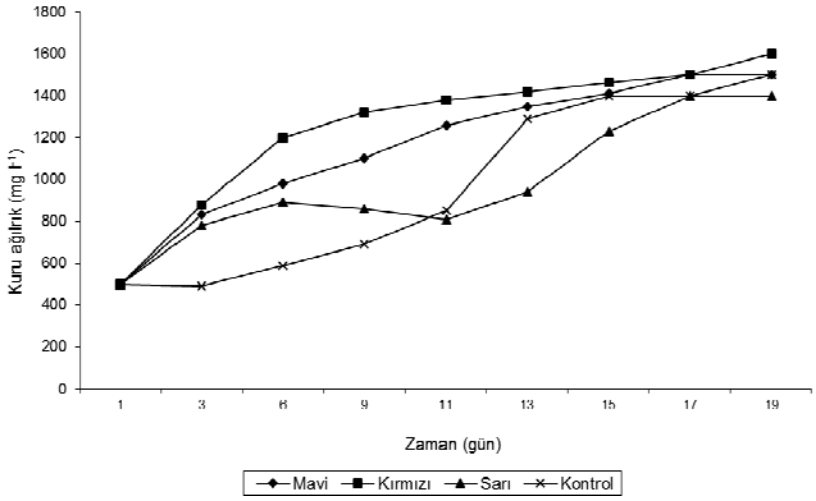
Şekil 4.10. Fosfat ilave edilmeyen deneme gruplarının kuru ağırlık miktarlarında meydana gelen değişimler

Azot ve fosfat kaynaklarının kullanılmadığı dördüncü denemede farklı dalga boyuna sahip LED lambalarda yetiştirilen *D. salina* alginin kuru ağırlık miktarlarında meydana gelen değişimler Şekil 4.12'de gösterilmiştir. Deneme sonucunda tüm gruplarının kuru ağırlık miktarlarının 1400 (Kontrol) ile 1600 (Kırmızı) mg l^{-1} arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir.

Mil'ko ve ark. (2011) kültürdeki azot ve fosfat konsantrasyonunun *D.salina* hücrelerine alımının birbirinden bağımsız olduğunu bildirmişlerdir. Kültür ortamında bir besin tuzu tükendiğinde hücrelerin diğer besin tuzlarını depoladığı Komaristaya ve ark. (2015) tarafından belirtilmiştir. Hücrelerin bu yeteneklerinin besin tuzu dağılımının sürekli değişim gösterdiği tuz göllerine uyum sağlamak için geliştirdikleri düşünülmektedir. Besin tuzunun sınırlandığı deneme gruplarının kuru ağırlıklarında meydana gelen artışın hücrelerin hem stres nedeniyle bünyesinde yağ globülü şeklinde pigment maddeleri depolamasından (Lamers ve ark., 2010; Wu ve ark., 2016) hem de kültürlerde farklı olan besin tuzu türelerini depolamalarından kaynaklandığı düşünülmektedir.



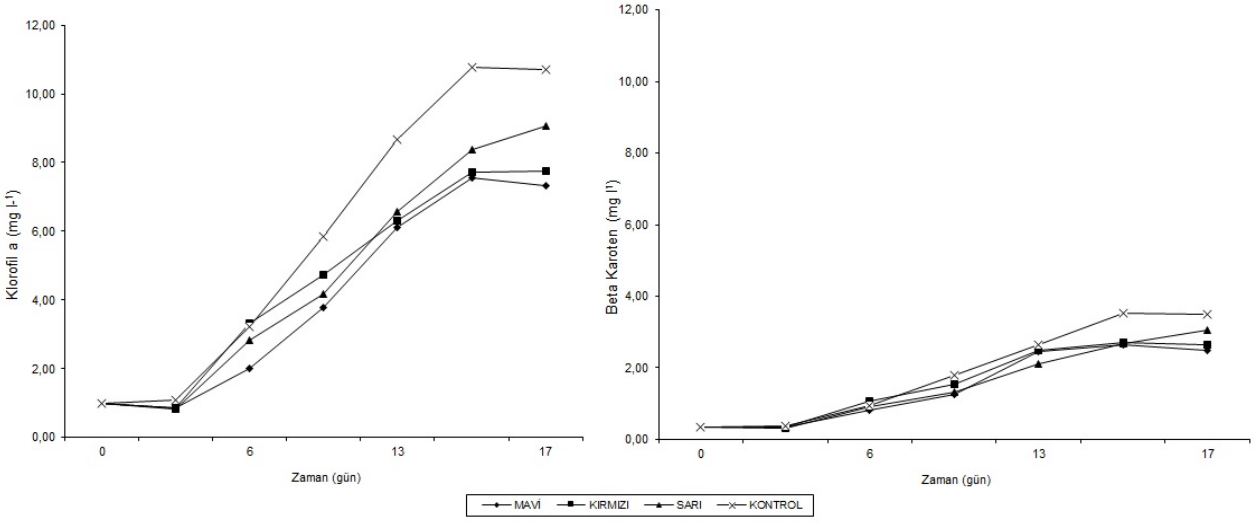
Şekil 4.11. Azot ilave edilmeyen deneme gruplarının hücre sayılarında meydana gelen değişimler



Şekil 4.12. Azot ve fosfat ilave edilmeyen deneme gruplarının kuru ağılık miktarlarında meydana gelen değişimler

4.4. Farklı Renklerdeki LED Lambaların Pigment içerikleri Üzerine Etkisi

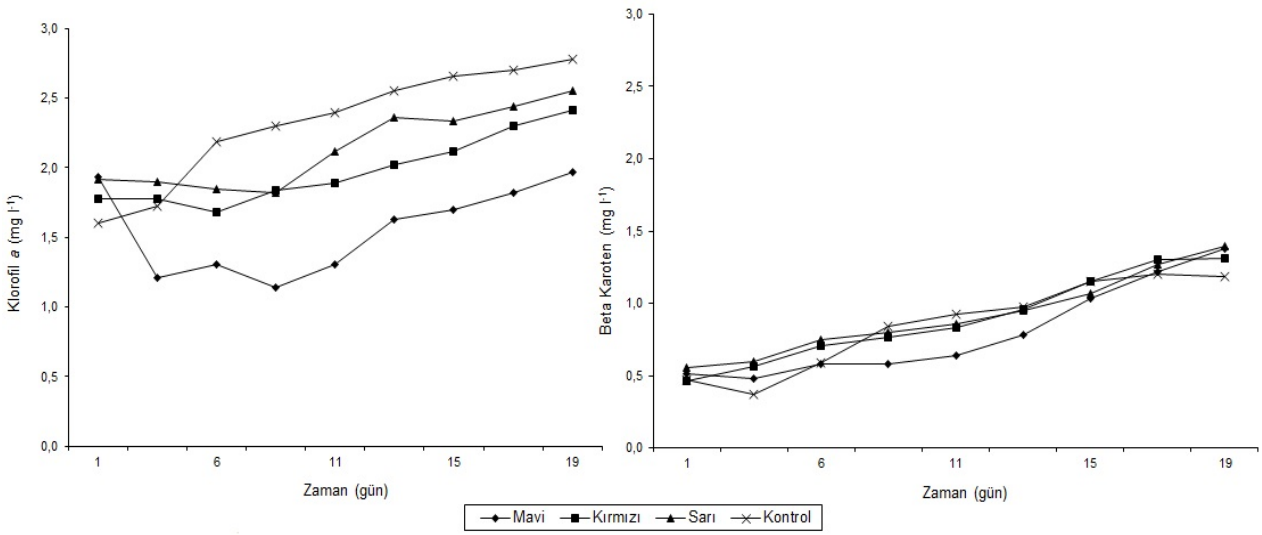
Değiştirilmiş Johnson ortamında azot ve fosfatın kullanıldığı birinci deneme süresince tüm grupların klorofil *a* ve β karoten miktarında meydana gelen değişimle Şekil 4.14.'de gösterilmiştir. Floresan lambaların kullanıldığı kontrol gurubunun klorofil *a* ve β karoten içerikleri sırasıyla 10,70 mg l^{-1} ve 3,49 mg l^{-1}. En düşük klorofil *a* ve β karoten içerikleri ise Mavi LED kullanılan grupta ise 7,31 mg l^{-1} ve 2,50 mg l^{-1} en düşük olarak bulunmuştur.



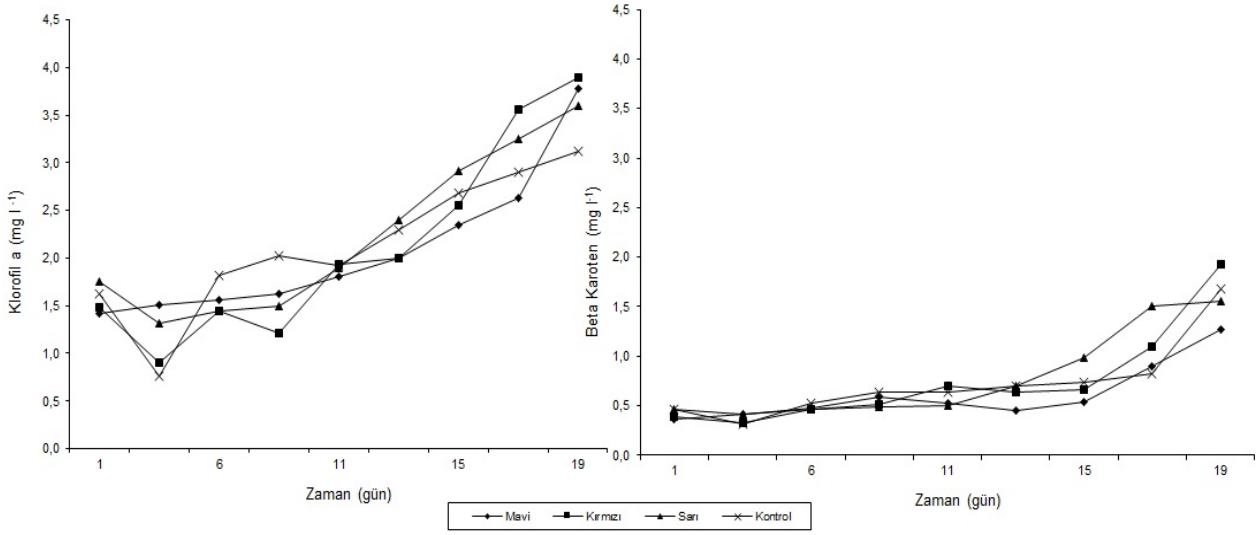
Şekil 4.13. Azot ve fosfat ilave edilen deneme gruplarının klorofil *a* ve β-karoten miktarlarında meydana gelen değişimler

Şekil 4.14.'de fosfat ilave edilmeyen grupların klorofil *a* ve β- karoten miktarında meydana gelen değişimler gösterilmiştir. Mavi LED kullanılan grubun klorofil *a* içeriği denemeler süresince diğer gruplardan daha az artış göstermiştir. Ancak, β- karoten birikim modelinin diğer gruplarla aynı olduğu belirlenmiştir. En yüksek klorofil *a* içeriği kontrol grubundan (2,78 mg l^{-1}) elde edilmiştir. Mavi, kırmızı ve sarı LED kullanılan grupların β-karoten içeriklerinin sırasıyla 1,38 mg l^{-1}, 1,31 mg l^{-1}ve 1,40 mg l^{-1} saptanmış olup, bu değerlerin birbirine yakın olduğu gözlenmiştir (Şekil 4. 15).

Azotun ilave edilmediği denemeler süresinde grupların klorofil *a* ve β-karoten miktarındaki değişimler Şekil 4.15.'da gösterilmiştir. Kırmızı LED kullanılarak yetiştirilen alglerin klorofil *a* ve β karoten içeriklerinin diğer gruplara göre daha yüksek olduğu bulunmuştur (sırasıyla, 3,90 ve 1,92 mg l^{-1}). En düşük klorofil *a* içeriği kontrol grubunda, en düşük β-karoten içeriği ise Mavi LED lambaların kullanıldığı grubundan elde edilmiştir.



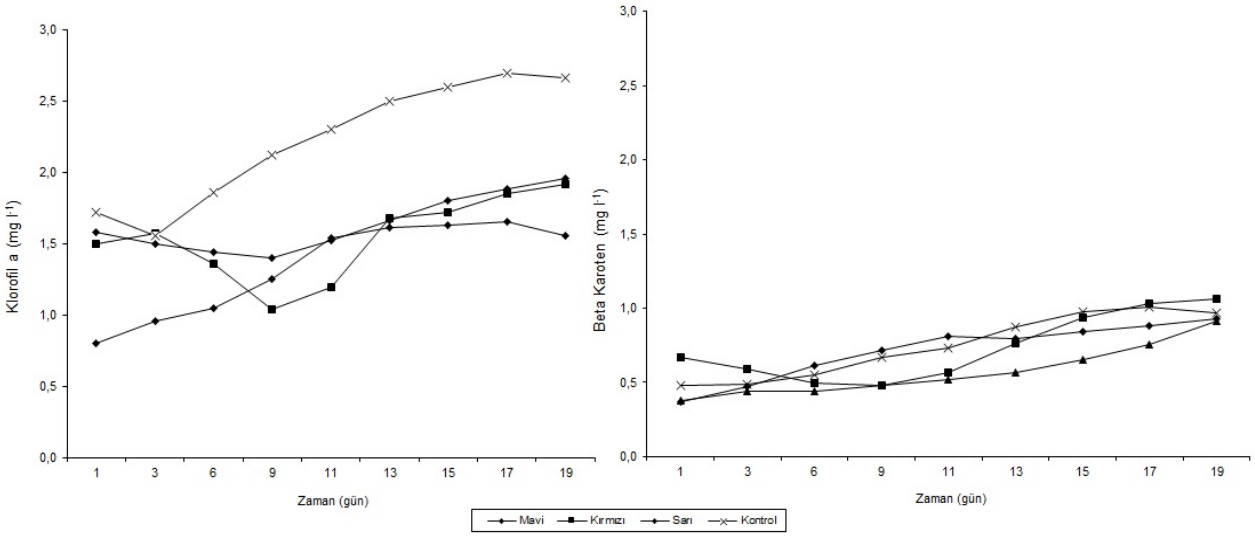
Şekil 4.14. Fosfat ilave edilmeyen deneme gruplarının klorofil *a* ve β-karoten miktarlarında meydana gelen değişimler



Şekil 4.15. Azot ilave edilmeyen deneme gruplarının klorofil a ve β-karoten miktarlarında meydana gelen değişimler

Azot ve fosfat kaynakları ilave edilmediği kültür ortamında yetiştirilen alglerin günlük klorofil *a* ve β-karoten miktarlarında meydana gelen değişimler Şekil 4.16.'de gösterilmiştir. Grupların klorofil *a* içerikleri denemeler süresince çok fazla artış göstermemiştir. Kontrol grubunun klorofil *a* içeriğinin diğer gruplardan daha hızlı arttığı belirlenmiştir. En yüksek klorofil *a* miktarı Kontrol grubunda 2,66 mg l^{-1} olarak belirlenirken LED lamba kullanılan grupların klorofil *a* miktarları 1,56 – 196 mg l^{-1} arasında değişmiştir. Grupların β-karoten içerikleri 0,91 – 1,06 mg l^{-1} arasında değişim

göstermiştir. β-karoten üretim miktarlarının birbirine yakın olduğu Şekil 4.17'da görülmektedir.

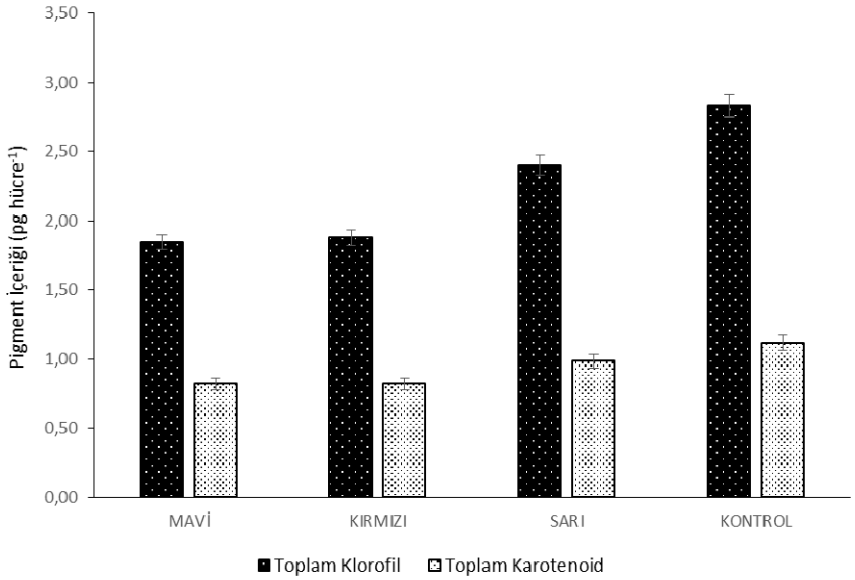


Şekil 4.16. Azot ve fosfat ilave edilmeyen deneme gruplarının klorofil *a* ve β-karoten miktarlarında meydana gelen değişimler

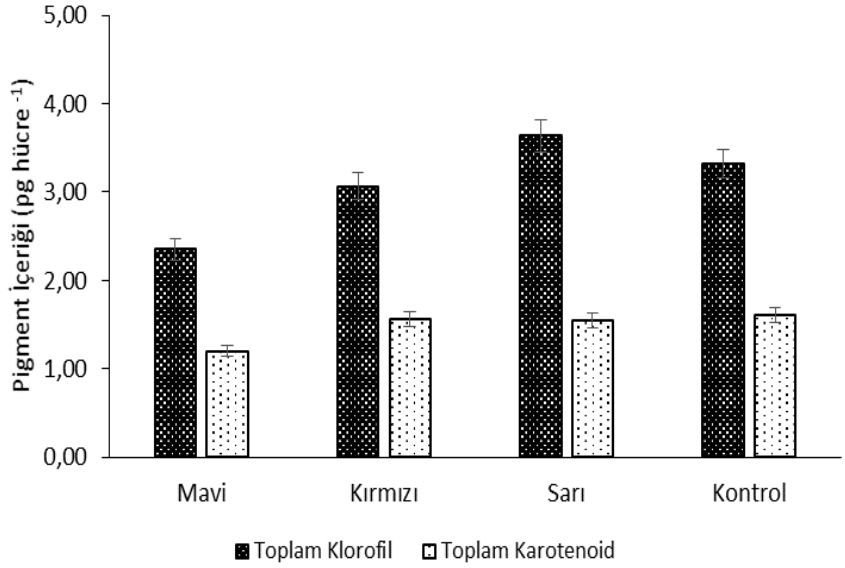
Besin tuzlarını eksiksiz kullanıldığı birinci denemede 3. günden itibaren tüm kültürlerin klorofil *a* miktarlarında artışların olduğu belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar Borowitzka ve Borowitzka (1992) ve Moulton ve ark. (1987) ile benzerlik göstermektedir. Işık şiddeti ile klorofil *a* içerikleri arasında ters bir ilişkinin bulunduğu Falkowski (1983) ve Garcia ve ark. (2007) tarafından bildirilmiştir. Elde edilen sonuçlar bu araştırmacıların bulguları ile benzerlik göstermektedir.

Besin tuzlarının eksiltildiği ikinci, üçüncü ve dördüncü denemelerin pigment içerikleri birinci denemeye göre daha düşük bulunmuştur. Ortamda besin tuzu eksiklerinin toplam klorofil ve klorofil *a* miktarını azaltabileceği Borowitzka ve Borowitzka (1992) ve Moulton ve ark. (1987) tarafından bildirilmiştir.

Denemelerin süresince alınan örneklerin ortalama hücre başına düşen toplam klorofil ve toplam karotenoid miktarları hesaplanmış olup Şekil 4.17. – 4.21. arasında gösterilmiştir. Birinci denemede en yüksek toplam klorofil ve toplam karotenoid miktarı sırasıyla 2,83 ve 1,12 pg hc^{-1} kontrol grubundan elde edilmiştir (Şekil 4.18). Fosfat içermeyen denemelerde hücre başına düşen en yüksek toplam klorofil ve toplam karotenoid miktarı ise sırasıyla 3,64 sarı LED) ve 1,61 (kontrol) pg hc^{-1} olarak belirlenmiştir (Şekil 4.18).



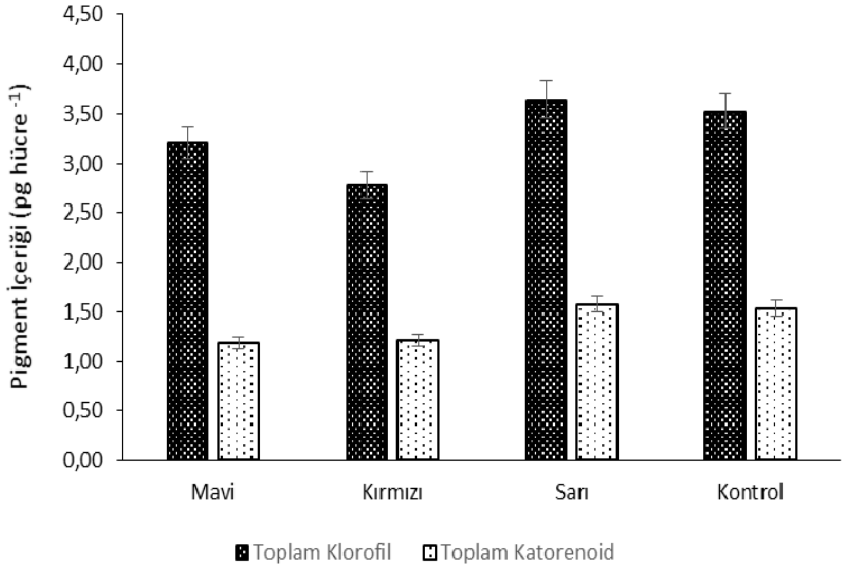
Şekil 4.17. Azot ve fosfat ilave edilen deneme gruplarının klorofil *a* ve β- karoten miktarlarında meydana gelen değişimler



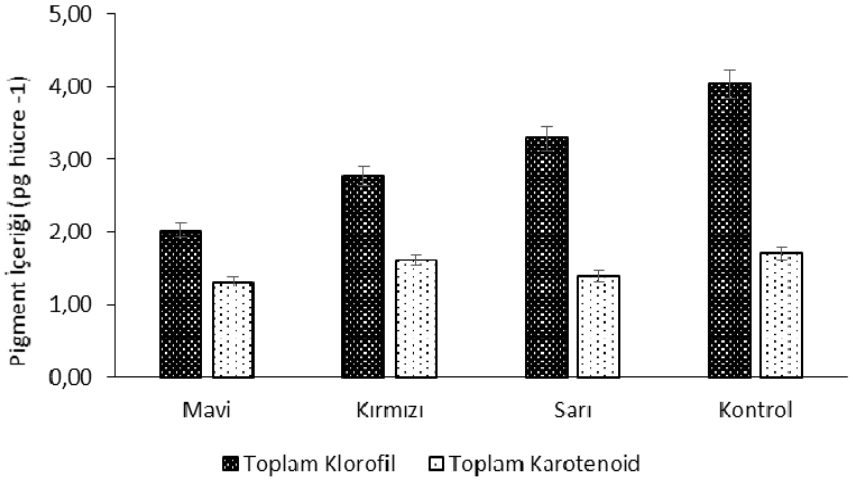
Şekil 4.18. Fosfat ilave edilmeyen deneme gruplarının klorofil *a* ve β- karoten miktarlarında meydana gelen değişimler

Azot bulunmayan deneme gruplarında hücre başına düşen en yüksek toplam klorofil ve toplam karotenoid miktarı ise sırasıyla 3,64 ve 1,57 pg hc^{-1} olarak sarı LED kullanılan gruptan elde edilmiştir (Şekil 4.19). Hücre başına düşen toplam klorofil miktarı gruplara göre farklılıklar göstermiştir (Şekil 4.20). Azot ve fosfatın kullanılmadığı denemelerde

hücre başına düşen en yüksek klorofil miktarı kontrol grubunda 4,04 pg hc^{-1} olarak belirlenmiştir. En düşük klorofil içeriği ise mavi LED lambaların kullanıldığı grupta 2,02 pg hc^{-1} olarak bulunmuştur. Grupların hücre başına düşen toplan karotenoid miktarlarının birbirlerine yakın olduğu belirlenmiştir. Gruplar arasında toplan karotenoid miktarı 1,31 (mavi LED) ile 1,71 (kontrol) pg hc^{-1} arasında değişim göstermiştir.



Şekil 4.19. Azot ilave edilmeyen deneme gruplarının klorofil *a* ve β- karoten miktarlarında meydana gelen değişimler

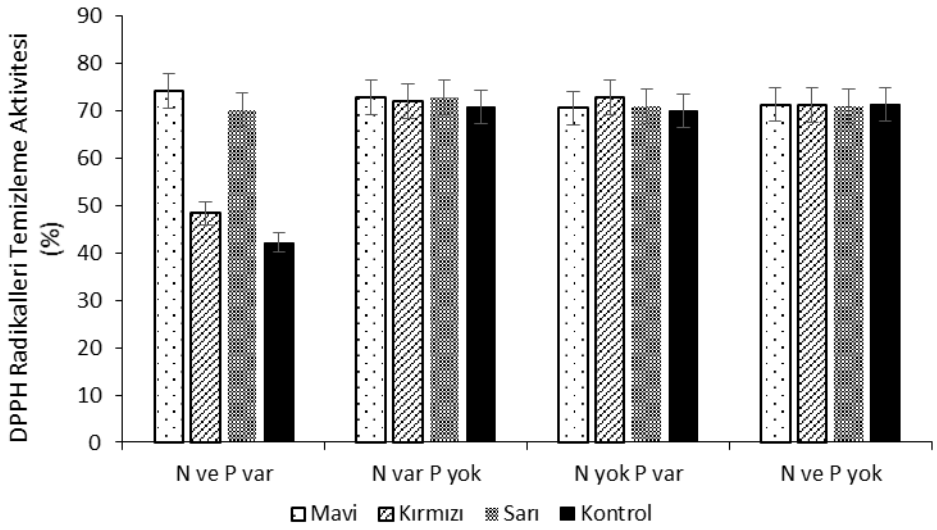


Şekil 4.20. Azot ve fosfat ilave edilmeyen deneme gruplarının klorofil *a* ve β- karoten miktarlarında meydana gelen değişimler

Dunaliella salina hücrelerinin karoten üretimiyle ışık şiddeti ve besin tuzu stresinin etkili olduğu farklı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Lamers ve ark., 2010; Singh ve ark., 2016; Tran ve ark., 2013; Wu ve ark., 2016). Komaristaya ve ark., (2015)'e göre *D. salina*'nın β-karoten akümülasyonunu hücre içerisinde depo edilen besin tuzlarının engellediğini belirtmiştir. Tüm deneme gruplarımızın hücre başına düşen toplam karotenoid miktarlarının toplam klorofil miktarlarından daha düşük olduğu tespit edilmiş olup, hücre içerisinde biriktirilen besin tuzlarının grupların karotenoid birikimlerini azalttığı sonucuna varılmıştır.

4.5. Farklı Renklerdeki LED Lambaların DPPH Radikalleri Temizleme Aktivitesi Üzerine Etkisi

Azot ve fosfat içeren deneme gruplarında yapılan çalışma sonunda hasat edilen biyomasın DPPH radikalleri temizleme etkisi ölçülmüştür. Farklı LED lambalarda yetiştirilen *D. salina* hücrelerinin farklı DPPH engelleme kapasitesine sahip olduğu görülmektedir (Şekil 4.21). En yüksek temizleme aktivitesi mavi LED kullanılarak yetiştirilen grupta %74,12 olarak belirlenirken en düşük miktar Kontrol grubunda %42,14 olarak saptanmıştır ($p<0,05$).



Şekil. 4.21. Deneme gruplarının DPPH radikalleri temizleme aktivitelerinde meydana gelen değişimler

Fosfat içermeyen grupların DPPH radikalleri temizleme kapasitesi % 70,67 (kontrol) ile % 72,83 (mavi LED) arasında değişim göstermiştir. Deneme grupları arasında istatistiksel olarak farklılıkların olmadığı belirlenmiştir ($p<0,05$). DPPH radikalleri

temizleme aktivitesi azot içermeyen deneme gruplarında % 70,03 (kontrol) ile % 72,72 (kırmızı LED) arasında değişim göstermiştir. Deneme grupları arasında istatistiksel olarak farklılıkların olmadığı belirlenmiştir ($p<0,05$). Hem azot ve hem de fosfat içermeyen deneme gruplarda DPPH radikalleri temizle aktiviteleri % 70,88 (sarı LED) ile % 71,26 (mavi LED) arasında değişim göstermiştir. Deneme grupları arasında istatistiksel olarak farklılıkların olmadığı belirlenmiştir ($p<0,05$).

D. salina'nın bünyesinde bulunan karotenoidler önemli antioksidanlardır (Ben-Amotz, 2004). Bu yeşil alg yüksek miktarlarda β-karoten içermesi nedeniyle başta gıda ve kozmetik olmak üzere birçok alanda kullanılmaktadır (Leach ve ark., 1998). Bu nedenle yetiştiricilik çalışmaları sırasında DPPH radikalleri temizleme aktivitelerinin belirlenmesi *D. salina*'nın ticari kültürünün geliştirilmesi için önemlidir. Birinci denemede hızlı büyüme eğilimi gösteren floresan ve kırmızı LED lamba kullanılan grupların en düşük DPPH radikalleri temizleme aktivitesine sahip olduğu çalışma sonucunda belirlenmiştir (Şekil 4.21). Besin tuzlarının ilave edilmediği diğer denemelerde ise DPPH radikalleri temizleme aktivitesi oranlarının birbirine yakın olduğu görülmüştür. Algin antioksidan madde içeriğine farklı dalga boyuna sahip lamba kullanımının etki etmediği çalışma sonucunda saptanmıştır. Besin tuzu eksikliği nedeniyle strese giren kültürlerin serbest radikal engelleme oranlarını arttığı düşünülmektedir.

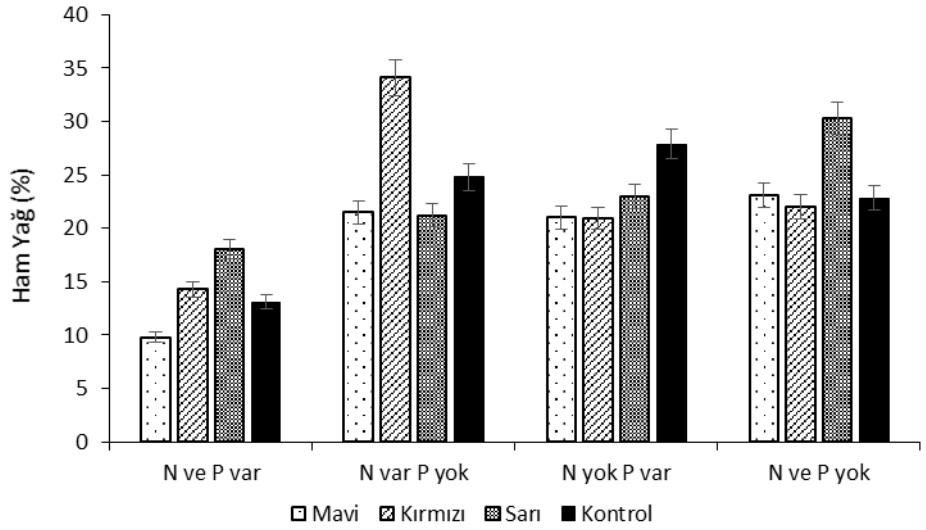
4.6. Farklı Renklerdeki LED Lambaların Algin Ham Yağ İçeriği Üzerine Etkisi

Denemeler sonladıktan sonra kültür kaplarındaki biyomas hasat edilip kurutulduktan sonra ham yağ içerikleri belirlenmiştir (Şekil 4. 22). Değiştirilmiş Johnson ortamının kullanıldığı birinci deneme grubunda en yüksek yağ içeriği %18 olarak sarı LED lambaların kullanıldığı deneme grubunda ölçülmüştür. En düşük yağ içeriği ise %9,8 olarak mavi LED lambaların kullanıldığı grupta incelenmiştir.

Fosfat içermeyen grupların en yüksek yağ içeriği %34,10 olarak kırmızı LED lambaların kullanıldığı gruptan elde edilirken en düşük yağ içerikleri ise mavi ve sarı LED lambaların kullanıldığı (sırasıyla %21,5 ile 21,2) gruplarda belirlenmiştir. Grupların yağ içerikleri arasında ise istatistiksel yönden farklılıkların olduğu yapılan analizler sonucunda saptanmıştır ($p<0,05$).

Azot içermeyen gruplarda en yüksek yağ içeriği %27,9 olarak floresan lambaların kullanıldığı kontrol grubundan elde edilirken en düşük yağ içerikleri ise kırmızı ve mavi LED lambaların kullanıldığı (sırasıyla %20,9 ile 21,0) gruplarda belirlenmiştir. Grupların

yağ içerikleri arasında ise istatistiksel yönden farklılıkların olduğu yapılan analizler sonucunda saptanmıştır ($p<0,05$).



Şekil. 4.22. Deneme gruplarının ham yağ miktarında meydana gelen değişimler

Azot ve fosfatın kullanılmadığı gruplarda en yüksek yağ içeriği %30,3 olarak floresan lambaların kullanıldığı kontrol grubundan elde edilirken en düşük yağ içerikleri ise kırmızı LED lambaların kullanıldığı (%22,0) gruplarda belirlenmiştir. Grupların yağ içerikleri arasında ise istatistiksel yönden farklılıkların olduğu yapılan analizler sonucunda saptanmıştır ($p<0,05$).

Büyümenin gerçekleştiği birinci denemedeki grupların ham yağ içeriklerinin diğer deneme gruplarına göre daha düşük olduğu çalışma sonucunda belirlenmiştir. En yüksek ham yağ miktarı fosfatın sınırlandırıldığı grupta kırmızı LED kullanılan kültürlerde saptanmıştır. Mavi ve sarı LED lambaların algin ham yağ içeriğini arttırmadığı denemeler sonucunda gözlenmiştir. Farklı çalışmalarda *D. salina*'nın ham yağ içeriği % 15 – 45 arasında değiştiği, azotun sınırlandırıldığı durumlarda ise algin yağ içeriğinin % 55'lere yükseldiği bildirilmektedir (Chen ve ark., 2015; Weldy ve Hussemann, 2007). Mikro algin yağ ve β-karoten içerikleri arasında bir ilişki olduğu Ben-Amotz (2004) tarafından bildirilmiştir. Çalışmamız sonucunda elde ettiğimiz ham yağ değerlerinin Weldy ve Hussemann (2007) bildirdiği değerler içerisinde olduğu saptanmıştır.

BÖLÜM 5
SONUÇ VE ÖNERİLER

D. salina'nın büyüme hızı ve pigment içerikleri sıcaklık, tuzluluk ve sudaki besin tuzu konsantrasyonu gibi faktörlerden etkilenmektedir (Can ve ark., 2016;Lamers ve ark., 2012; Singh ve ark., 2016). Alglerin büyüme hızını etkileyen en önemli faktörlerden biri de ışıktır. Kültürlerde kullanılan ışığın cinsi ve şiddeti alglerin büyüme hızı ve biyokimyasal kompozisyonunu farklılaştırmaktadır (Ak ve ark., 2008; Ben-Amotz ve Shaish, 1992;Fu ve ark., 2012). Son yıllarda, özellikle karasal bitkilerin verimlerinin arttırılması amacıyla LED lambaların kullanımı yaygınlaşmıştır (Paudel ve ark., 2008).

Bu çalışmada Mavi, Kırmızı ve Sarı LED lambaların *D. salina*'nın büyüme ve biyokimyasal kompozisyonuna etkileri araştırılmıştır. En yüksek büyüme hızı ve hücre sayısı Kırmızı LED kullanılan gruplarda olduğu belirlenmiştir. En yüksek β-karoten birikimi ise floresan lamba kullanılarak ile yetiştirilen kültürlerden elde edilmiştir. Engelleme kapasitesi ve ham yağ içerikleri ise sırasıyla Mavi ve Kırmızı LED kullanılan gruplarda saptanmıştır.

Çalışma sonucunda elde edilen bulgular ışığında aşağıdaki öneriler sunulmuştur:

- Yüksek ışık enerjisine sahip Kırmızı ve Mavi LED lambalarla *D. salina*'nın pigment biriktirme kapasitesi ile ilgili çalışmalar yapılmalıdır.
- Farklı tuzluluk ve sıcaklık değerlerinde LED lambaların algin büyüme ve pigment birikimi üzerine etkisi araştırılmalıdır.
- Fotobiyoreaktör sistemlerinde LED lambaların ucuz ışık kaynağı olarak kullanılması ve biyomas verimi ile ilgili çalışmalar yapılabilir.

Günümüzde kullanım alanları hızla yaygınlaşan LED lambalar diğer lamba çeşitlerine göre % 80 daha az enerji harcalar ve daha dayanıklıdırlar. Bu nedenle, ekonomik öneme sahip mikro alg kültürlerinin üretiminde LED lambaların kullanımına yönelik yapılacak çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu tez kapsamında elde edilen sonuçlara dayanarak *D. salina*'dan ekstrakte edilmek istenilen ürüne göre farklı dalga boyuna sahip ışık kaynaklarının kullanılması önerilmektedir.

KAYNAKLAR

Ak İ., Cirik S., Göksan T., 2008. Effects of Light Intensity, Salinity and Temperature on Growth in Çamaltı Strain of *Dunaliella viridis* Teodoresco from Turkey. Journal of Biological Sciences,8(8):1356 – 1359.

Ak İ., Cirik S., Göksan T., Koru E., 2012. Efeect of Salinity an Growth Characteristics and Pigment Composition of Two Strains of *Dunaliella viridis* Teodoresco: Laboratory and Outdoor Studies. Fresenius Environmental Bulletin, 21(2), 337-342.

Avron M., 1992. Osmoregulation,. In: *Dunaliella*: Physiology, biochemistry and biotechnology, Avron, M. And Ben-Amotz, A. (eds.), CRC Press, Boca Raton, Florida , pp 135 – 164 .

Ben-Amotz A., Katz A., Avron M., 1982. Accumulation of β – carotene in halotolerant algae: purification and characterization of β – carotene rich globules from *Dunaliella bardawil* (*Chlorophyceae*). J. Phycol 18:529-537.

Ben-Amotz A., Avron M., 1983. On the Factors Which Determine Massive Beta-Carotene Accumulation in the Halotolerant Alga *Dunaliella bardawil*.Plant Physiol 72 (3):593-597.

Ben-Amotz A., 1991. The biotechnology of cultuvating *Dunaliella* for production of β carotene rich algae. BiosourceTechnology38:233 – 235.

Ben-Amotz A., Shaish A., 1992. Carotene bio-synthesis. In: Avron, M., Ben-Amotz, A. (Eds.), *Dunaliella*: Physiology, Biochemistry and Biotechnology. CRC Press, Boca Raton, FL,206–216pp.

Ben-Amotz A., 2004. Industrial Production of Microalgal Cell-mass and Secondary Products—Major Industrial Species: *Dunaliella*. In: Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology A. Richmond (eds.),Blackwell Synergy. p.120-128.

Borowitzka M.A., Borowitzka L.J., 1992. Microalgal biotechnology, Cambridge University press, Vol :1, Cambridge, 477p.

Borowitzka M.A., Siva C.J., 2007. The taksonomy of the genus *Dunaliella (Chlorophyta,*

Dunaliellales) with emphasis on the marine and halophilic species. J. Appl. Phycol.10017/10811.

Bosma R., Wijffels R.H., 2003. Marine biotechnology in education; a competitive approach. Biomol Eng 20(4 – 6):125-131.

Can S:S., Cirik S., Koru E., Turan G., Tekoğul H., Subakan T., 2016. Effects of salinity, light and nitrogen concentration on growth and lipid accumulation of the green algae *Dunaliella bardawil*. Fresenius Environmental Bulletin. 25 (5): 1437-1447.

Capasso J.M., Cosisio B.R., Berl T., Rivard C.J., Jimenez C., 2003. A colourmetric assay for determination of cell viability in algal culture. Bio. Eng. 20: 133-138.

Chen H.-B., Wu J.-Y., Wang C.-F., Fu C.-C., Shieh C.-J., Chen C.-I, Wang C.-Y., Liu Y.-C., 2010. Modeling on chlorophyll a and phycocyanin production by *Spirulina platensis* under various light-emitting diodes. Biochemical Engineering Journal 53(1): 52-56.

Chen M., Mertiri T., Holland T., Basu A.S., 2012. Optical microplates for high-throughput screening of photosynthesis in lipid-producing algae. Lab Chip 12(20):3870–3874.

Chen Y., Tang X., Kapoore R. V., Xu C., Vaidyanathan S., 2015. Influence of nutrient status on the accumulation of biomass and lipid in *Nannochloropsis salina* and *Dunaliella salina.* Energy Conversion and Management, 106, 61-72.

Cuaresma M., Janssen M., Vılchez C., Wijffels R. H., 2009. Productivity of *Chlorella sorokiniana* in a short light-path (SLP) panel photobioreactor under high irradiance. Biotechnology and Bioengineering 104(2): 352-359.

Çakmak Y.S., Kaya M., Ozusaglam M. A., 2014. Biochemical composition and bioactivity screening of various extracts from *Dunaliella salina*, a green microalga. Experimental and Clinical Sciences.13:679-690.

Çelekli A., Bozkurt B., Dönmez G. 2012. Predictive Modeling of Beta Carotene Accumulation by *Dunaliella salina* as a Function of pH, NaCI, and Irradiance. *Russian journal of plant physiology*, *61*(2), 215-223.

Çelekli A., Dönmez G., 2006. Effect of pH, light intensity, salt and nitrogen concentrations on growth and β-carotene accumulation by new isolate of *Dunaliella sp*. World Journal of Microbiology & Biotechnology 22: 183 -189.

Das P., Lei W., Aziz S.S., Obbard J.P., 2011. Enhanced algae growth in both phototrophic and mixotrophic culture under blue light. Bioresource Technology. 102(4):3883 – 3887.

Dudu E.Ü., Kanlıtepe Ç., Çıracı C., Dönmez G., 2001. Tuz Gölünden (Konya – Türkiye) Izole Edilen *Dunaliella* Türlerinin Gliserol Üretim Kapasitesinin Belirlenmesi. . Ege Üniv. Su Ürünleri Dergisi I. Algal Teknoloji Sempozyumu:225-232.

Durmaz Y., Gökpınar Ş., 2006. *Dunaliella salina* (Dunal) *Teodoresco (Chlorophyceae)* Büyümesi Üzerine Tuz Derişimlerinin Etkileri. E.U. Su Ürünleri Dergisi (1-2): 121 - 124.

Falkowski P.G., 1983. Light-Shade adaptation and vertical mixing of marine phytoplankton: A comparative field study. Journal of Marine Research. 41:215 – 237.

Folch J., Lees M., Sloane-Stanley G.H.S., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. Journal of Biological Chemistry. 226: 497-509.

Fu W., Gudmundsson O., Feist A.M., Herjolfsson G., Brynjolfsson S., Palsson BØ., 2012. Maximizing biomass productivity and cell density of *Chlorella vulgaris* by using light- emitting diode-based photobioreactor. Journal of Biotechnology 161(3): 242-249.

Garcia F., Freile-Pelegrín Y., Robledo D., 2007. Physiological characterization of *Dunaliella* sp. (Chlorophyta, Volvocales) from Yucatan, Mexico. Bioresource Technology 98 (7), 1359-1365.

Ginzburg M., Ginzburg B.Z., 1981. Interrelationships of light, temperature, sodium chloride and carbon source in growth of halotolerant and halophilic strains of *Dunaliella*. Br. Phycol. J. 16. 313 – 324.

Glemser M., Heining M., Schmidt J., Becker A., Garbe D., Buchholz R., Brück T., 2016. Application of light-emitting diodes (LEDs) in cultivation of phototrophic microalgae: current state and perspectives. Applied Microbiology and Biotechnology. 100(3):1077 – 1088.

İmamoglu E., Demirel Z., M. D., Conk, 2014. Evaluation of culture conditions of locally isolated *Dunaliella salina strain* EgeMacc-024. Biochemical Engineering Journal.

92: 22 – 27.

Javanmardian M., Palsson B.Ø., 1991. High-densityphotoautotrophicalgalcultures: design, construction, andoperation of a novel photobioreactorsystem, Biotechnol. Bioeng. 38: 1182–1189.

Jimenez M., Mateo R., Mateo J.J., Huerta T., Hernandez E., 1991. Effcet of the incubation conditions on the production of patulin by *Penicillium griseofulvum* isolated from wheat. Mycopathologia, 115: 163-168.

Johnson M.K., Johnson E.J., McElroy R.D., Speer H.L. Bruff B.S., 1968. Effects of Salts on the Halophilic Alga *Dunaliella viridis*. Journal of Bacteriology. 95:1461-8.

Komaristaya V.P., Antonenko S.P., Rudas A.N., 2015. Nutrient stored inside *Dunaliella salina* cells prevents beta-carotene accumulation under its medium deficiency. The VI Open Congress of Phytobiologists of Black Sea Region, At Kherson, Ukraine, Mayıs, 2015. pp: 46-49.

Kural Ö., 2013. *Nannochloropsis oculata* (Droop) Hibberd (*Eustigmatophyceae*)'in LED lambalar ile büyüme ve yağ biriktirme özelliklerinin belirlenmesi. Canakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Yetiştiricilik A.B.D., Çanakkale.

Lamers P.P., Van de Laak C.C., Kaasenbrood P.S., Lorier J., Janssen M., De Vos R.C., Bino R.J., Wijffels R.H., 2010. Carotenoid and fatty acid metabolism in light-stressed *Dunaliella salina*. Biotechnology and Bioengineering 106(4): 638-648.

Lamers P.P., Janssen M., De Vos R.C.H. Bino R., Wijffels R., 2012. Carotenoid and fatty acid metabolism in nitrogen-starved *Dunaliella salina*, a unicellular green microalga. Journal of Biotechnology. 162(1):21 – 27.

Leach G., Oliveria G., Moralis R., 1998. Spray drying of *Dunaliella salina* to produce a β carotene rich powder. Journal of industrial Microbiology & Biotechnology . 20:82-85.

Lee C.G., Palsson B.Ø., 1995. Light emitting diode-based algal photobioreactor with external gas exchange. Journal of Fermentation and Bioengineering 79(3): 257-263.

Loeblich L.A., 1982. Photosynthesis and Pigments Influenced by Light Intensity and

Salinity in the Halophile *Dunaliella salina*(Chlorophyta). Journal of the Marine Biological Association, UK, 62, 493 -508.

Marin N., Morales F., Lodeiros C., Tamigneaux E., 1998. Effect of nitrate concentration on growth and pigment synthesis of *Dunaliella salina* cultivated under low illuminaion and preadapted to different salinites. Journal of Applied Phycology. 10:405-411.

Massjuk N.P, Posudin Y., Lilitskaya G., 2007. ФОТОДВИЖЕНИЕ КЛЕТОК Dunaliella Teod. (Dunaliellales, Chlorophyceae, Viridiplantae). National Academy of Sciences of Ukraine, M.G. Kholodny Institute of Botany, National Agricultural University Press. Kyiv, Russia. Pp. 35 – 40.

Matthijs H.C.P., Balke H., Van Hes U.M., Kroon B.M.A., Mur L.R., Binot R.A., 1996. Application of light-emitting diodes in bioreactors: Flashing light effects and energy economy in algal culture (*Chlorella pyrenoidosa*). Biotechnology and Bioengineering 50(1): 98-107.

Mil'ko S.I., Komaristaya V.P., Rudas A.N., 2011. Effect size of some factors influencing productivity indexes in *Dunaliella salina* Teod. Culture. V.N. Karazin Natural Science Studios. pp: 293 – 295.

Oren A., 2006. Halophilic Microorganisms and their environments. Kluwer Academic Publishers. pp: 517-537.

Oruç E.A., 2011. Farklı renkteki LED ışık kaynaklarının *Chlorella sp*.'nin büyümesi ve yağ asitleri kompozisyonuna etkisi. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Yetiştiriciliği A.B.D., Bornova, İzmir.

Paudel P.R., Kataoka I., Mochioka R., 2008. Effect of red- andblue-light-emittingdiodes on growth and morphogenesis of grapes. Plant Cell Tiss Organ Cult. 92:147–153.

Prieto A.J., Canavate P., Garcia-Gonzalez M., 2011. Assesment of carotenoid production by *Dunaliella salina* in different culture systems and operation regimes. Journal of Biotechology. 151: 180 – 185.

Ra C.H., Kang C.H., Jung J.H., Jeong G.T., Kim S.K., 2016. Effects of light – emitting diodes (LEDs) on the accumulation of lipid content using a two-phase culture process with three microalgae. Bioresource Technology. 212: 254 – 261.

Radzun K.A., Wolf J, Jakob G., Zhang E., Stephens E., Ross I., Hankamer B., 2015. Automated nutrient screening system enables high-throughput optimisation of microalgae production conditions. Biotechnol Biofuels 8(1):31.

Scor-Unesco, 1966. Determination of photosynthetic pigments in seawater. Monographs on Oceanographic Methodology, UNESCO, Paris, vol. 1, p.11 – 18.

Singh P., Baranwal M., Reddy S. M., 2016. Antioxidant and cytotoxic activity of carotenes produced by *Dunaliella salina* under stress. Pharmaceutical Biology. 1-7. http://dx.doi.org/10.3109/13880209.2016.1153660

Schulze P.S.C., Pereira H.G.C., Santos T.F.C., Schueler L., Guerra R., Barreira L., Perales J.A., Varela J.C.S., 2016. Effect of light quality supplied by light emitting diodes (LEDs) on growth and biochemical profiles of *Nannochloropsis oculata* and *Tetraselmis chuii*. Algal Research. 16: 387 – 398.

Sun H.H., Mao W.J., Chen Y., Guo S.D., Li H.Y., Qi X.H., 2009. Isolation chemical characteristics and antioxidant properties of the polysaccharides from marine fungus *Penicillium* sp. F23-2. Carbohydrate Polymers, 78, 117–124.

Takano H., Arai T., Hirano M., Matsunaga T., 1995. Effects of intensity and quality of light on phycocyanin production by a marine cyanobacterium *Synechococcus sp.* NKBG 042902. Applied Microbiology and Biotechnology 43(6): 1014-1018.

Tran D., Doan N., Louime C., Giordano M. Portilla S., 2013. Growth, antioxidant capacity and total carotene of *Dunaliella salina* DCCBC15 in a low cost enriched natural seawater medium.

van Wagenen J., Holdt S.L., Francisci D., Valverde-Pérez B., Plósz B.G., Angelidaki I., 2014. Microplate-based method for high-throughput screening of microalgae growth potential. Bioresource Technol 169:566–572.

Vega P.J.,Balaban M.O.,Sıms C.A.,O'keefe S.F., Cornell J.A., 1996. Supercritical Carbon Dioxide Extraction Efficiency for Carotenes from Carrots by Rsm. Journal of Food Science 61 (4):757 -759.

Wang C.Y., Fu C.C., Liu Y.C., 2007. Effects of using light-emmiting diodes on the cultivation of Spirulina platensis. Biochemical Engineering Journal. 37(1): 21 – 25.

Weldy C.S., Huesemann M., 2007. Lipid production by *Dunaliella salina* in batch culture: Effects of nitrogen limitation and light intensity. U.S. Department of Energry Journal of Undergraduate Research. pp: 115 – 122.

Wu Z., Akter R., Arirob W., Juntawong N., Ma C., Duangmanee P., 2015. Effects of light intensity and the remaining nitrate concentration on the beta-carotene accumulation of a wild *Dunaliella salina* strain isolated from the saline soil. Jundishapur J Microbiol; 6(1): 6233

Wu Z., Duangmanee, P., Zhao, P., Juntawong, N., Ma, C., 2016. The effects of light, temperature, and nutrition on growth and pigment accumulation of three *Dunaliella salina* strains form saline soils. Jundishapur j Microbiol, 9(1): e26732.

Yılancıoğlu K., Cokol M., Pastirmaci I., Erman B., Cetiner S., 2014. Oxidative Stress Is a Mediator for Increased Lipid Accumulation in a Newly Isolated *Dunaliella salina* Strain.

Zhu C.J., Lee Y.K., 1997. Determination of biomass dry weight of marine microalgae. Journal of Applied Phycology. 9: 189 – 194.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı: Koray BENAS

Doğum Yeri: Konak / İZMİR

Doğum Tarihi: 30.10.1989

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi: Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi

Yüksek Lisans Öğrenimi: Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

İŞ DENEYİMİ

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl: TESCO KİPA 01.06.2012-22.04.2015

MUDO COLLECTION 24.04.2015-Devam etmekteyim

İLETİŞİM

E-posta Adresi: koraybenas@yahoo.com.tr