



**SİNOP İLİ TATLISULARINDAN *SCENEDESMUS* SPP.
İZOLASYONU VE LABORATUVAR ŞARTLARINDA
ÜRETİMİNİN ARAŞTIRILMASI
RİDVAN ÖZTÜRK
YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

T.C.
SİNOP ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SİNOP İLİ TATLISULARINDAN SCENEDESMUS SPP. İZOLASYONU VE
LABORATUVAR ŞARTLARINDA ÜRETİMİNİN ARAŞTIRILMASI**

RİDVAN ÖZTÜRK

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
YRD. DOÇ. DR. ELİF TEZEL ERSANLI

SİNOP – 2016

T.C.
SİNOP ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

Rıdvan ÖZTÜRK, tarafından hazırlanan “Sinop İli Tatlısularından *Scenedesmus* spp. İzolasyonu ve Laboratuvar Şartlarında Üretiminin Araştırılması ” başlıklı bu çalışma, 18.07.2016 tarihinde yapılan savunma sınavı sonucunda başarılı bulunarak jürimiz tarafından YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.


Prof.Dr. ARİF GÖNÜLOĞLU
Jüri Başkanı


Yrd.Doç.Dr. ELİF TEZEL ERSANLI
Jüri Üyesi


Yrd.Doç.Dr. HÜLYA SİPAHİ
Jüri Üyesi

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.


Doç.Dr. TURGAY KORKUT
Enstitü Müdürü

SİNOP İLİ TATLISULARINDAN *SCENEDESMUS* SPP. İZOLASYONU VE LABORATUVAR ŞARTLARINDA ÜRETİMİNİN ARAŞTIRILMASI

ÖZET

Scenedesmus spp.'nin izolasyonu ve laboratuvar şartlarında üretiminin araştırılması için su örnekleri Sinop ili tatlısularından, türlerin mevsimsel olarak artış gösterdikleri bahar ve yaz aylarında alınmış, zenginleştirme yapıldıktan sonra BG-11 besiyeri kullanılarak mikropipet izolasyon metodu ile saflaştırılmış ve kültürler elde edilmiştir. İzole edilen *Scenedesmus* türlerinin gelişimleri laboratuvar şartlarında BG-11 (Blue-Green Media), Bristol-Proteose ortamı (B-P), MWC (Modified Woods Hole Medium) ve üreli *Scenedesmus* ortamı (Ü-S)'nda izlenmiştir. Kültürler 24 ± 2 °C'de, %65 nem, 1800 lümen ışık şiddetinde, aydınlatma süresi 16/8 saat olarak ayarlanarak inkübasyona bırakılmıştır. Biyomas yaş ağırlık tayini, kuru ağırlık tayini ve klorofil-*a* miktarının ölçülmesi yolu ile izlenmiştir. Spektrofotometrik olarak 500, 680 ve 750 nm dalga boylarında kültür gelişimleri takip edilmiştir.

Biyomas takibinde kullanılan yaş ağırlık, kuru ağırlık ve klorofil-*a* miktarları 4 farklı besiyerinde karşılaştırılmıştır. Spektrofotometrik gelişimin biyomas sonuçlarını desteklediği gözlenmiştir. Ayrıca spektrofotometrik izlemde izole edilen suşların farklı dalga boylarındaki gelişimlerinin birbirine benzer olduğu tespit edilmiştir. Buna göre en iyi büyüme Bristol-Proteose ortamında, daha sonra ise üreli *Scenedesmus* ortamında olmuştur.

Scenedesmus spp. ile yapılacak çalışmalarda birim zamanda en yüksek hücre yoğunluğun elde edildiği, en iyi büyüme ve yüksek verimin gözlendiği Bristol-Proteose ortamının kullanılması çalışmanın özellikle konu ile ilgili diğer çalışmalara destek olması açısından önemlidir. Ayrıca üreli *Scenedesmus* ortamının kullanılması daha az maliyet ile maksimum biyomasın elde edilmesini ve hedeflenen ürünlerin daha kısa zamanda üretilmesini sağlayabilir.

Anahtar Kelimeler: Mikroalg, *Scenedesmus*, Kültür, Büyüme, Sinop

AN INVESTIGATION OF ISOLATION OF *SCENEDESMUS* SPP. FROM FRESHWATER OF SINOP AND ITS CULTURE IN LABORATORY CONDITIONS

ABSTRACT

In order to investigate isolation and production under laboratory conditions of the *Scenedesmus* spp., the water samples were collected from freshwater of Sinop in spring and summer, showed a seasonal increase in number of species and they purified micropipette isolation method by using BG-11 medium after enrichment and cultures were obtained. The growth of isolated *Scenedesmus* spp. were followed by using BG-11 (Blue-Green Media), Bristol-Proteose medium (B-P), MWC (Modified Woods Hole Medium) and Scenedesmus medium with urea (U-S) in laboratory conditions. Cultures were incubated at 24 ± 2 °C, 65% moisture, 1800 lumen light intensity, 16 h light/8 h dark cycling illumination. Biomass was monitored by measuring the dry weight determination, wet weight determination and chlorophyll-*a* content. The development of the culture by spectrophotometrically were monitored at 500, 680 and 750 nm.

Biomass determined by wet weight, dry weight and chlorophyll-*a* values were compared four different algal media. It was observed that the spectrophotometric growth was supported with biomass results. It was determined that the development in different wavelength of isolated were found similar. Accordingly, Bristol-Proteose medium was the best growth medium, then the urea Scenedesmus medium.

In the future studies on *Scenedesmus* spp., using of Bristol-Proteose medium that obtained maximum biomass in high cell density, best growth and high yields per unit of time is important especially for relevant other studies. In addition, Scenedesmus medium with urea could provide maximum biomass by less cost and obtain targeted products in shorter time.

Keywords: Microalgae, *Scenedesmus*, Culture, Growth, Sinop

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Sinop Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (BAP) tarafından desteklenen FEF-1901.13-08 nolu “Sinop İli Tatlısularından *Scenedesmus* spp. İzolasyonu ve Laboratuvar Şartlarında Üretiminin Araştırılması” başlıklı proje kapsamında Sinop Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü’nde gerçekleştirilmiştir.

Tez konusu seçimi, laboratuvar ve arazi süreçlerimin her aşamasında ilgi ve bilgisinden yararlandığım danışman hocam Yrd.Doç.Dr. Elif TEZEL ERSANLI’ya her türlü yardım ve desteklerinden dolayı teşekkürlerimi sunuyorum. Ayrıca, tez sürecimde ve hayatımın her döneminde beni destekleyen sevgili aileme teşekkür ediyorum.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER VE ÇİZELGELER LİSTESİ	vi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER VE LİTERATÜR ÖZETİ	4
2.1. Genel Özellikler	4
2.2. Mikroalg Kültürleri	5
2.2.1. Mikroalg Üretimi İçin Gerekli Olan Faktörler	6
2.2.1.1. Işık	6
2.2.1.2. Sıcaklık	7
2.2.1.3. Besin Faktörleri	7
2.3. <i>Scenedesmus</i> spp. İle İlgili Yapılan Çalışmalar	8
3. MATERYAL VE YÖNTEM	12
3.1. Araştırma Alanlarının Özellikleri	12
3.2. Örneklerin Alınması	15
3.3. Kültür Ortamı	15
3.4. Sterilizasyon	17
3.5. Kontaminasyon	17
3.6. İzolasyon ve Saflaştırma	17
3.7. İnokulum	17
3.8. İnkübasyon	17
3.9. Biyomas İzlenmesi	18
3.9.1. Yaş Ağırlık Tayini	18
3.9.2. Kuru Ağırlık Tayini	19
3.9.3. Klorofil- <i>a</i> Miktarının Tayini	19
3.10. Hücre Sayımı	20
3.11. Spektrofotometrik Olarak Kültür Gelişiminin Ölçülmesi	20
4. BULGULAR	21
4.1. Biyomas İzlenmesi	21

4.1.1.	Yaş Ağırlık Tayini	21
4.1.2.	Kuru Ağırlık Tayini	22
4.1.3.	Klorofil- <i>a</i> Miktarının Tayini	22
4.2.	Hücre Sayımı	23
4.3.	Spektrofotometrik Olarak Kültür Gelişiminin Ölçülmesi	24
5.	TARTIŞMA VE SONUÇ	34
6.	KAYNAKLAR	39
	ÖZGEÇMİŞ	45



ŞEKİLLER VE ÇİZELGELER LİSTESİ

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 3.1.	12
Şekil 4.1.	21
Şekil 4.2.	22
Şekil 4.3.	23
Şekil 4.4.	24
Şekil 4.5.	25
Şekil 4.6.	25
Şekil 4.7.	26
Şekil 4.8.	26
Şekil 4.9.	27
Şekil 4.10.	27
Şekil 4.11.	28
Şekil 4.12.	28
Şekil 4.13.	29
Şekil 4.14.	29
Şekil 4.15.	30
Şekil 4.16.	30

Şekil 4.17.	İzole edilen 23 suşun üreli Scenedesmus besiyerinde 500 nm dalga boyundaki spektrofotometrik gelişimi.	31
Şekil 4.18.	İzole edilen 23 suşun üreli Scenedesmus besiyerinde 680 nm dalga boyundaki spektrofotometrik gelişimi.	31
Şekil 4.19.	İzole edilen 23 suşun üreli Scenedesmus besiyerinde 750 nm dalga boyundaki spektrofotometrik gelişimi.	32
Şekil 4.20.	İzole edilen 23 suşun 500, 680 ve 750 nm dalga boylarında 4 farklı besiyerinde gelişimleri.	33



ÇİZELGELER LİSTESİ

		Sayfa No
Çizelge 3.1.	Sinop ili örnekleme istasyonları ve tespit edilen türler	14
Çizelge 3.2.	<i>Scenedesmus</i> kültürü için kullanılan besiyerlerinin kompozisyonları (Ssk: Stok solüsyondaki konsantrasyonu; Kom: Kültür ortamındaki miktarı)	16
Çizelge 4.1.	İzole edilen 23 suşun BG-11, Bristol-Proteose (B-P), MWC ve üreli <i>Scenedesmus</i> (Ü-S) besiyerindeki günlük ortalama hücre sayısı değerleri	24

1. GİRİŞ

Sucul ortamda organik madde sentezleyen temel üreticiler fitoplankton veya mikroalg türleridir. Fitoplankton; hücrelerinde klorofil bulunan, tek veya çok hücreli olabilen, çoğunluğu mikroskobik büyüklüklerde, boyutları birkaç mikron ile birkaç yüz mikron arasında değişen bitkisel organizmalardır. Bunlar ototroftur ve fotosentez yoluyla karbondioksit, besleyici tuzlar ve iz elementleri kullanarak güneş enerjisini tespit ederler. Tüm ototrof canlıların sahip oldukları klorofiller, karotenoidler vb. fotosentetik pigmentleri vasıtasıyla fotosentez işlemini gerçekleştirirler. Bu pigmentler güneş enerjisinin organik maddeye dönüşümünü en verimli şekilde sağlarlar. Böylece yüksek enerji potansiyeline sahip organik bileşikleri yaparlar. Adeta protein üreten fabrikalar yani biyoreaktörlerdir. Bu fonksiyonları nedeniyle fitoplanktonik canlılar iç sularda ve denizlerdeki hayvanların beslenmesinde çok önemli olup sucul ortamlarda tüm üretimin temelidirler (Cirik ve Gökpınar, 1993).

Günümüzde dünya nüfusundaki hızlı büyümenin gıda kaynaklarındaki artışla orantılı olmaması en önemli sorunlardan biri olan beslenme dengesizliklerini ve bozukluklarını ortaya çıkarmaktadır. Artan dünya nüfusu karşısında tarım sektörü yetersiz hale gelmiştir. Değişik gıda kaynaklarının tespiti ile ilgili çalışmalar 1960 yılından sonra ağırlık kazanmış, böylece geleneksel kaynakların dışına çıkılmış ve yeni yöntemlerin geliştirilmesi çalışmaları sürmüştür (Senez, 1982).

Algler sanayinin hemen hemen her alanında kullanılmaktadır. Özellikle Uzakdoğu ve Güney Asya ülkelerinde besin maddesi olarak, ayrıca, tıp, eczacılık ile kozmetik sanayinde, tarımda gübre yapımında geniş kullanım alanı olan algler, doğal olarak toplanmalarının yanı sıra, kültürleri de yapılmakta ve denizlerde karalar gibi ekilip biçilmektedir. Algler; brom, iyot, organik asitler, monosakkaritler, polisakkaritler, agar, aljinik asit, steroller, proteinler ve vitaminler içermektedirler (Atay, 1984). Algler protein, karbonhidrat lipit, vitamin, pigment, tuz gibi birçok ürünün kaynağıdır ve bunların elde edilmesinde kullanılmaktadır. Bir kısmı doğrudan besin olarak kullanılmakta bazı türleri ise protein ve vitamin kaynağı olarak üretilmektedir. Çağımız alg endüstrisinde iyot ve brom bugün yan ürün durumundadır. Mikroalgler, biyoteknolojinin gelecekteki en önemli kaynağıdır. Mikro ve makro algler her yıl dünya ekonomisine yaklaşık 5 milyon dolarlık bir gelir sağlamaktadır (Borowitzka, 1992; Tsoglin ve Gabel, 2000; Pulz, 2001).

Mikroalgler biyokütle ve bazı metabolitleri açısından ticari öneme sahiptirler. Dünya genelinde 30.000'in üzerinde mikroalg çeşidi olduğu tahmin edilmektedir. 1950'lerin başından itibaren, mikroalglerin büyük ölçekte gıda, yem, lipid, vitamin, pigment, gübre, farmasötik ve diğer özel kimyasalların hammadde kaynağı olarak kullanımları konusunda pek çok çalışma yürütülmüştür. Mikroalgler yüksek büyüme oranına sahiptir, değişen çevresel koşullarını tolere edebilirler ve çok farklı ortamlarda büyüyebilirler. Mikroalglerden elde edilen hektar başına biyomas ürünü tipik olarak ekilen bitkilerden elde edilen üründen 3-5 kat daha fazladır (Bischoff ve Bold, 1963).

Yeni protein kaynakları olarak düşünülen yağlı tohum küspeleri, yaprak proteinleri, plankton, balık proteini konsantreleri arasında en çok dikkati çeken tek hücre proteininin (THP) üretimidir. Tek hücre proteini üretiminde kaynak olarak kullanılan mikroorganizmaların üreme ve gelişmelerinde en önemli faktör substrat adı verilen enerji ve karbon kaynağının varlığı ve kullanılabilirliğidir. Tarımsal ürünlerin hasatı ve işlenmesi sırasında açığa çıkan çeşitli artıkların THP üretiminde substrat olarak kullanılması ile hem çevre kirliliğine hem de dünyanın önemli bir sorunu olan gıda sorununa çözüm getirilerek tarım ve gıda sektörüne yeni ekonomik değerler kazandırılmış olacaktır (Birch ve ark., 1976). Tek hücre proteinin beslenme amacıyla kullanılmasında tek engel nükleik asit içeriğinin yüksek olmasıdır. Yüksek nükleik asit içeriği pürinleri ürik aside çevirmektedir. Bu sorun nükleik asit miktarını azaltacak önlemlerin alınmasıyla ve diyetlerdeki THP miktarının sınırlandırılmasıyla dengelenebilir (Özyurt, 1977). THP elde edilmesi için kullanılan veya kullanılabilirliği *in vitro* çalışmalarla kanıtlanmış olan canlılar; algler, bakteri, aktinomisetler, küf, funguslar ve mayalardır (Beyatlı, 1996). Algler THP elde edilmesinde en çok denenilen ve günümüzde insan ve hayvan beslenmesinde geniş uygulama alanı bulan mikroorganizmalardan biridir. Algleri THP elde edilmesinde özel kılan fotosentetik olmaları ve bu yüzden organik karbon substratlarına gerek duymamalarıdır (Beyatlı, 1996).

Özellikle biyoyakıt üretiminde kullanılmalarından dolayı *Scenedesmus* üzerine yapılan çalışmalar önem kazanmaktadır. Bu amaçla farklı ortamlarda, farklı nutrient konsantrasyonlarında, farklı pH ve çevresel faktörlerde maksimum biyomasın en uygun maliyet ve en kısa zamanda elde edilmesi için çeşitli stratejiler geliştirilmektedir. Ayrıca alglerden optimum olarak hedeflenen ürünlerin elde edilmesi amacıyla da bu çalışmalar dizayn edilmektedir. Bu amaçla bu projede, *Scenedesmus* spp. nin Sinop ili tatlısularından izole edilmesi ve laboratuvar şartlarında üretiminin araştırılması olup

farklı besi ortamlarında üreme şartlarının incelenerek birim zamanda en yüksek hücre yoğunluğunun elde edildiği, en iyi büyüme ve yüksek verim gösterebileceği kültür şartlarının araştırılması ve böylece *Scenedesmus* spp. ile yapılacak daha sonraki çalışmalar için daha az maliyet ile daha fazla verimin elde edilmesi amaçlanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER VE LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. Genel Özellikler

Bu çalışmada, tatlısulardan izole edilerek kültür şartları araştırılacak olan organizmalar Chlorophyta divizyonunun Chlorophyceae sınıfına dahildir ve kozmopolit dağılım gösterirler. Genellikle durgun veya yavaş akan sularda bulunurlar (John ve ark., 2003).

Phylum: Chlorophyta, Pascher, 1914

Bu gruba ait organizmalar her bir hücrelerinde ya da protoplazmik biriminde çimen yeşili kloroplast ile karakterize edilmektedir ve kloroplast yedek besin maddesi olarak nişasta biriktirir. Çoğu türün hücre duvarı selüloz ve pektin bileşiklerden oluşur. Aynı zamanda, müsilağın dış tabaka olabilir (Prescott, 1973).

Class: Chlorophyceae, Wille in Warming, 1884

Bu sınıfın formları büyük bir çeşitlilik içerir: tek hücreli (bazen hareketli), basit ya da iyi organize koloniler, basit veya dallı filamentler, bölünmüş koenositler ve gerçek koenositler (çapraz duvarlar olmayan filamentler) şeklinde bulunabilirler. Chlorophyceae sınıfındaki evrimsel başlangıç hareketli tek hücreliler ve Volvocales ile başlar. Eşeyli ve eşeysiz olarak üreyebilirler (Prescott, 1973).

Ordo: Sphaeropleales, Luersen, 1877

Bu geniş takım tek hücreli veya belirli şekli olan kolonilerden oluşmaktadır. Hücreler müsilağın kılıf kaplıdır. Birkaç formda hücreler eski ana hücre duvarlarının kalıntıları tarafından oluşturulan şerit ile bağlanmıştır. Otoporlar vejetatif üremeye yaygındır, ayrıca olgun bir koloni, her hücrede yavru koloni oluşturma eğilimindedir. Zoosporlar eşeysiz olarak üreyen bazı formlar tarafından kullanılır ve izogametler eşeyli üreme yeteneğine sahip cinslerde bulunmaktadır. Hücreler küresel, oval, asiküler, iğsi ya da çok yüzlü olarak şekil bakımından büyük ölçüde değişiklik göstermektedir. Kloroplast formu hücre şekli gibi değişiklik göstermektedir. Çok sayıda oval diskler, parietal plakalar, ağlar ya da bazı cinslerinde fincan şeklinde kloroplastlar olabilir (Prescott, 1973).

Family: Scenedesmaceae, Oltmans, 1904

Bu familyada hücreler belirli bir desen ve düzenli şekilli agregat koloni oluşturmaktadır. Bu düzenleme otoporlar tarafından belirlenir, ana protoplast kesildiğinde her zaman olduğu gibi ikinin katları şeklinde otokoloniler oluşturmak için

birbirlerine dönük hale gelmektedirler. Bu koloniler daha sonra olgun bir bitki oluşturmak amacıyla boyut olarak artış gösterebilmesi için serbest bırakılmaktadır. Hücre şekilleri büyük bir çeşitlilik gösterir (dikdörtgen, iğsi, küresel, üçgen, trapez). Koloni; doğrusal bir dizi, düz bir levha, bir yamuk agregat veya iğsi bireylerin oluşturduğu bir küme olabilir (Prescott, 1973).

Genus: *Scenedesmus*, Meyen, 1829

Genelde 1 veya 2 (nadiren 3) sıra şeklinde, 2-4-8 hücreli ya da nadiren 16 veya 32 hücreli olabilir. Hücreler silindirik, elips, oval veya ovoid şekildedir. Hücre duvarı düz veya granüllü olabilir, uzun spinler veya dişler taşıyabilir. Tek bir pirenoid ile pariyetal kloroplast içerir. Otoporlar ile eşeysiz olarak ürer. Kozmopolitan olup, planktonik organizmalardır, sediment veya sucul bitki örtüsü ile ilişkilidirler. Genellikle durgun veya yavaş akan sularda bulunur (John ve ark., 2003).

2.2. Mikroalg Kültürleri

Alg kültürleri değişik yöntemlerle yapılmaktadır (Stein, 1973; Borowitzka, 1992; Sukatar, 2002; Andersen, 2005). Mikroalg kültürlerinde birim zamanda en yüksek hücre yoğunluğu elde etmek işlemin temel amacıdır. Üretim için kullanılan kültür tekniğini belirlerken işlemi sınırlayan pek çok ortam faktörünün yanı sıra kültür ekonomisi de önemlidir.

Mikroalgler besin içeriğine göre farklı modellerde üretilmektedir. Bunlar; fototrofik, heterotrofik ve mikсотrofik modellerdir. Fototrofik modelde algler besin ihtiyacını inorganik karbon kaynağından, metabolizması için gerekli enerjiyi ise ışıktan sağlamaktadır. Heterotrof modelde ise algler kültür ortamına ilave edilen organik karbon kaynağını kullanarak enerji ve besin ihtiyacını karşılamaktadır. Mikсотrofik modellerde ise algler enerji ve besin ihtiyacını hem ışık hem de organik karbon kaynağını kullanarak sağlamaktadır. Mikсотrofik üretimin bazı dezavantajları vardır. Düşük ışık ve düşük organik karbon miktarı hücre üremesini engellemekte, yüksek ışık ve yüksek organik karbon miktarı da üremeyi kısıtlamaktadır.

Toplanan örnekler, en geç iki gün içinde kültür ortamına alınmalıdır. Toplanan materyal bekletilmek zorundaysa, karanlık veya az ışıklı ortamda korunmalıdır. Toplanan materyalin çoğaltılması arzulanıyorsa, zenginleştirme ortamı hazırlanıp yaklaşık iki hafta kültüre alınmalıdır. Zenginleştirme ortamının amacı, hem birey

sayısını arttırmak hem de zenginleştirmeyi farklı otoekolojik ortamlarda gerçekleştirerek, izole edilecek türün ekolojik gereksinimleri hakkında ön bilgiler elde etmektir (örneğin; karanlık ortamın hakimiyeti, oda sıcaklığından biraz daha fazla sıcaklık isteği, hafif asidik ortam vs.). Zenginleştirme ortamı belli ekolojik koşullarda tutulabilir. Bu şekilde, tek türe indirgenme mümkün olmasa da, birçok türün eliminasyonu mümkün olacaktır. Zenginleştirme ortamı, birçok alg için gelişmeye uygun olmalıdır; bu özel hazırlanmış yapay ortamlar olabileceği gibi, toprak ekstresi gibi doğal ortamlar da olabilmektedir. Gerek zenginleştirme ortamına baş vurmaksızın, gerekse zenginleştirme ortamından sonra, izolasyon amacıyla, izole edilecek türün ekolojik istemlerine uygun besi ortamları hazırlanmalıdır. Diğer yandan her türün ihtiyaç duyduğu autokolojik ortamlar (aydınlatma, sıcaklık, pH, tuzluluk, havalandırma, oksijen seviyesi, su seviyesinin yüksekliği) farklı olduğundan ideal koşullar hazırlanmalıdır (Sukatar, 2002).

2.2.1. Mikroalg Üretimi İçin Gerekli Olan Faktörler

2.2.1.1. Işık

Işık, mikroalg fotosistemlerinin antenleri ile yakalanmaktadır. Antenler fotosentezin gerçekleşmesinde rol oynamaktadır. Bunlar, fotonları tutarak enerji reaksiyon merkezlerine göndermektedirler. Antenlerin yapısında pigmentler ve proteinler görev almaktadır. Hücreler farklı ışık yoğunluklarına adapte olabilmek için fotosistem sayılarında veya anten boyutlarında değişim göstermektedirler.

Algler fotosentez yaptıklarından biyokimyasal kompozisyonları için ışık etkisi kontrol edilmelidir. Alg hücrelerinin kompozisyonlarının dinamiği değişime uğrayarak, fotosentez ve hücre gelişimi ile biyokimyasal ve fizyolojik özelliği artmaktadır. Işık yoğunluğu azaldığında hücrelerdeki klorofil-*a* ve ışığı tutan diğer pigmentler (klorofil-*b*, klorofil-*c*, fitobiliproteinler ve birincil karotenoidler) kullanılmaktadır. Diğer yandan yüksek ışık yoğunluğunda klorofil-*a* ve diğer pigmentler fotosentezin azalmasını gerçekleştirirken ikincil karotenoidler artarak (zeaksantin, β -karoten, astaksantin) fotokoruyucu ajanlar olarak görev yapmaktadırlar. Karotenoidlerin birikmesi türlerin yapısına göre değişmektedir. Örneğin: plastidlerde bulunan plastoglobüller veya sitoplazmik lipidler fotosentetik canlıların yüksek ışıktan korunmasında rol

oynamaktadır. Karotenoidlerin birikmesi karbon ve azotun hücreye akışının azalmasıyla stres koşullarında olmaktadır.

Laboratuvar ortamında suni aydınlatma için floresan lambaları (daylight veya cool-white) kullanılmaktadır. Farklı tipteki floresan lambalarının verdiği ışık şiddeti de farklı olmaktadır. Kullanılan ışık kaynağının ortamı ısıtmasından kaçınılmalıdır. Bu sebeple, ışık kaynağı olarak floresan lambalarının kullanılması daha uygun olmakla birlikte maliyeti daha fazladır.

2.2.1.2. Sıcaklık

Çevresel faktörlerin en önemlisi olan sıcaklık biyokimyasal reaksiyonları etkilemektedir. Sıcaklığının azalmasıyla gelişim optimum seviyenin altına düşmekte ve membran sisteminde bulunan doymamış lipidler artmaktadır. Ayrıca hücrelerin membranlarının stabilitesi ve akışkanlığı artmakta, tilakoid membranlar azalan sıcaklık etkisinde fotosentetik yapılarını korumak için fotoinhibisyonu gerçekleştirmektedir.

Sıcaklık artışları buharlaşmayı artırarak üretimde hacim kaybına neden olurken kültür dengesini olumsuz yönde etkilemektedir. Mikroalgler metabolizmalarını ve fizyolojik aktivitelerini doğrudan etkileyen sıcaklık değişimlerine hemen tepki vermektedirler. Sıcaklık arttığında solunum hızı artmakta, artan solunum biyokütle kayıplarını arttırmaktadır.

Üretimde mikroalglerin çoğu 16-27°C arasındaki sıcaklığı tolere edebilmektedir. 16°C'den düşük sıcaklıklar üremeyi yavaşlatırken, 35°C'den yüksek sıcaklıklar genellikle öldürücü etki göstermektedir. Apha, Awwa, Wef (2005), tatlı sularda yayılım gösteren alglerin büyümesi için sıcaklığı 24 ± 2 olarak önermiştir.

2.2.1.3. Besin Faktörleri

Azot, kültür büyümesini etkileyen ana faktördür. Genellikle kültür ortamında nitrat (NO_3), amonyak (NH_3) veya organik kaynaklı üre kullanılmaktadır. Amonyum nitrat suda çözüldükten sonra algler tarafından alınmaktadır. Algler tarafından ilk olarak amonyum tüketildiğinden ortam pH'sı düşmekte, ardından nitratin geç tüketilmesiyle veya tüketilmemesiyle pH artmaktadır. Bu nedenle ortama amonyum nitrat dikkatli bir şekilde ve az miktarda ilave edilmelidir. Üre kullanımından kaçınılmalıdır. Çünkü üre,

maliyeti düşürürken bakteri gelişimine neden olmaktadır. Bakteriler, alg kültüründen daha hızlı gelişmekte ve alg kültürünün gelişimini baskılamaktadır (Demirel, 2006).

Fosfor, ana makrobesleyici olarak hücresel metabolik ürünler ile mikroalglerin büyümesi ve gelişmesinde bazı yapısal ve fonksiyonel göreve sahiptir. Fosfor ortamda fosfor tuzları (K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$, $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$, $NaH_2PO_4 \cdot 7H_2O$) şeklinde bulunmaktadır. Bu tuzlar fosfor kaynağı olarak kullanılmakta ve aynı zamanda tampon özelliğinden yararlanılarak pH dengesinin kurulmasını sağlamaktadır (Demirel, 2006).

$CaCl_2$ ve iz metaller çeşitli enzim reaksiyonlarında yer aldıklarından alg büyümesi için önemlidir (Chen ve Jiang, 2001). Ayrıca kalsiyum algler için temel inorganik elementlerden biridir, hücre duvarının güçlendirilmesinde önemli bir rol oynar ve çözünür organik asitlerin toksisitesini azaltır. Klor ise osmoregülasyon ve fotosentezde önemli bir role sahiptir (OECD, 2016). Na_2EDTA ise besiyerinde şelat olarak yer almaktadır. Magnezyum klorofilin merkez atomu olduğundan fotosentezde görev alır, kloroplast seviyesi ise bazı enzimlerin aktivitesini etkiler. $MgSO_4$ nanopartiküllerinin besiyerine uygulaması lipid ürünlerinin artırılması için potansiyel bir strateji olarak tesbit edilmiştir (Sarma ve ark., 2014). Fotosentezdeki rolünün yanı sıra Mg^{+2} ribozomların biraraya gelmesi için gereklidir ve farklı hücresel aktivitelerden sorumlu bazı enzimlerin özel fonksiyonları için gereklidir (Shaul, 2002).

2.3. *Scenedesmus* spp. İle İlgili Yapılan Çalışmalar

Scenedesmus spp. ülkemizde geniş yayılım göstermekte olup çeşitli çalışmalarda fitoplanktonda, epipelik, epilitik veya epifitik olarak tespit edilmiştir (Gönülol, 2016).

Scenedesmus aculeotatus, Reinsch (Samsun-Ladik Gölü); *S. acuminatus* (Lagerheim) Chodat var. *briseriatus*, Reinhard (Ankara-Asartepe Baraj Gölü, Sarıyar Baraj Gölü); *S. acuminatus* var. *tetradesmoides*, G.M. Smith (Sivas-Hafik Gölü); *S. acutus* Meyen f. *costulatus*, (Chodat) Uherkovich (Isparta-Ağlasun Deresi, İzmir-Barutçu Gölü); *S. acutus* var. *globosus*, Hortobágyi 1954 (Bolu-Gölköy Gölü); *S. arcuatus*, (Lemmermann) Lemmermann 1899 (Konya-Isparta-Beyşehir Gölü, Erzurum-23 Temmuz Göleti, Demirdöven Baraj Gölü, Kuzgun Baraj Gölü, Muğla-Büyük Menderes Nehri, Afyon-Karamık Gölü, Dicle Bölümü-Karakaya Baraj Gölü, Ankara-Asartepe Baraj Gölü, Çamlıdere Baraj Gölü, Çubuk, Karagöl, Mogan Gölü, Ankara-

Eskişehir-Sarıyar Baraj Gölü, Eskişehir-Mamuca Göleti, Bolu-Abant Gölü, Gölköy Gölü, Samsun-Liman Gölü, Bafra, Tatlı Göl, Ladik Gölü, Simenit Gölü, Balıkesir-Akıntıdere); *S. armatus* (Chodat) Chodat var. *boglariensis* f. *semicostatus*, Péterfi 1963 (İzmir-Gölcük Gölü); *S. balatonicus*, Hortobágyi (Erzurum-23 Temmuz Göleti); *S. bijuga*, (Turpin) Lagerheim 1893 (Adana-Seyhan Nehri, Isparta-Cire Kaynağı, Erzurum-23 Temmuz Göleti, Deli Çermik, Palandöken, Porsuk Göleti, Muğla-Büyük Menderes Nehri, Diyarbakır-Devegeçidi Baraj Gölü, Kırşehir-Hirfanlı Baraj Gölü, Yozgat-Topçu Göleti, Sivas-Hafik Gölü, Ankara-Beytepe ve Alap Göletleri, Karagöl, Ankara-Eskişehir-Sarıyar Baraj Gölü, Bolu-Abant Gölü, Eskişehir-Günyüzü Göleti, Porsuk Çayı, Isparta-Ankara Çayı, Sinop-Dodurga Baraj Gölü, Erfelek Baraj Gölü, Sarıkum Lagünü, Trabzon-Uzungöl, Samsun-Balık Gölü ve Uzun Göl, İncesu Deresi, İstanbul-Ömerli Baraj Gölü, Adapazarı, Poyrazlar ve Taşkızı Gölleri, Göksu Deresi); *S. bijuga* var. *alternans*, (Reinsch) Hansgirg (Sivas-Hafik Gölü, Ankara-Beytepe ve Alap Göletleri, Samsun, Balık Gölü ve Uzun Göl, İstanbul-Büyükçekmece Gölü, Riva Deresi, Bursa-Uluabat Gölü); *S. bijugus*, (Turpin) Lagerheim 1893, (Sinop-Sarıkum Lagünü, Samsun-Simenit Gölü); *S. bijugus* var. *obtusiusculus*, (Chodat) G.M. Smith 1916, (Erzurum-Demirdöven Baraj Gölü); *S. brevispina*, (G.M. Smith) R. Chodat 1926 (Erzurum-Palandöken Göleti, Bolu-Gölköy Gölü, Samsun-Cernek Gölü); *S. caudato-aculeolatus*, Chodat 1926 (Samsun-Ladik Gölü); *S. circumfusus*, Hortobágyi 1960 (Afyon-Karamık Gölü); *S. ecornis*, (Ehrenberg) Chodat (Antalya Bölümü-Köprüçay Nehri, Isparta-Aksu Deresi, Cire Kaynağı, Kovada Kanalı, Konya- Beyşehir Gölü, Erzurum-Demirdöven Baraj Gölü, Tortum Gölü, Aydın-Kemer Baraj Gölü, İzmir-Ege Üniversitesi Kampüs Alanı, Barutçu Gölü, Muğla-Büyük Menderes Nehri, Afyon-Karamık Gölü, Ankara-Çubuk-I Baraj Gölü, Konya-Altnapa Baraj Gölü, Kayseri-Sultan Sazlığı, Kırşehir-Hirfanlı Baraj Gölü, Ankara-Bayındır Baraj Gölü, Beytepe ve Alap Göletleri, Mogan Gölü, Eskişehir-Sakaryabaşı Batı Göleti, Sinop-Erfelek Baraj Gölü, Sarıkum Gölü, Samsun-Balık Gölü ve Uzun Göl, Cernek Gölü, Derbent Baraj Gölü, Hasan Uğurlu Baraj Gölü, Suat Uğurlu Baraj Gölü, Derbent Baraj Gölü, Akgöl, Simenit Gölü, Balıkesir-Akıntıdere, Antalya Bölümü-Köprüçay Nehri, İzmir-Laka Deresi, Barutçu Gölü); *S. ecornis* var. *polymorphus*, Chodat (Antalya Bölümü-Köprüçay Nehri, İzmir-Laka Deresi, Barutçu Gölü, Samsun-Derbent Baraj Gölü); *S. ellipticus*, Corda 1835, (Konya-Isparta, Beyşehir Gölü, Erzurum-Demirdöven Baraj Gölü, Kuzgun Baraj Gölü, Aydın-Kemer Baraj Gölü, Manisa-Marmara Gölü, Eskişehir-Mamuca Göleti, Bolu-Abant Gölü, Gölköy Gölü, Samsun-Balık Gölü, Tatlı Göl, Ladik

Gölü, Akgöl, Simenit Gölü, Sinop-Sarıkm Lagünü, Erfelek Baraj Gölü, Sakarya-Poyrazlar Gölü, Sinop); *S. kissii*, Hortobágyi 1975 (Dicle Bölüm-Dicle Nehri, Ankara, ODTU Oksidasyon Havuzları); *S. longispina*, Chodat 1913 (Malatya-Orduzu Baraj Gölü, İzmir-Barutçu Gölü, Sivas-Hafik Gölü, Ankara-Asartepe Baraj Gölü, Samsun-Akgöl, Balıkesir-Akıntı Dere); *S. obliquus* (Turpin) Kützing f. *alternans*, (Reinsch) Comp. (Ankara-Asartepe Baraj Gölü); *S. obtusus*, Meyen 1829 (Erzurum-Demirdöven Baraj Gölü, Kuzgun Baraj Gölü, Aydın-Topçam Baraj Gölü, İzmir-Laka Deresi, Ege Üniversitesi Kampüs Alanı, Barutçu Gölü, Afyon-Karamık Gölü, Ankara-Bayındır Baraj Gölü, Mogan Gölü, Bolu-Abant Gölü, Sinop-Sarıkm Gölü, Samsun-Balık Gölü ve Uzun Göl, Gıcı Lagünü, Liman Gölü, Tatlı Göl, Derbent Baraj Gölü, Ladik Gölü, Simenit Gölü, Çatalca-Kocaeli Bölümü; Taşkın Ormanı, Sakarya-Poyrazlar Gölü, Balıkesir-Çaygören Baraj Gölü); *S. parisiensis*, Chodat 1926 (Samsun-Ladik Gölü, Sakarya-Poyrazlar Gölü); *S. platydiscus*, (G.M. Smith) Chodat (Isparta-Ağlasun Deresi, Düzce-Melen Nehri); *S. producto-capitatus*, Schmula 1909 (Erzurum-Demirdöven Baraj Gölü); *S. pseudohelveticus*, Kirj. in Huber-Pestalozzi, 1983 (Balıkesir, Çaygören Baraj Gölü); *S. quadricauda*, (Turpin) Brébisson in Brébisson & Godey 1835 (Dicle Bölümü-Dicle Nehri, Sakarya, Poyrazlar Gölü); *S. quadricauda* var. *longispinus*, G.M. Smith (Diyarbakır-Devegeçidi Baraj Gölü, Bursa-Uluabat Gölü); *S. quadrispina*, Chodat 1913 (Ankara-Asartepe Baraj Gölü, Ankara-Eskişehir-Sarıyar Baraj Gölü, Samsun-Balık Gölü, Uzun Göl, Karaboğaz Gölü, Cernek Gölü, Sakarya-Poyrazlar Gölü); *S. raciborskii*, Woloszyńska 1914 (Aydın-Kemer Baraj Gölü); *S. ralfsii*, Playfair in Huber-Pestalozzi 1983 (Samsun-Simenit Gölü); *S. semipulcher*, Hortobágyi 1960 (Antalya Bölümü-Köprüçay Nehri, Samsun-Ladik Gölü); *S. smithii*, Chodat 1926 (Ankara-Eskişehir-Sarıyar Baraj Gölü, Balıkesir-İkizcetepeler Baraj Gölü); *S. soli*, Hortobágyi 1959 (Samsun-Akgöl); *S. verrucosus*, Roll 1925 (Konya-Isparta-Beyşehir Gölü, Antalya Bölümü-Köprüçay Nehri, Erzurum-Demirdöven Baraj Gölü, Muğla-Büyük Menderes Nehri, Afyon-Karamık Gölü, Samsun-Derbent Baraj Gölü, Hasan Uğurlu Baraj Gölü, Ladik Gölü, Suat Uğurlu Baraj Gölü, Kocaeli Bölümü-Taşkın Ormanı, Balıkesir-Çaygören Baraj Gölü); *S. vesiculosus*, (Proshkina-Lavrenko) Péterfi 1964 (Samsun, Simenit Gölü) ülkemizde yapılan çalışmalarda tespit edilmişlerdir (Gönülol, 2016).

Chaichalerm ve ark., (2011)'nın izole edilen bazı mikroalg suşlarının çeşitli besiyerlerinde kültürü üzerine yapmış oldukları çalışmada, *Scenedesmus acutus* türünün 3NBBM besi ortamı, N-8 besi ortamı, Kuhl besi ortamı ve BG-11 besi ortamında

kültürü yapılmış olup, en iyi gelişimin yüksek azot konsantrasyonu sebebiyle BG-11 besi ortamında olduğu gözlenmiştir.

Scenedesmus bijugatus türünün biyokütle verimliliği üzerine farklı azot kaynaklarının etkisini incelemek amacıyla yapılan çalışmada, azot kaynakları arasında nitrat konsantrasyonunun 5-10 mM olduğu ortamın *Scenedesmus* büyümesi için uygun olduğu tespit edilmiştir. Düşük üre konsantrasyonlarının (5 ve 10 mM) kullanıldığı ortamlarda nitrat ortamı ile benzer sonuçlar elde edilmiştir. Bu çalışmada ürenin evrensel kullanılabilirliği ve uygun fiyatı ile büyük çaplı alg kültürlerinde kullanılabilirliği üzerinde durulmuştur (Arumugam ve ark., 2012). Farklı azot ve fosfor sınırlamasının *Scenedesmus* sp.'nin büyümesi ve lipid içeriği üzerine yapılan başka bir çalışmada ise sınırlama koşullarında *Scenedesmus* sp.'nin lipid içeriği yüksek bulunmuştur. Ancak lipid verimliliği ve birikim oranı nedeniyle alg biyokütlesi daha düşük bulunmuştur (Xin ve ark., 2010).

Mandal ve Mallick (2009)'in biyodizel üretimi için kaynak olarak *Scenedesmus obliquus* türünü kullanarak yapmış olduğu çalışmada, yüksek lipid içeriği elde etmek için glukoz ile desteklenmiş ortamda kültüre alınan türün lipid içeriği, kuru hücre ağırlığının % 58.3'üne ulaşmıştır. Sadece besin durumunu değiştirerek kontrol grubuna göre yaklaşık 5 kat daha yüksek lipid içeriğine ulaşılmıştır. Bununla birlikte, *S. obliquus*'un biyokütle verimliliğinin N ve P sınırlamaları ve tiyosülfat takviyesinden etkilendiği bulunmuştur.

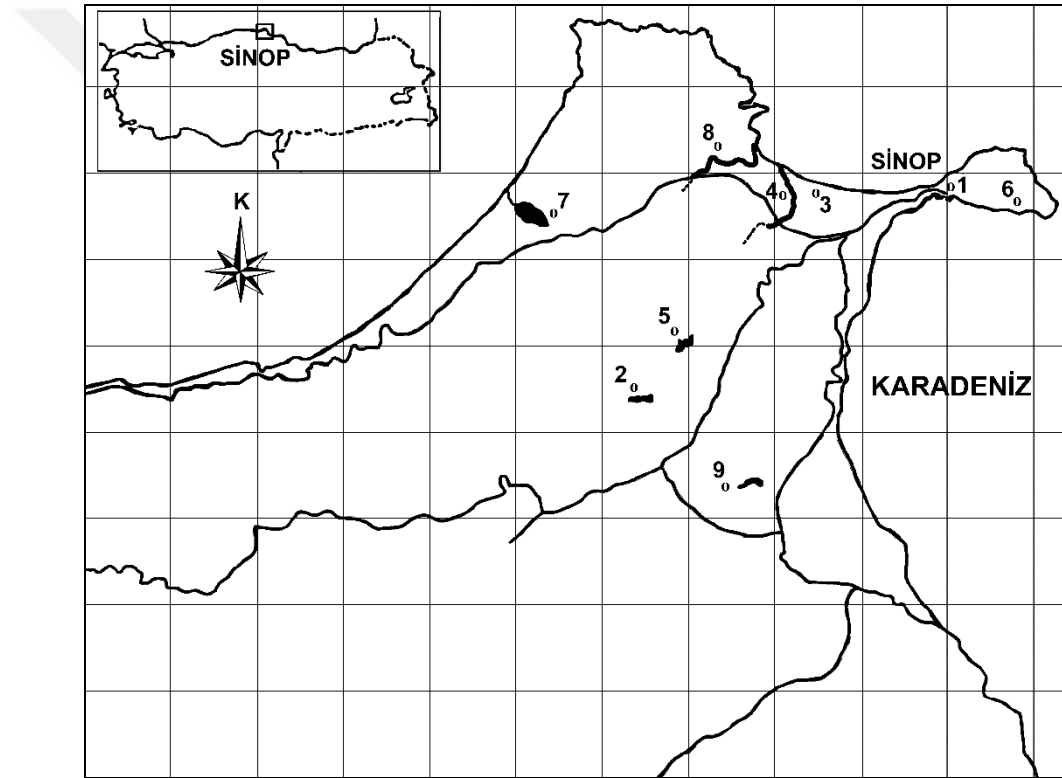
Erdoğan ve arkadaşları (2015) *Scenedesmus protuberans*'ın karotenoid kompozisyonunu belirlemek için yapmış olduğu çalışmada, basit bir ultrason destekli ekstraksiyon yöntemi geliştirmişlerdir. HPLC-DAD yöntemi kullanılarak basit gradyan elüsyon ile C30 kolonu vasıtasıyla *S. protuberans*'ın karotenoidlerini ayırmışlardır. Analitik sonuçlar yöntemin hızlı, nispeten basit ve uygulanabilir olduğunu göstermiştir.

Bu çalışmada Sinop iline ait 9 farklı tatlısu ortamından alınan su örneklerinden *Scenedesmus* suşlarının izole edilmesi, 4 farklı besiyerinde gelişimlerinin takip edilmesi ve en iyi büyüme ve en yüksek verimin saptanacağı ortam araştırılmıştır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Araştırma Alanlarının Özellikleri

Sinop ili 35:09 doğu ve 42:01 kuzey boylarında yer alıp Türkiye'nin en uç kuzey bölgesini oluşturmaktadır. *Scenedesmus* cinsine ait türlerin teşhisinde Prescott (1962), Huber ve Pestalozzi (1983), John ve arkadaşları (2003)'nin eserlerinden yararlanılmış, tür isimlerinin güncellenmesi AlgaeBase veritabanına (Guiry ve Guiry, 2016) uygun olarak yapılmıştır. Sinop ili örnekleme istasyonları Şekil 3.1'de, kısaltmaları ve sinonimleri Çizelge 3.1'de verilmiştir.



Şekil 3.1. Sinop ili örnekleme istasyonları (1: Arkeoloji Müzesi Havuzu, 2: Bektaşağa Göleti, 3: Havalimanı Mevkii, 4: Karasu Çayı, 5: Muhsinli Göleti, 6: Nisi Göleti, 7: Sarıkum Gölü, 8: Sırakaraağaçlar Deresi, 9: Taşmanlı Göleti).

Sarıkum Gölü, Sinop yarımadasının batısında, 42° 01' kuzey enlem, 34° 93' doğu boylamlarında yer almaktadır. Göl il merkezinden 21 km uzaklıkta olup uzunluğu 2 km, genişliği 750 m'dir. 102 hektarlık bir su alanı ve 82 hektarlık bir bataklık alanı olmak üzere toplam 184 hektarlık alana sahip tipik bir lagün gölüdür (Yılmaz, 2005). Deniz seviyesinde olan gölün suları kışın çoğalır, yazın azalır. Sarıkum Gölü; Keçi

Deresi, Sarıkum Deresi, aktif olmayan Karakurt Deresi, Büyükdüz Deresi ve göl suyunun taşmasını önlemek üzere drenaj yapılarak açılmış Dereönü Deresi olmak üzere 5 dere ile bağlantılıdır. Gölün fazla suları denize dökülmekte olup deniz ile olan bağlantısı yaz aylarında kesilmektedir. Ortalama derinliği 100-160 cm arasında değişmekte olup en derin yeri 2 m'dir. Lagün tabanı mil ile kaplı olup, bu milin kalınlığının 25-30 cm arasında olduğu bildirilmiştir (Yılmaz, 2005). Güney ve doğu kısımları saz ve kamışla kaplıdır. Güneyinde su basar dışbudak ormanı vardır. Gölde kefal (*Mugil* sp.), pisi balığı (*Pleuronectes* sp.) kayabalığı (*Gobius* sp.) ve dişli sazancık (*Aphanius* sp.) türleri bulunmaktadır. Sarıkum Gölü, makroskobik ve mikroskobik algleri Öztürk (1994) tarafından, bentik algleri ise Sıvacı ve arkadaşları (2008) tarafından çalışılmıştır.

Taşmanlı Göleti, DSİ tarafından yapılmış yapay bir gölet olup, Sinop il merkezinde yer almaktadır. Yenicuma akarsuyu üzerine 1974-1977 yılları arasında sulama amaçlı kurulmuştur. 170 hektarlık alana sahiptir. Temelden yüksekliği 22.5 m'dir. Dip yapısı topraktır. Taşmanlı Göleti epifitik algleri Gümüş ve Gönüloğlu (2012) tarafından çalışılmıştır. Nisi Göleti, DSİ tarafından, hayvanları sulama amaçlı, 1995-1999 yılları arasında yapılmıştır. Sinop il merkezinde bulunan gölet, Kalkan akarsuyu üzerine inşa edilmiştir. Gövde dolgu tipi toprak olup, temelden yüksekliği 17.2 m'dir. Bektaşoğlu Göleti, şehir merkezine 15-20 km mesafede, Muhsinli Göleti ise şehir merkezine 15 km mesafededir. Muhsinli Göleti, Sinop ili Merkez ilçesi Çobanlar Köyü hudutları içerisinde olup, sulama amaçlı yapılmıştır. Göleti besleyen en önemli dere Çınarcık Deresi'dir.

Karasu Çayı, Boyabat ilçesinin Gündüzlü ormanlarından doğar, Erfelek ilçe merkezinin kuzeyinden geçerek Sinop il merkezi yakınlarında Aklıman mevkiinde Yalnızca Mahallesi kuzeyinden Karadeniz'e dökülür. Yaklaşık olarak 80 km uzunluğundadır. Akarsu yatağını oluşturan alüvyonel malzemenin yüksek geçirimsizliğe sahip olması nedeniyle Karasu Çayı ovada ve ovaya girmeden önce izlediği akış yolu boyunca sayısız noktada batıp çıkar ve debisinde değişimler gözlenir (Yiğit ve ark., 2012).

Çizelge 3.1. Sinop ili örnekleme istasyonlarında tespit edilen türler

No	Yer	Koordinatlar	Kod	Tür
1	Arkeoloji Müzesi Havuzu	N 42°0.1'42.6" E 035°09'05.9"	ASA	<i>Tetradesmus obliquus</i> (Turpin) M.J. Wynne, 2016 Syn: <i>S. acutus</i> Meyen, 1829
2			ASE	<i>Scenedesmus ecornis</i> (Ehrenberg) Chodat, 1926 Syn: <i>S. ecornis</i> (Ehrenberg) Chodat, 1926
3			ASO	<i>Scenedesmus obtusus</i> Meyen, 1829 Syn: <i>S. ovalternus</i> Chodat, 1926
4			ASQ	<i>Scenedesmus communis</i> E. Hegewald, 1977 Syn: <i>S. quadricauda</i> Chodat, 1926
5	Bektaşğa Göleti	N 41°56'25.5" E 034°59'11.8"	BSA	<i>Tetradesmus obliquus</i>
6			BSE	<i>Scenedesmus ecornis</i>
7	Havalimanı Mevkii	N 42°01'10.2" E 035°05'18.8"	HSA	<i>Tetradesmus obliquus</i>
8			HSE	<i>Scenedesmus ecornis</i>
9			HSO	<i>Scenedesmus obtusus</i>
10	Karasu Çayı	N 42°01'57.1" E 035°03'36.0"	KSA	<i>Tetradesmus obliquus</i>
11			KSE	<i>Scenedesmus ecornis</i>
12	Muhsinli Göleti	N 41°57'52.1" E 035°00'32.7"	MSA	<i>Tetradesmus obliquus</i>
13			MSE	<i>Scenedesmus ecornis</i>
14			MSO	<i>Tetradesmus obliquus</i>
15	Nisi Göleti	N 42°01'15.07" E 35°11'10.90"	NSA	<i>Tetradesmus obliquus</i>
16	Sarıkum Gölü	N 42°00'43.76" E 34°55'45.20"	SGSA	<i>Tetradesmus obliquus</i>
17			SGSO	<i>Scenedesmus obtusus</i>
18	Sırakaraağaçlar Deresi	N 42°02'31.4" E 035°02'41.3"	SSA	<i>Tetradesmus obliquus</i>
19			SSE	<i>Scenedesmus ecornis</i>
20			SSQ	<i>Scenedesmus communis</i>
21	Taşmanlı Göleti	N 41°54'21.3" E 035°02'39.3"	TSA	<i>Tetradesmus obliquus</i>
22			TSE	<i>Scenedesmus ecornis</i>
23			TSO	<i>Scenedesmus obtusus</i>

Sırakaraağaçlar Deresi, ovalık kesim içerisinde Sarsı Mahallesi doğusundan Söğütler Deresi adıyla doğar. Sırakaraağaçlar Deresi'nin kaynağını, yeraltı su seviyesi ve mevsimlik kuru derelerden yağışlı dönemlerde gelen beslenimler oluşturmaktadır. Bu nedenle, Sırakaraağaçlar Deresi neredeyse tamamen yeraltı sularıyla beslenmektedir. Ova içerisinde sadece 5.3 km. boyunca akışına devam eden dere, Aklıman güneyinden denize dökülür (Yiğit ve ark., 2012).

3.2. Örneklerin Alınması

Sinop ili göl, gölet, çay ve derelerinden alınan örnekler özellikle *Scenedesmus* türlerinin artış gösterdiği bahar-yaz aylarında alınmış ve laboratuvara getirilmiştir. Alınan örneklerde pH ölçümü yapılmış, zooplanktonun elimine edilmesi için pH 4'e düşürülmüş, 24 saat bekletildikten sonra pH tekrar aynı noktaya ayarlanmıştır (Dilov ve Vojnova, 1985). Bir hafta süreyle örnekler zenginleşmeye bırakılmıştır. Zenginleşmeye bırakılan örneklerden 10 mL alınarak BG-11 (Blue-Green Media) besiyerine ekilmiş ve karışık kültür elde edilmiştir.

3.3. Kültür Ortamı

Sinop ili tatlısularından *Scenedesmus* cinsine ait türleri izole etmek için BG-11 (Blue-Green Media) (Utex, 2014) besi yeri kullanılmış olup, izole edilen türlerin laboratuvar koşullarında üretimini araştırmak için üreli *Scenedesmus* ortamı (Ü-S) (İnaç, 1994), Bristol-Proteose ortamı (B-P) (Utex, 2014) ve MWC (Modified Woods Hole Medium) (Anonim, 2014) ortamları kullanılmıştır. Büyüme ortamının yüzey/hacim oranı CO₂ sınırlaması nedeniyle, besiyeri miktarı erlenin 1/3'i olacak şekilde ayarlanmıştır (Apha, Awwa, Wef., 2005). *Scenedesmus* kültürü için kullanılan besiyerleri ve kompozisyonları Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. *Scenedesmus* kültürü için kullanılan besiyerlerinin kompozisyonları (Ssk: Stok solüsyondaki konsantrasyonu; Kom: Kültür ortamındaki miktarı)

	BG-11		B-P		MWC		Ü-S
Kimyasallar	Ssk	Kom	Ssk	Kom	Ssk	Kom	Kom
Makronutrientler (g/L)	g/L dH ₂ O	mL/L	g/mL dH ₂ O	mL/L	g/L dH ₂ O	mL/L	mg/L
NaNO ₃	30/0.2	10	10/0.4	10	85.00	1	
K ₂ HPO ₄	0.8/0.2	10	3/0.4	10	11.40	1	
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.15/0.2	10	3/0.4	10	37.00	1	
CaCl ₂ .2H ₂ O	0.72/0.2	10	1/0.4	10	36.80	1	
Sitrik asit H ₂ O	0.12/0.2	10	–	–	–	–	
Ferrik amonyum sitrat	0.12/0.2	10	–	–	–	–	
NaHCO ₃	–	–	–	–	12.60	–	
KH ₂ PO ₄	–	–	7/0.4	10	–	–	
Na ₂ O ₃ Si.5H ₂ O	–	–	–	–	21.20	–	
NaCl	–	–	1/0.4	10	–	–	25.00
CH ₄ N ₂ O	–	–	–	–	–	–	60.00
K ₂ CO ₃	–	–	–	–	–	–	25.00
Na ₃ PO ₄	–	–	–	–	–	–	25.00
(NH ₄) ₂ SO ₄	–	–	–	–	–	–	20.00
MgSO ₄	–	–	–	–	–	–	10.00
FeSO ₄	–	–	–	–	–	–	2.00
Mikronutrientler (mg/L)	–	–	–	–	–	–	
Na ₂ CO ₃	0.4/0.2	10	–	–	–	–	
İz Elementler		–	–	–	–	–	
H ₃ BO ₃	2.86	–	–	–	1.00	1	
MnCl ₂ .4H ₂ O	1.81	–	–	–	0.18	1	
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0.22	–	–	–	0.022	1	
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.39	–	–	–	0.006	1	
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.079	–	–	–	0.01	1	
CoCl ₂ .6H ₂ O	49.4 mg/L	–	–	–	0.01	1	
Na ₂ O ₃ S ₂ .5H ₂ O	49.8/200	1	–	–	–	–	
Na ₂ EDTA.2H ₂ O	0.02/200	10	–	–	4.36	1	
FeCl ₃ .6H ₂ O	–	–	–	–	3.15	1	
Vitaminler (mg/L)	–	–	–	–	–	–	
Proteose peptone	–	–	1g/L	–	–	–	

3.4. Sterilizasyon

Kullanılan bütün malzemeler ve besleyici ortamlar Nüve OT 032 marka otoklav ile sterilize edilmiştir. Sterilizasyon işlemi 1.06 atm basınç altında 121°C sıcaklıkta 15 dk süre ile gerçekleştirilmiştir.

3.5. Kontaminasyon

Besiyerinde prokaryotik kontaminasyonu önlemek için penisilin sodyum tuzu ($C_{16}H_{17}N_2NaO_4S$) kullanılmıştır. Bu amaçla 1 litre sıvı besi ortamı için, 100 mg penisilin sodyum tuzu 10 ml saf suda çözülerek steril filtre yardımıyla besiyeri ortamına aktarılmıştır (Andersen, 2005).

3.6. İzolasyon ve Saflaştırma

İzolasyon ve saflaştırma amacıyla mikropipet vasıtasıyla tek hücre izolasyon tekniği kullanılmıştır (Pringsheim, 1946; Andersen, 2005). Bu metot için Leica DM500 markalı mikroskop altında karışık kültürden pastör pipeti ile hücreler alınmış, lam üzerinde steril bir damla serum fizyolojik (%0.09 NaCl) içine aktarılmıştır. Aktarma işlemi tek bir alg hücresi kalana kadar devam edilmiştir. Yakalanan hedef hücre nihai izolasyon kabı içindeki besi ortamına aktarılmıştır.

Leica DM500 markalı mikroskop ile *Scenedesmus* cinsine ait türlerin teşhisleri yapılmış ve fotoğrafları Leica ICC50 marka fotoğraf makinesi ile çekilmiştir.

3.7. İnokulum

Saflaştırılan örnekler inokulum amacıyla 500 mL'lik erlene 150 mL olacak şekilde ekilmiştir. Ardarda 3 ekim yapılmıştır. Deneysel aşamaya geçerken inokulum örneklerinden 15 mL alınarak 135 mL besiyerine ekilmiştir (Apha, Awwa, Wef., 2005).

3.8. İnkübasyon

Sıvı besiyeri 24 ± 2 °C'de (Stein, 1973) %65 nem, Philips marka 220-240 V, 30 W 1800 lümen ışık şiddetinde, aydınlatma süresi 16/8 saat olarak ayarlanarak 7 gün

boyunca Nüve marka ES110 cooled model inkübatörde inkübasyona bırakılmıştır (Noue ve Eidhin, 1988). Kültürlerin eşit miktarda ışık alabilmesi ve dipte çökmeyi önlemek amacıyla sıvı kültürler günde iki kez çalkalanmıştır.

3.9. Biyomas İzlenmesi

Bir mikroalg populasyonunun büyüme oranı zamana bağlı olarak biyokütlede meydana gelen artışın bir ölçütüdür. Büyüme oranı bir tür ya da suşun yaşadığı doğal ortama ya da maruz bırakıldığı deneysel bir ortam koşuluna adaptasyonundaki ekolojik başarısını göstermenin önemli yollarından bir tanesidir. Kültürlerdeki üssel fazın süresi ekimi yapılan organizma miktarına, büyüme oranına, besi ortamının kapasitesine ve kültürün algal gelişmeyi destekleyen koşullarına bağlıdır. Biyokütle ile ilgili tahminler zamana bağlı olarak kaydedilir.

Mikroalg kültüründe büyüme kontrolü çok önemlidir. Bu sebeple hücre büyümesinin izlenmesi için basit ve etkili yöntemler geliştirilmiştir. Büyümeyi belirlemek için kullanılan direkt ve dolaylı yöntemler vardır. Direkt yöntemler alg biyokütlesinin mikroskop kullanılarak hücre sayımı ve hücre hacminin belirlenmesiyle tespit edilmesidir. İndirekt yöntemler ise kuru ağırlık, yaş ağırlık, pigment içeriğinin tespiti veya spektrofotometrik ölçümdür (Sivakumar ve Rajendran, 2013; Santos-Ballardo ve ark., 2015; Rodrigues ve ark., 2011).

3.9.1. Yaş Ağırlık Tayini

Yaş ağırlık tayini hücre sayımlarını takip eden 7. günde yapılmıştır. Bu amaçla örneklerden 10 mL alınarak 1600 rpm'de 20 dk Nüve marka CN090 model santrifüj ile santrifüjlenmiş ve kültürlerin sıvı besi ortamının dibine çökmesi sağlanmıştır. Üst kısımdaki sıvı pipet yardımıyla atılmıştır. Tüpler etüvde 30 dk bekletilerek fazla sıvı uçurulmuştur. Elde edilen materyal hassas terazide tartılarak biyomas ağırlıkları tespit edilmiştir. Üç denemeden elde edilen kültürlerin yaş ağırlıklarının aritmetik ortalamaları alınmıştır.

3.9.2. Kuru Ağırlık Tayini

Bu amaçla deiyonize su ile yıkanan membran filtre alüminyum kağıt üzerine konulmuş, Nüve cooled marka ES110 model etüvde 60°'de kurutulmuş ve Radwag marka AS220/C/2 model hassas terazi ile ağırlığı alınmıştır. Kültür ortamından 7. günde alınan 10 mL örnek membran filtreden vakum yöntemi ile geçirilmiş, deiyonize su ile yıkanmış, 60°'lik etüvde kurutulmuş ve tekrar ağırlığı alınmıştır (Apha, Awwa, Wef., 2005). Buradan birim hacim materyal içindeki kuru madde miktarı mg/L olarak hesaplanmıştır.

3.9.3. Klorofil-*a* Miktarının Tayini

Klorofil-*a* miktarını ölçmek amacıyla 7. günde alınan 10 mL örnek 0.45 µm por açıklığındaki membran filtre kağıdından süzölmüştür. Filtre kağıdı pensle katlanarak santrifüj tüplerine konulmuş ve 3 mL %90'lık aseton çözeltisi ilave edilmiştir. 5000 rpm'de 1 dk Nüve CN090 Bench-Top marka santrifüj cihazında santrifüj edilmiştir. Daha sonra Pro200 marka homojenizatör cihazı ile membran filtre kağıdı parçalanmıştır ve tekrar 5000 rpm'de 1 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüjden sonra asetonla 10 mL'ye tamamlanmıştır. Tüplerin dışı alüminyum folyo ile kaplanmış ve tam ekstraksiyon için 24 saat buzdolabında bekletilmiştir. Elde edilen ekstraksiyonların berrak kısmından alınarak %90'lık aseton ile kör ayarı yapılmış olan Thermo Scientific marka Genesys 10S UV-Vis spektrofotometrede 630, 647, 664 ve 750 nm dalga boylarında absorbans değerleri (A) ölçölmüştür.

750 nm dalga boyunda okunan absorbans değeri (A) bulanıklıktan kaynaklanan hatayı doğrulamak içindir. Bu amaçla 750 nm dalga boyunda okunan absorbans değeri diğer dalga boyunda okunan absorbans değeriinin her birinden çıkarılmıştır.

$$A_{664} = A_{664} - A_{750}$$

$$A_{647} = A_{647} - A_{750}$$

$$A_{630} = A_{630} - A_{750}$$

$$C_a = 11.85(A_{664}) - 1.54(A_{647}) - 0.08(A_{630})$$

A₆₆₄, A₆₄₇ ve A₆₃₀: Belirtilen absorbans değeriinde kaydedilen ve doğrulanmış optik yoğunluklar.

Ekstraktaki pigment konsantrasyonları belirlendikten sonra pigment miktarı aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır (Apha, Awwa, Wef., 2005).

$$\text{Klorofil} - a, \text{ mg} / \text{m}^3 = \frac{C_a \times \text{Ekstrakt hacmi (L)}}{\text{Örnek hacmi (m}^3\text{)}}$$

3.10. Hücre Sayımı

Hücre sayımı için Thoma sayım kamarası kullanılmıştır. Sayım lamı örneklerle doldurulmadan önce iyice temizlenmiş ve kurutulmuştur. Saf kültürden 1 mL alınarak sayım kamarasına aktarılmış ve sayım işlemine geçmeden önce hücrelerin çökmesi için 5 dk beklenmiştir. Hücre sayımları ekimin yapıldığı günden başlayarak 1., 2., 3., 4., 5., 7., 10., 12. ve 14. günlerde yapılmıştır (Apha, Awwa, Wef., 2005).

3.11. Spektrofotometrik Olarak Kültür Gelişiminin Ölçülmesi

Mikrobiyolojik çalışmalar, hücre kültürü ve benzer uygulamalarda hücre konsantrasyonlarının belirlenmesinde genellikle spektrofotometrik yöntemler kullanılır. Bununla birlikte bu yöntemler hücrelerin canlı mı yoksa ölü mü olduklarının belirlenmesinde pek etkili değildirler. Farklı türdeki alg kültürleri farklı nutrient ve ışık gereksinimlerine ihtiyaç duyarlar. Ancak genellikle mikroalgler fotosentez amaçlı olarak 400 ile 700 nm dalga boyları arasındaki doğal ışığı kullanırlar. Bu nedenle de yeşil alg biyokütlelerindeki artış spektrofotometrik veriler kullanılarak dolaylı olarak hesaplanabilmektedir (Ma ve ark., 2002, 2006). Bu amaçla 500, 680 ve 750 nm dalga boylarında (Kommareddy ve Anderson, 2003) Thermo Scientific marka Genesys 10S UV-Vis spektrofotometre ile kültür gelişimi takip edilmiştir. Spektrofotometrik ölçümde her bir besiyeri için ve her bir absorbans noktasında kalibrasyon eğrileri hazırlanmış ve suşların biyomas değerleri elde edilen formüllerden hesaplanmıştır.

4. BULGULAR

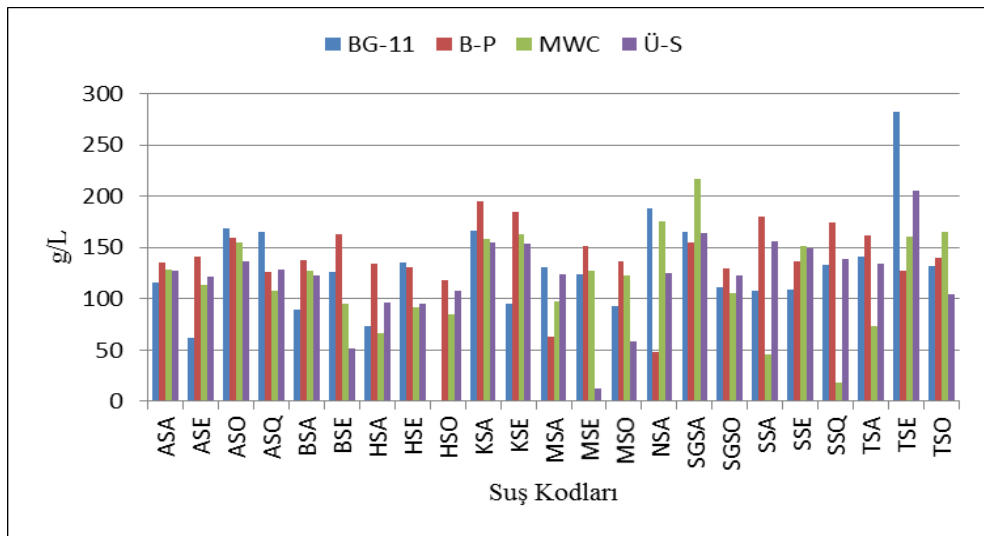
Sinop iline ait 10 farklı tatlısu ortamından alınan ve izole edilen *Scenedesmus* cinsine ait suşların maksimum biyomasın elde edilmesi ve en verimli üreme ortamının araştırılması için deneyler, 23 saf alg kültürü için 500 mL’lik erlenlerde 150 mL besiyeri olacak şekilde standartlarda belirtildiği gibi hazırlanmıştır.

4.1. Biyomas İzlenmesi

Biyomas yaş ağırlık tayini, kuru ağırlık tayini ve klorofil-*a* miktarının ölçülmesi yolu ile izlenmiştir.

4.1.1. Yaş Ağırlık Tayini

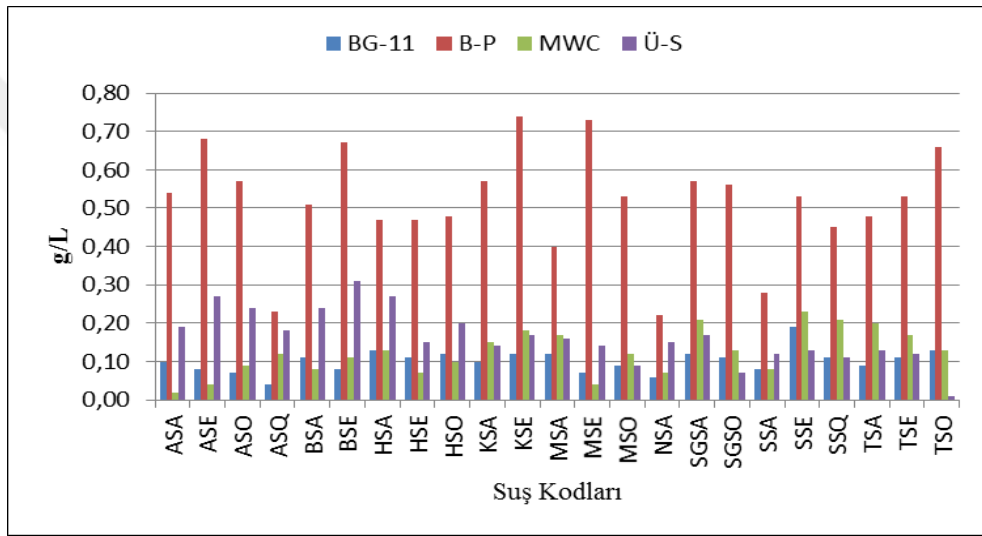
BG-11 besiyerinde üretilen suşların yaş ağırlıkları 0.1-282.5 g/L arasında; Bristol-Proteose besiyerinde üretilen suşların yaş ağırlıkları 48.1-195.1 g/L arasında, MWC besiyerinde üretilen suşların yaş ağırlıkları 17.7-216.7 g/L arasında ve üreli *Scenedesmus* besiyerinde üretilen suşların yaş ağırlıkları 12.6-205.5 g/L arasında değişmiştir. Ortalama değerlere bakıldığında yaş ağırlıkların BG-11 besiyerinde 126.8 g/L, Bristol-Proteose besiyerinde 140.5 g/L, MWC besiyerinde 119.6 g/L, üreli *Scenedesmus* besiyerinde 121.3 g/L olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. İzole edilen 23 suşun BG-11, Bristol-Proteose (B-P), MWC ve üreli *Scenedesmus* (Ü-S) besiyerindeki yaş ağırlıklarının karşılaştırılması.

4.1.2. Kuru Ağırlık Tayini

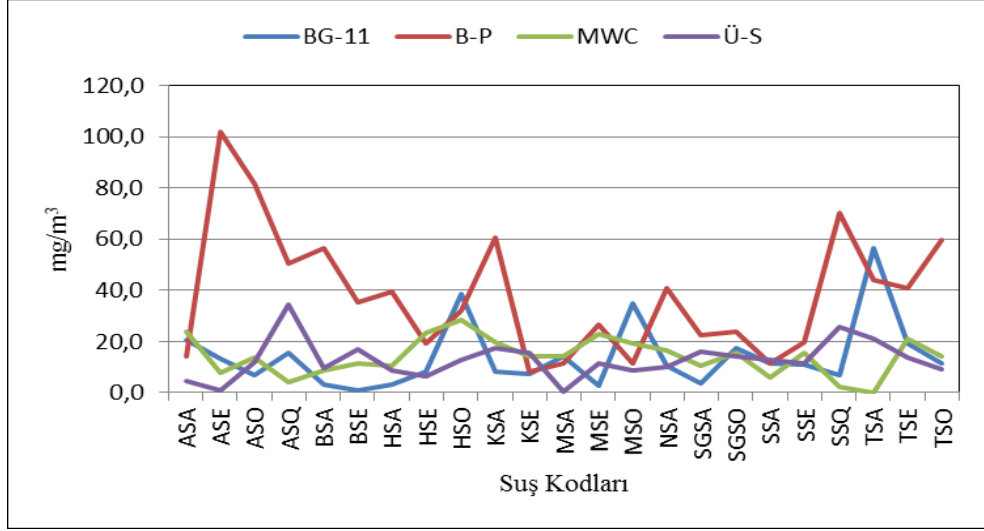
BG-11 besiyerinde üretilen suşların kuru ağırlıkları 0.04-0.19 g/L arasında; Bristol-Proteose besiyerinde üretilen suşların kuru ağırlıkları 0.22-0.74 g/L arasında, MWC besiyerinde üretilen suşların kuru ağırlıkları 0.02-0.23 g/L arasında ve üreli Scenedesmus besiyerinde üretilen suşların kuru ağırlıkları 0.01-0.31 g/L arasında değişmiştir. Ortalama değerlere bakıldığında kuru ağırlıkların BG-11 besiyerinde 0.10 g/L, Bristol-Proteose besiyerinde 0.52 g/L, MWC besiyerinde 0.12 g/L, üreli Scenedesmus besiyerinde 0.16 g/L olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. İzole edilen 23 suşun BG-11, Bristol-Proteose (B-P), MWC ve üreli Scenedesmus (Ü-S) besiyerindeki kuru ağırlıklarının karşılaştırılması.

4.1.3. Klorofil-a Miktarının Tayini

BG-11 besiyerinde üretilen suşların klorofil-a miktarı 0.7-56.3 mg/m³ arasında; Bristol-Proteose besiyerinde üretilen suşların klorofil-a miktarı 8.2-102.0 mg/m³ arasında, MWC besiyerinde üretilen suşların klorofil-a miktarı 0.1-28.3 mg/m³ arasında ve üreli Scenedesmus besiyerinde üretilen suşların klorofil-a miktarı 0.2-34.3 mg/m³ arasında değişmiştir. Ortalama değerlere bakıldığında klorofil-a miktarlarının BG-11 besiyerinde 14.1 mg/m³, Bristol-Proteose besiyerinde 38.3 mg/m³, MWC besiyerinde 14.0 mg/m³, üreli Scenedesmus besiyerinde 12.7 mg/m³ olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. İzole edilen 23 suşun BG-11, Bristol-Proteose (B-P), MWC ve üreli Scenedesmus (Ü-S) besiyerindeki klorofil-a miktarlarının karşılaştırılması.

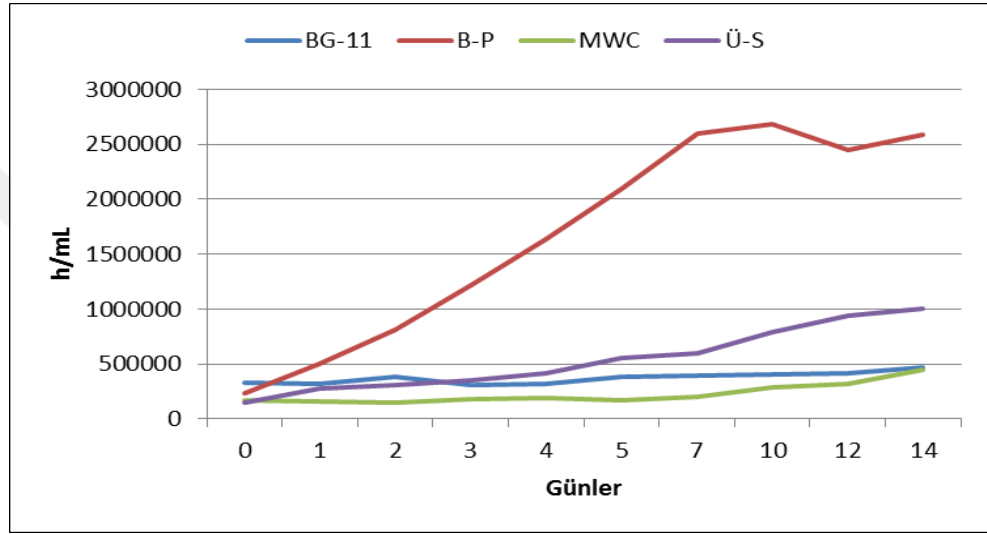
4.2. Hücre Sayımı

BG-11 besiyerinde üretilen suşların 10 günlük ortalama hücre sayıları 309783-466304 h/mL arasında, Bristol-Proteose besiyerinde üretilen suşların hücre sayıları 235507-2683696 h/mL arasında, MWC besiyerinde üretilen suşların hücre sayıları 153623-447826 h/mL arasında ve üreli Scenedesmus besiyerinde üretilen suşların hücre sayıları 150362-1002536 h/mL arasında değişmiştir. Ortalama değerlere bakıldığında hücre sayılarının 222283-1126087 h/mL arasında olduğu tespit edilmiştir.

Tüm besiyerlerinde en fazla hücre sayısı 9750000 h/mL ile 12. günde Bristol-Proteose besiyerinde takiben sırasıyla 10., 14., 7., 5. ve 4. günlerde aynı besiyerinde görülmüştür. Daha sonra hücre sayıları sırasıyla üreli Scenedesmus besiyerinde 14. gün 3141667 h/mL olarak, takiben aynı besiyerinde 12. gün 2966667 h/mL, 10. gün 2941667 h/mL, daha sonra 4. gün 2608333 h/mL, 5. gün 2500000 h/mL, 7. ve 3. günde 2166667 h/mL olarak tespit edilmiştir. Daha sonra hücre sayıları sırayla MWC besiyerinde 14. gün 1150000 h/mL, 10. gün 1100000 h/mL, 0. ve 1. gün BG-11 besiyerinde 1083333 h/mL, 12 gün MWC 1050000 h/mL, 7. gün BG-11 1025000 h/mL olarak sayılmıştır (Şekil 4.4). Çizelge 4.1'de besiyerlerinde suşların sayım yapılan günlerde ortama değerleri verilmiştir.

Çizelge 4.1. İzole edilen 23 suşun BG-11, Bristol-Proteose (B-P), MWC ve üreli Scenedesmus (Ü-S) besiyerindeki günlük ortalama hücre sayısı değerleri

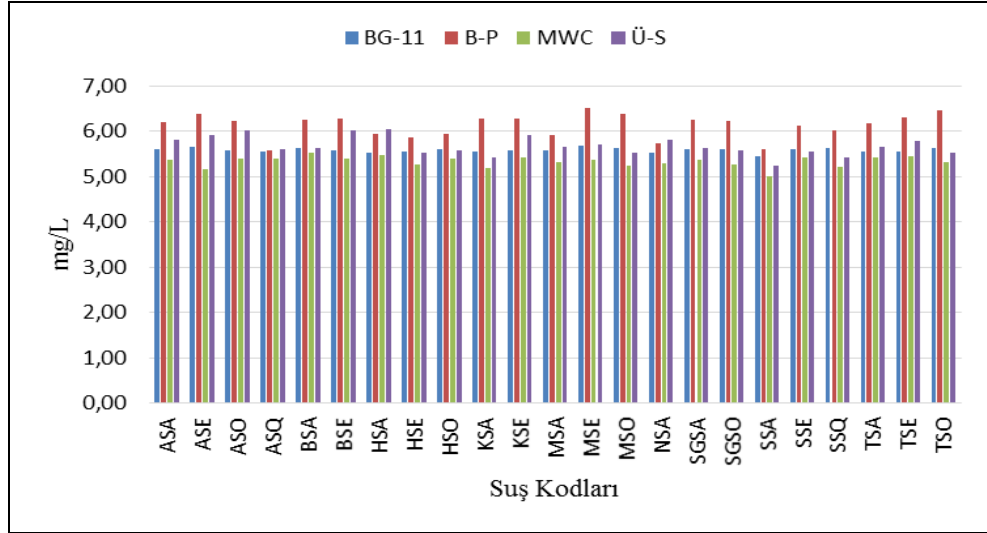
Ort.	0. Gün	1. Gün	2. Gün	3. Gün	4. Gün	5. Gün	7. Gün	10. Gün	12. Gün	14. Gün
BG-11	334783	314493	382971	309783	320652	385145	399275	403623	411957	466304
B-P	235507	504710	815580	1223913	1631884	2101449	2602174	2683696	2452174	2587681
MWC	168478	154710	153623	178261	192391	167029	202899	286594	317391	447826
Ü-S	150362	278623	305072	352899	421014	550000	598188	789855	940942	1002536



Şekil 4.4. İzole edilen 23 suşun BG-11, Bristol-Proteose (B-P), MWC ve üreli Scenedesmus (Ü-S) besiyerindeki ortalama hücre sayılarının karşılaştırılması.

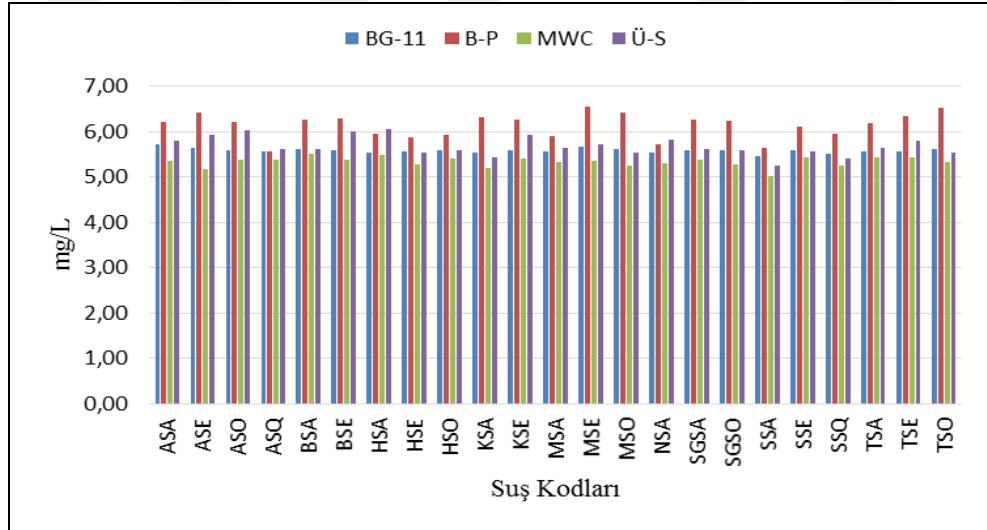
4.3. Spektrofotometrik Olarak Kültür Gelişiminin Ölçülmesi

Tüm günlük ölçümlerin ortalaması alınarak yapılan hesaplamalara göre 500 nm’de ölçülen spektrofotometrik büyüme en küçük 4.99 mg/L ile MWC besiyerinde, en büyük büyüme ise 6.50 mg/L ile Bristol-Proteose (B-P) besiyerinde tespit edilmiştir (Şekil 4.5).



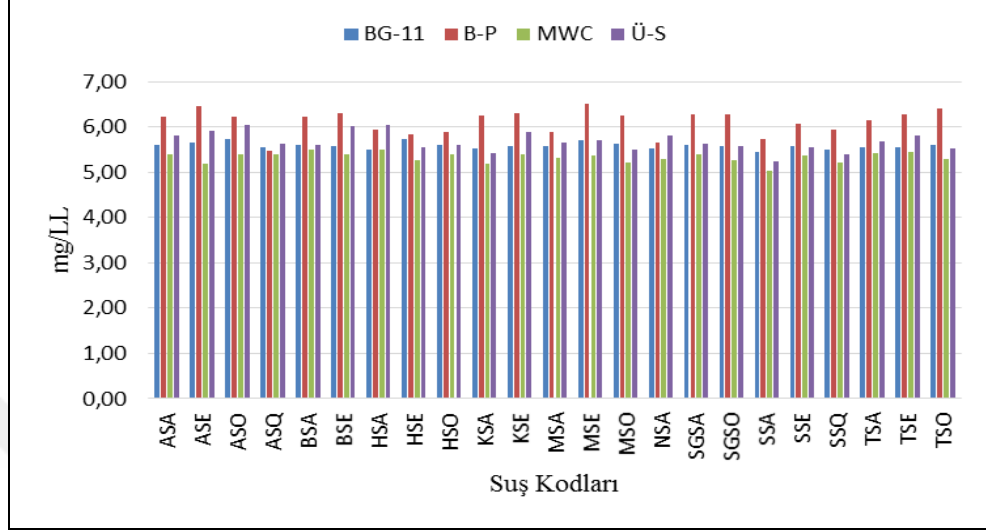
Şekil 4.5. İzole edilen 23 suşun BG-11, Bristol-Proteose (B-P), MWC ve üreli Scenedesmus (Ü-S) besiyerinde 500 nm dalga boyundaki spektrofotometrik gelişimi (ortalama).

Tüm günlük ölçümlerin ortalaması alınarak yapılan hesaplamalara göre 680 nm’de ölçülen spektrofotometrik büyüme en küçük 5.03 mg/L ile MWC besiyerinde, en büyük büyüme ise 6.56 mg/L ile Bristol-Proteose (B-P) besiyerinde tespit edilmiştir (Şekil 4.6).



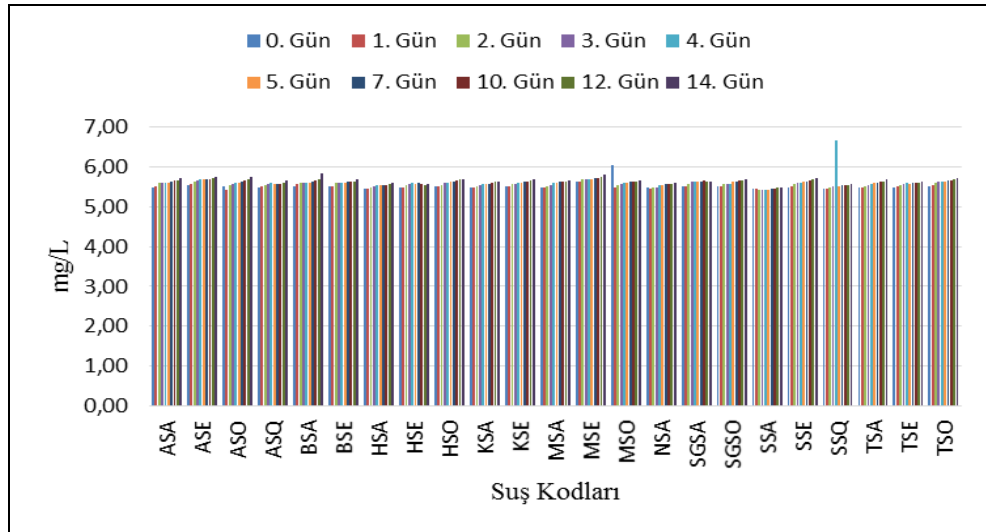
Şekil 4.6. İzole edilen 23 suşun BG-11, Bristol-Proteose (B-P), MWC ve üreli Scenedesmus (Ü-S) besiyerinde 680 nm dalga boyundaki spektrofotometrik gelişimi (ortalama).

Tüm günlük ölçümlerin ortalaması alınarak yapılan hesaplamalara göre 750 nm’de ölçülen spektrofotometrik büyüme en küçük 5.02 mg/L ile MWC besiyerinde, en büyük büyüme ise 6.51 mg/L ile Bristol-Proteose (B-P) besiyerinde tespit edilmiştir (Şekil 4.7).



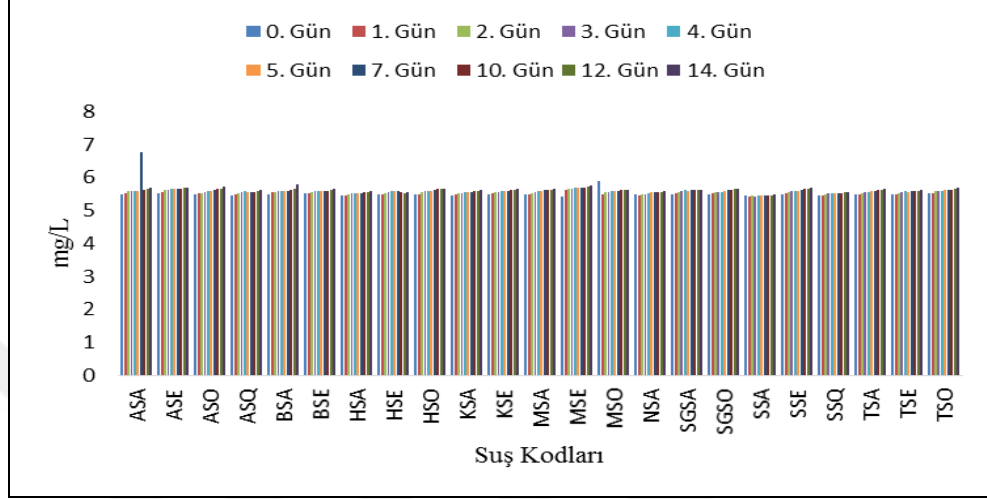
Şekil 4.7. İzole edilen 23 suşun BG-11, Bristol-Proteose (B-P), MWC ve üreli Scenedesmus (Ü-S) besiyerinde 750 nm dalga boyundaki spektrofotometrik gelişimi (ortalama).

İzole edilen 23 suşun BG-11 besiyerinde 500 nm dalga boyundaki spektrofotometrik gelişimi izlendiğinde en iyi gelişim 6.65 mg/L ile SSQ suşunda 4. günde tespit edilmiştir. Ortalama değerlere bakıldığında 5.69 mg/L ile MSE suşu, 5.65 mg/L ile ASE suşu ve 5.63 mg/L ile MSO suşunda en iyi büyüme gözlenmiştir (Şekil 4.8).



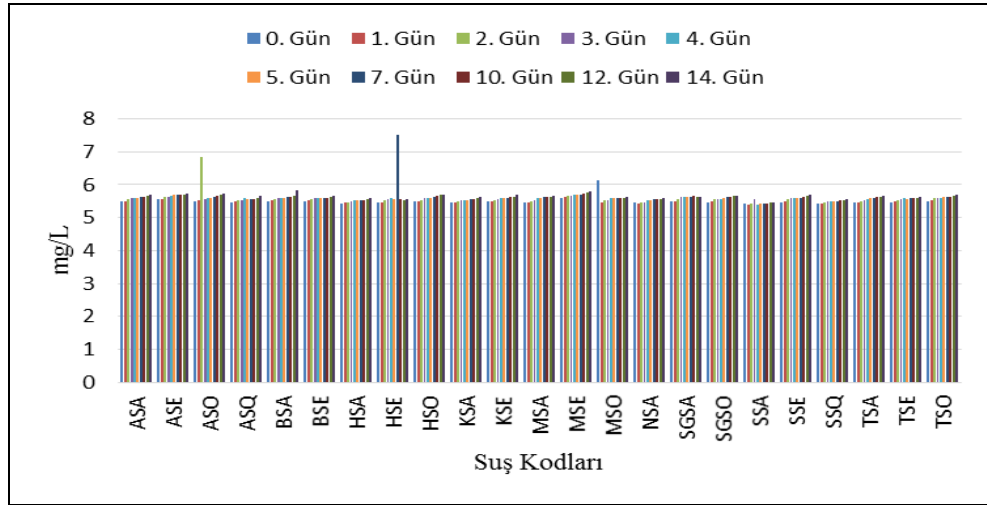
Şekil 4.8. İzole edilen 23 suşun BG-11 besiyerinde 500 nm dalga boyundaki spektrofotometrik gelişimi.

İzole edilen 23 suşun BG-11 besiyerinde 680 nm dalga boyundaki spektrofotometrik gelişimi izlendiğinde en iyi gelişim 6.77 mg/L ile 7. günde ASA suşunda tespit edilmiştir. Ortalama değerlere bakıldığında 5.71 mg/L ile ASA suşu, 5.66 mg/L ile MSE suşu ve 5.64 mg/L ile ASE suşunda en iyi büyüme gözlenmiştir (Şekil 4.9).



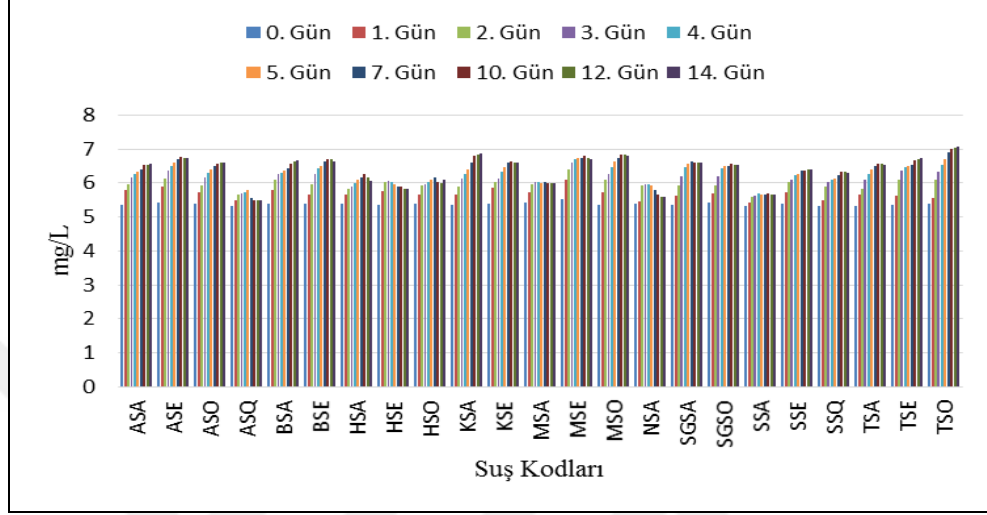
Şekil 4.9. İzole edilen 23 suşun BG-11 besiyerinde 680 nm dalga boyundaki spektrofotometrik gelişimi.

İzole edilen 23 suşun BG-11 besiyerinde 750 nm dalga boyundaki spektrofotometrik gelişimi izlendiğinde en iyi gelişim 7.51 mg/L ile 7. günde HSE suşunda tespit edilmiştir. Ortalama değerlere bakıldığında 5.74 mg/L ile HSE suşu, 5.73 mg/L ile ASO suşu ve 5.70 mg/L ile MSE suşunda en iyi büyüme gözlenmiştir (Şekil 4.10).



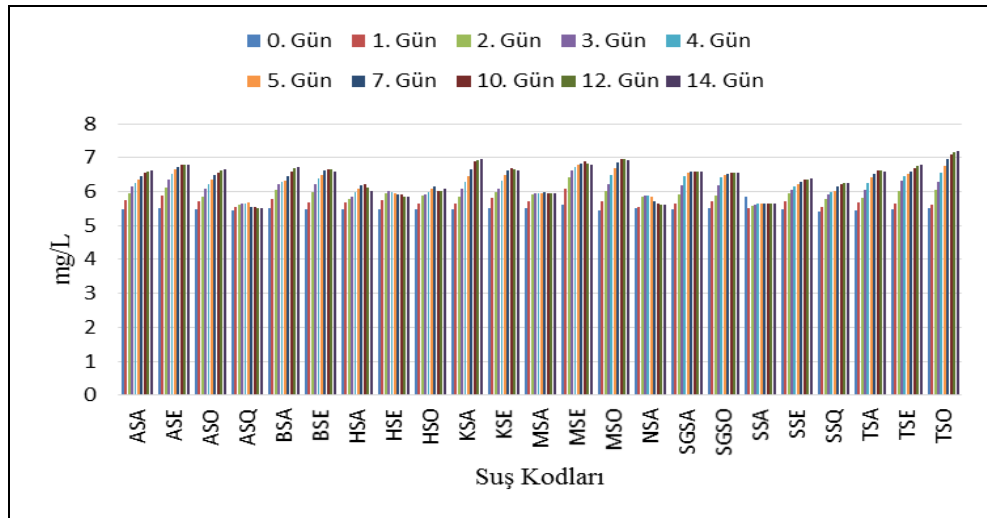
Şekil 4.10. İzole edilen 23 suşun BG-11 besiyerinde 750 nm dalga boyundaki spektrofotometrik gelişimi.

İzole edilen 23 suşun B-P besiyerinde 500 nm dalga boyundaki spektrofotometrik gelişimi izlendiğinde en iyi gelişim 7.07 mg/L ile 14. günde TSO suşunda tespit edilmiştir. Ortalama değerlere bakıldığında 6.47 mg/L ile TSO suşu, 6.39 mg/L ile ASE suşu ve 6.38 mg/L ile MSO suşunda en iyi büyüme gözlenmiştir (Şekil 4.11).



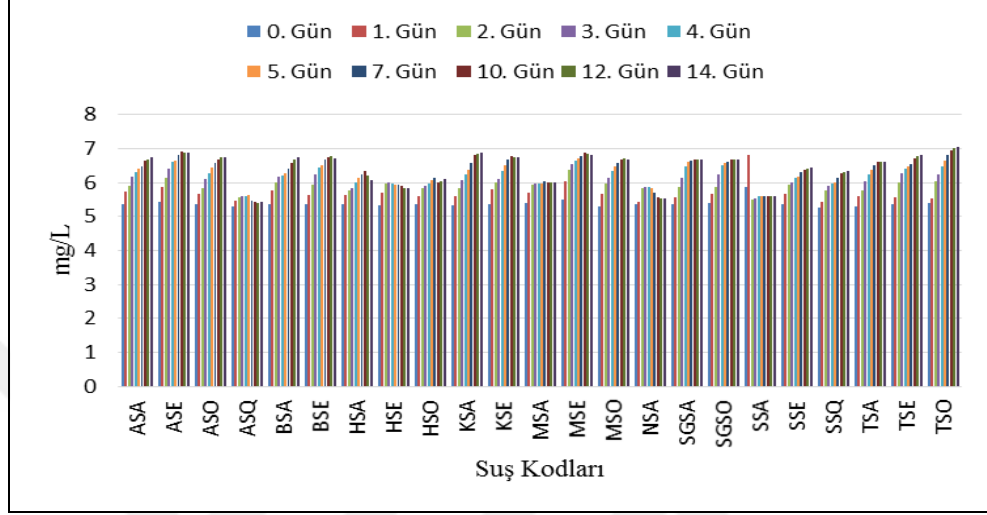
Şekil 4.11. İzole edilen 23 suşun Bristol-Proteose besiyerinde 500 nm dalga boyundaki spektrofotometrik gelişimi.

İzole edilen 23 suşun B-P besiyerinde 680 nm dalga boyundaki spektrofotometrik gelişimi izlendiğinde en iyi gelişim 7.18 mg/L ile 14. günde TSO suşunda tespit edilmiştir. Ortalama değerlere bakıldığında 6.56 mg/L ile MSE suşu, 6.52 mg/L ile TSO suşu ve 6.43 mg/L ile MSO suşunda en iyi büyüme gözlenmiştir (Şekil 4.12).



Şekil 4.12. İzole edilen 23 suşun Bristol-Proteose besiyerindeki 680 nm dalga boyundaki spektrofotometrik gelişimi.

İzole edilen 23 suşun B-P besiyerinde 750 nm dalga boyundaki spektrofotometrik gelişimi izlendiğinde en iyi gelişim 7.05 mg/L ile 14. günde TSO suşunda tespit edilmiştir. Ortalama değerlere bakıldığında 6.51 mg/L ile MSE suşu, 6.45 mg/L ile ASE suşu ve 6.41 mg/L ile TSO suşunda en iyi büyüme gözlenmiştir (Şekil 4.13).



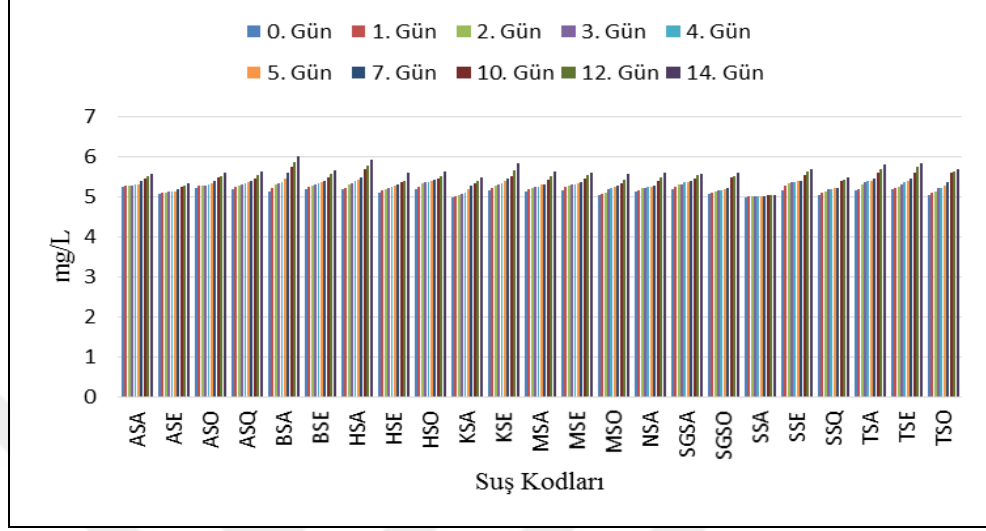
Şekil 4.13. İzole edilen 23 suşun Bristol-Proteose besiyerinde 750 nm dalga boyundaki spektrofotometrik gelişimi.

İzole edilen 23 suşun MWC besiyerinde 500 nm dalga boyundaki spektrofotometrik gelişimi izlendiğinde en iyi gelişim 6.08 mg/L ile 14. günde BSA suşunda tespit edilmiştir. Ortalama değerlere bakıldığında 5.53 mg/L ile BSA suşu, 5.48 mg/L ile HSA suşu ve 5.44 mg/L ile TSE suşunda en iyi büyüme gözlenmiştir (Şekil 4.14).



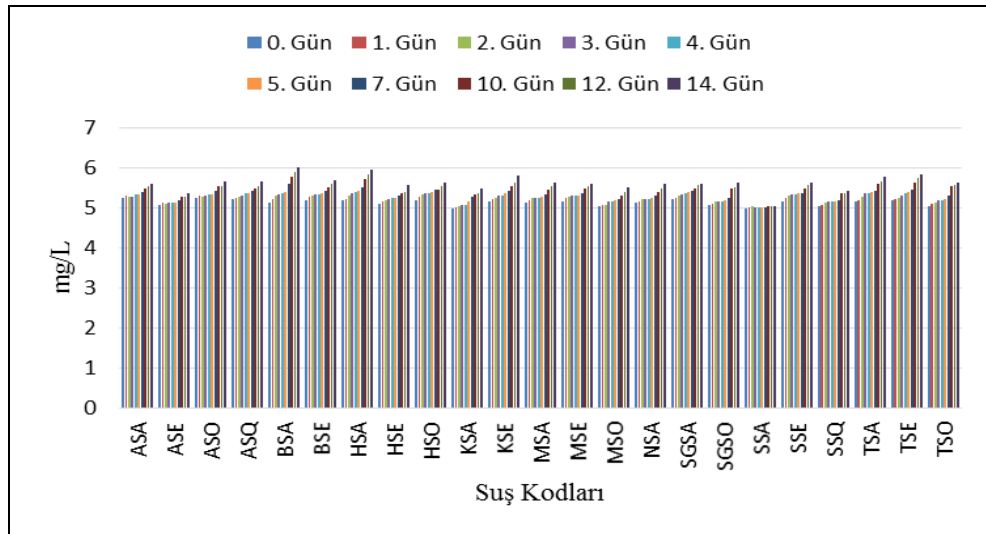
Şekil 4.14. İzole edilen 23 suşun MWC besiyerinde 500 nm dalga boyundaki spektrofotometrik gelişimi.

İzole edilen 23 suşun MWC besiyerinde 680 nm dalga boyundaki spektrofotometrik gelişimi izlendiğinde en iyi gelişim 6.01 mg/L ile 14. günde BSA suşunda tespit edilmiştir. Ortalama değerlere göre 5.51 mg/L ile BSA suşu, 5.48 mg/L ile HSA suşu ve 5.44 mg/L ile TSE suşunda en iyi büyüme gözlenmiştir (Şekil 4.15).



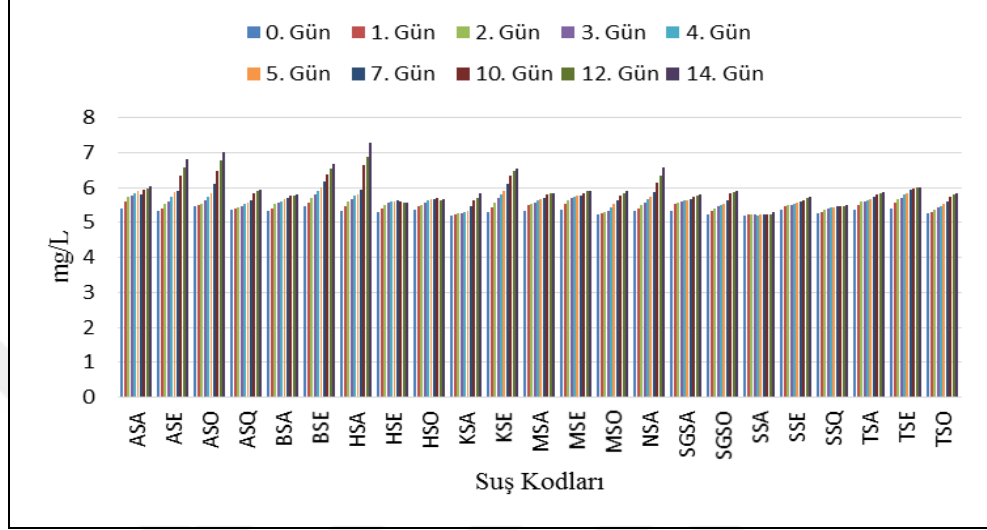
Şekil 4.15. İzole edilen 23 suşun MWC besiyerinde 680 nm dalga boyundaki spektrofotometrik gelişimi.

İzole edilen 23 suşun MWC besiyerinde 750 nm dalga boyundaki spektrofotometrik gelişimi izlendiğinde en iyi gelişim 6.02 mg/L ile 14. günde BSA suşunda tespit edilmiştir. Ortalama değerlere bakıldığında 5.51 mg/L ile BSA suşu, 5.49 mg/L ile HSA suşu ve 5.44 mg/L ile TSE suşunda en iyi büyüme gözlenmiştir (Şekil 4.16).



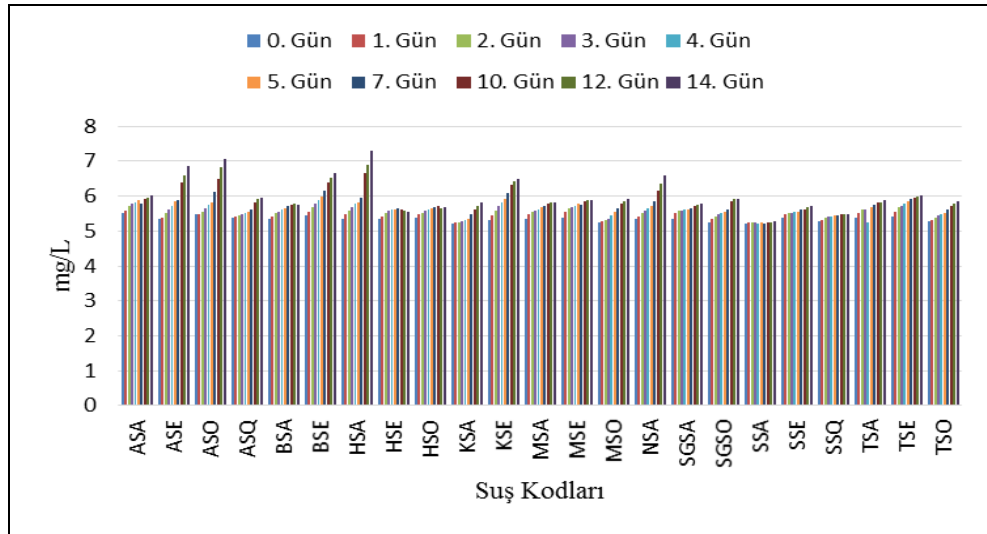
Şekil 4.16. İzole edilen 23 suşun MWC besiyerinde 750 nm dalga boyundaki spektrofotometrik gelişimi.

İzole edilen 23 suşun Ü-S besiyerinde 500 nm dalga boyundaki spektrofotometrik gelişimi izlendiğinde en iyi gelişim 7.27 mg/L ile 14. günde HSA suşunda tespit edilmiştir. Ortalama değerlere bakıldığında 6.04 mg/L ile HSA suşu, 6.02 mg/L ile BSE suşu ve 6.01 mg/L ile ASO suşunda en iyi büyüme gözlenmiştir (Şekil 4.17).



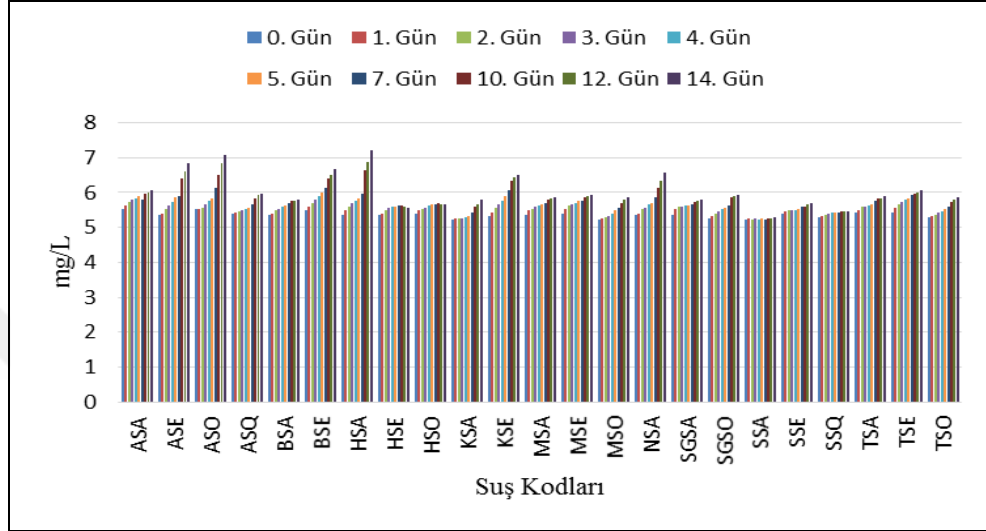
Şekil 4.17. İzole edilen 23 suşun üreli Scenedesmus besiyerinde 500 nm dalga boyundaki spektrofotometrik gelişimi.

İzole edilen 23 suşun Ü-S besiyerinde 680 nm dalga boyundaki spektrofotometrik gelişimi izlendiğinde en iyi gelişim 7.29 mg/L ile 14. günde HSA suşunda tespit edilmiştir. Ortalama değerlere bakıldığında 6.05 mg/L ile HSA, 6.02 mg/L ile ASO ve 6.01 mg/L ile BSE suşlarında en iyi büyüme gözlenmiştir (Şekil 4.18).



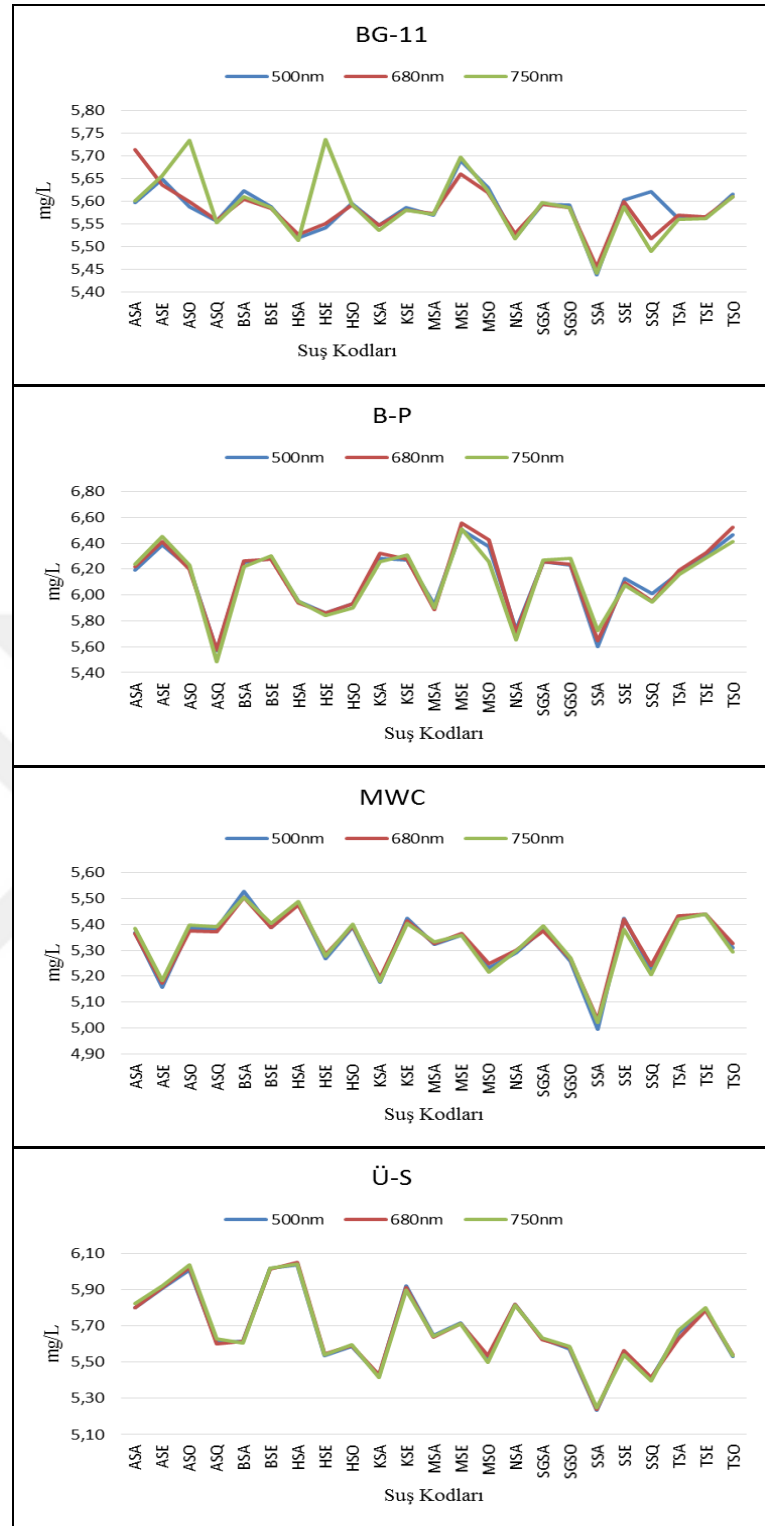
Şekil 4.18. İzole edilen 23 suşun üreli Scenedesmus besiyerinde 680 nm dalga boyundaki spektrofotometrik gelişimi.

İzole edilen 23 suşun Ü-S besiyerinde 750 nm dalga boyundaki spektrofotometrik gelişimi izlendiğinde en iyi gelişim 7.22 mg/L ile 14. günde HSA suşunda tespit edilmiştir. Ortalama değerlere bakıldığında 6.04 mg/L ile HSA ve ASO, 6.02 mg/L ile BSE ve 5.92 mg/L ile ASE suşlarında en iyi büyüme gözlenmiştir (Şekil 4.19).



Şekil 4.19. İzole edilen 23 suşun üreli Scenedesmus besiyerinde 750 nm dalga boyundaki spektrofotometrik gelişimi.

İzole edilen 23 suşun 500, 680 ve 750 nm dalga boylarındaki gelişimleri 4 farklı besiyerinde grafikte gösterilmiştir (Şekil 4.20).



Şekil 4.20. İzole edilen 23 suşun 500, 680 ve 750 nm dalga boylarında 4 farklı besiyerinde gelişimleri.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Günümüzde mikroalg kültürü üzerine yapılan çalışmalar, alglerin dünyadaki besin, sanayi ve yakıt üretiminde kullanılmaları nedeniyle oldukça önem kazanmaktadır. Maksimum büyümenin elde edilmesi için alglerin kültüründe kullanılan ortamlar ve stratejiler, optimum olarak hedeflenen ürünlerin elde edilmesi için tekrar tasarlanabilmektedir. Tatlısu alg kültürleri için bazı alg kültür ortamları kaydedilmiştir. Fakat produktiviteleri suştan suşa değişmektedir. Aynı suştan doğal metabolitlerin üretimi, farklı nutrientlerin kullanıldığı farklı ortamlarda, farklı nutrient konsantrasyonlarında ve pH'da maksimum biyomasın elde edilmesi için yeniden dizayn edilebilir (Al-Shatri ve ark., 2014).

Farklı türdeki alg kültürleri farklı nutrient ve ışık gereksinimlerine ihtiyaç duyarlar. Genellikle mikroalgler fotosentez amaçlı olarak 400 ile 700 nm dalga boyları arasındaki doğal ışığı kullanırlar. Klorofil-*a* ve β karoten alg türlerinin çoğunda yaygın olmasına rağmen klorofil-*a* baskın olan pigmenttir (Hoek, 1995). Diğer pigmentler klorofil-*b*, klorofil-*c*, karotenoidler ve fikobilinler ışık varlığında oluşan ürünlerdir (Richmond, 2004). Yeşil alglerin sahip oldukları klorofil-*a*, klorofil-*b* ve β -karotenden dolayı gelişimleri 500 ve 680 nm dalga boylarında takip edilebilir (Kommareddy ve Anderson, 2003). Kültür gelişmesinin takibi için en uygun dalga boyu 680 nm'dir. 680 nm absorbanısı ile alg kültürlerinin kuru ağırlık konsantrasyonları ya da klorofil-*a* içerikleri arasında lineer bir ilişkinin olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle de yeşil alg biyokütlelerindeki artış spektrofotometrik veriler kullanılarak dolaylı olarak hesaplanabilmektedir (Ma ve ark., 2002). Diatomeler, dinoflagellatlar ve kahverengi algler ile yapılan pigmentasyon çalışmalarında 500 nm ve 750 nm'nin farklı pigmentleri açığa çıkarmak için en uygun dalga boyları olduğu tespit edilmiştir (Strain ve ark., 1944). Benzer şekilde Mitrovic ve ark., (2008) ve Roubex ve ark., (2008) yaptıkları çalışmalarda *Cyclotella* sp. için 750 nm dalga boyunu kullanmışken, Janssen ve ark., (2001), Neumüller ve ark., (2002), Purves ve Orians, (1983) ve Ma ve ark., (2006) yaptıkları benzer içerikli çalışmalarda 680 nm'yi tercih etmiştir.

Scenedesmus protuberans ile yapılan bir çalışmada kültürün büyüme takibi için dört farklı dalga boyu belirlenmiştir. Kültür ortamı kör olarak kullanılarak 560, 650, 685 ve 750 nm'de ölçümler günlük olarak yapılmıştır (Demirel, 2006). Çalışmamızda spektrofotometrik olarak kültür gelişimi 500, 680 ve 750 nm dalga boylarında takip edilmiştir. İzole edilen 23 suşun farklı dalga boylarındaki gelişimlerinin birbirine benzer

değişim gösterdiği tespit edilmiştir. 500, 680 ve 750 nm dalga boyunda ölçülen spektrofotometrik büyüme en fazla Bristol-Proteose (B-P) besiyerinde, daha sonra üreli Scenedesmus ve BG-11 ortamında gözlenmiş olup, en az büyüme ise MWC besiyerinde tespit edilmiştir. Suşlar arasında verimlilik yönünden farklar vardır.

Nutrientler farklı tuzlar halinde bulunmaktadır veya bazı nutrientler farklı miktarda su içermektedir. Bazı mikrolaglerin büyümesinde bu farklılığın bir önemi olmamaktadır, ancak bazılarında zayıf büyümeye yol açmakta veya ortamdaki tuzların oranı değiştikçe istenmeyen çökeltme problemlerine neden olabilmektedir. Bu nedenle nutrientlerin doğru formunu kullanmakta fayda vardır. Mikroalgler nutrientlerin hepsine eşit miktarda ihtiyaç duymazlar, bu nedenle besiyerlerine farklı miktarda eklenirler. Birçok besiyeri ortamı yüksek biyomasın elde edilebilmesi için normal yaşama ortamında bulunan konsantrasyonlardan daha fazla miktarda destekleyici nutrient içerir. Farklı türler bazı nutrientlerin farklı miktarlarına ihtiyaç duyarlar. Fakat makronutrientler için ihtiyaçta Redfield oranı 106:16:1; inorganik karbon:azot:fosfat (mol) kullanılır. Bu oran dikkate alındığında mikroalgler kabaca karbona, azottan 6 kez fazla ihtiyaç duyarlar. Azot genellikle nitrat halinde ortama eklenir. Bununla birlikte bazı algler amonyum (Thomson ve ark., 1989) varlığında daha iyi büyüme göstermektedir. Ancak amonyumun 100 mM'dan fazlası çoğunlukla toksik olduğundan çok düşük miktarlarda kullanılmalıdır. Algler nitrat ve amonyum varlığında tercihen ortamda önce amonyumu tüketmektedir (Anonim, 2015). Algler NO_3^- , NO_2^- , N_2 veya NH_4^+ gibi azot kaynaklarını etkili şekilde kullanabilirler. Nitratı asimile etmek için nitrat redüktaz ve nitrit redüktaz kullanılır. Çözünmüş organik azot olarak üre, alg hücreleri tarafından öncelikle üreaz ile bir indirgenme reaksiyonuna uğrar. Sonuçta ortaya çıkan amonyum, glutamin sentetaz-glutamat sentaz (GS-GltS) yoluyla hücre metabolizmasına girer (Glass ve ark., 2009).

Kültür ortamı ile ilişkili en yaygın problemler pH'ın değişmesi, yüksek seviyede çökeltme, ortamın doğru hazırlanmaması, canlının özel ihtiyaçlarından birinin ortama eklenmemesidir. Çoğu alg geniş pH değişimlerine toleranslıdır, ancak en iyi inokulum suboptimaldedir. Çoğu durumda tatlısu ökaryotik algleri asidik çevreyi tercih (pH 5-7) ederken siyanobakteriler alkali çevreyi tercih (pH 7-9) ederler. Çökeltmenin fazla olması besin sınırlamasına neden olabilir ve mikroçevre osmotik olarak stres altına girebilir. Böyle durumlarda alternatif olarak ortamın desteklenmesi için düşük konsantrasyonlarda proteose pepton veya vitamin eklenebilir. Pepton, canlılar için hem karbon hem de en uygun azot kaynağıdır. Bunun yanında peptonların yapısında bulunan

bazı aminoasitler ve vitaminler de bazı mikroorganizmalar için gelişme faktörü olarak oldukça önemli işlev görür (Halkman, 2005). Yapılan bu çalışmada da proteose pepton içeren Bristol-Proteose besiyerinin *Scenedesmus* türlerinin gelişimini desteklediği gözlenmiştir. Besiyeri içeriğinde bulunan peptonun canlılar için sınırlayıcı faktörlerin etkisini azaltması, ayrıca hem azot hem de karbon kaynağı olarak kullanılması bu etkiye neden olmuş olabilir.

Besiyerlerinde üretilen suşların yaş ağırlık değerlerine göre en iyi gelişmenin sırasıyla Bristol-Proteose besiyerinde, daha sonra BG-11, üreli *Scenedesmus* ve MWC besiyerlerinde olduğu tespit edilmiştir. Üretilen suşların kuru ağırlıklarına bakıldığında en yüksek verim Bristol-Proteose besiyerinde elde edilmiş olup daha sonra üreli *Scenedesmus* besiyeri, MWC besiyeri ve BG-11 besiyerinde tespit edilmiştir. Literatürde biyomas takibinde kuru ağırlık verilerinin daha doğru sonuçlar verdiği (Anonim, 2016), özellikle bileşiklerin ekstraksiyonu ve kimyasal bileşen analizlerinde tercih edildiği ifade edilmektedir (Kechasov, 2013).

Besiyerlerinde üretilen suşların ortalama klorofil-*a* miktarı değerlerine göre gelişimleri en iyi şekilde Bristol-Proteose besiyerinde, daha sonra sırasıyla BG-11, MWC ve üreli *Scenedesmus* besiyerinde gözlenmiştir. Bristol-Proteose besiyerinde en yüksek klorofil-*a* değerinin tespit edilmesi biyomasla uyum içerisindedir. Ancak diğer besiyerlerinde aynı uyum gözlenmemiştir. Ramaraj ve ark., (2013) yaptıkları istatistik ve modelleme çalışmalarında klorofil-*a*, -*b*, -(*a+b*) ile biyomas arasında bir ilişki olmadığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada klorofil-*a* değerlerinin dalgalanma göstermesi, biyomasla doğrudan ilişkili olmamasından veya suşların farklılığından kaynaklanmış olabilir.

Scenedesmus abundans ile yapılan çalışmada üç farklı kültür ortamı (BBM, modifiye CHU-13 ve BG-11) kullanılmış ve kültürlerin büyüme oranı 680 nm dalga boyunda belirlenmiştir. En iyi gelişmenin modifiye CHU-13 besiyerinde olduğu gözlenmiştir. Modifiye CHU-13 besiyerindeki alg biyokütlesi ve lipid içeriğindeki artışın 0.32 g/L azot konsantrasyonundan kaynaklandığı gözlenmiştir (Mandotra ve ark., 2014). George ve arkadaşları (2014)'nın *Ankistrodesmus falcatus* türünün gelişimi üzerine farklı besi ortamlarında yapmış olduğu çalışmada 750 nm'de gözlenen en yüksek büyüme hızı ve hücre yoğunluğu (16.24×10^6 hücre/ml) BG-11 ortamında gözlenirken, BBM ortamında (3.04×10^5 hücre/ml) daha düşük tespit edilmiştir. Biyokütle verimliliği BG-11 ve MUB-10 ortamında (6.14 mg/L/gün) aynı sonucu verirken, BBM ortamında verimlilik (1.6 mg/L/gün) düşük bulunmuştur. NaCl

varlığının (2.5 g/L) ve düşük nitrat konsantrasyonunun büyüme oranının yavaşlamasına ve BBM besiyerinde düşük verimliliğe neden olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızda ise hücre sayımlarına göre en iyi gelişimin Bristol-Proteose besiyerinde, daha sonra sırasıyla üreli Scenedesmus, BG-11 ve MWC besiyerinde olduğu gözlenmiştir.

Croftcheck ve arkadaşları (2013)'nın yaptığı çalışmada *Scenedesmus acutus* KNO₃ ve üreli ortamlarda düşük CO₂ koşullarında üretilmiş ve sonuçların benzer olduğu gözlenmiştir. Üre seviyesindeki azalmanın büyümeyi sınırlayıcı etkisinin olmadığını, ortamın pH'ının ise büyümeyi önemli ölçüde etkilediğini gözlemişlerdir. Ürenin daha ucuz olması dolayısıyla besiyerinde tercih edilebileceğini bildirmişlerdir. Ayrıca ortam bileşenlerine eklenen EDTA, vitamin B ve bazı mikronutrientlerin (B, V ve Mo) alg büyümesinde önemli bir artışa neden olmadığını tespit etmişlerdir. Biyoyakıt üretiminde kullanılan *Scenedesmus* sp.'nin en iyi biyomasını elde etmek için optimum koşulların araştırıldığı diğer bir çalışmada farklı azot kaynakları, farklı konsantrasyonlar, çeşitli CO₂ seviyeleri ve tuzlar kullanılmıştır (Makarevičienė ve ark., 2011). En iyi biyomasın azot kaynağı olarak ürenin kullanıldığı veya azaltılmış NaNO₃ içeren modifiye BG-11 ortamında elde edildiği tespit edilmiştir. Bu çalışmada da üreli Scenedesmus besiyerinin türlerin gelişimini BG-11 ve MWC besiyerine göre daha destekleyici olduğu tespit edilmiştir. Bu ortamda kullanılan ürenin gübreleme etkisi yaptığı gözlenmiştir.

Biyoyakıt üretiminde kullanılan *Scenedesmus dimorphus* suşunun en iyi büyüme ve en fazla lipid içeriğini tespit etmek amacıyla BBM (Bold's Basal Medium) ve vitaminlerle zenginleştirilmiş 3N-BBM besiyeri kullanılarak yapılan çalışmada maksimum büyümenin 3N-BBM besiyerinde olduğu ancak yüzde lipid içeriklerinin en fazla BBM besiyeri ortamında olduğu tespit edilmiştir. Klorofil içeriği ise bütün kültürlerde büyüme eğrisinin dinamiğini takip etmiştir (Velichkova ve ark., 2013). Al-Shatri ve ark., (2014)'nın *Scenedesmus dimorphus* üzerine yaptıkları çalışmada da Bold Basal, M4N ortamı, BG-11 ortamı, N-8 ve M-8 olmak üzere beş farklı besiyeri kullanılmış ve en iyi büyümenin Bold-Basal ortamında olduğu tespit edilmiştir.

Farklı tatlısu ortamlarından kültüre alınarak izole edilen *Scenedesmus* cinsine ait suşlar BG-11, Bristol-Proteose, MWC ve üreli Scenedesmus olmak üzere dört farklı besiyerinde üretilmiş olup, gelişimleri direkt ve indirekt metotlarla izlenmiştir. *Scenedesmus* türlerinde en iyi gelişimin Bristol-Proteose besiyerinde daha sonra ise üreli Scenedesmus ortamında olduğu tespit edilmiştir. *Scenedesmus* spp. ile yapılacak çalışmalarda birim zamanda en yüksek hücre yoğunluğunun elde edildiği, en iyi

büyüme ve yüksek verimin gözlendiği Bristol-Proteose ortamının kullanılması çalışmanın özellikle konu ile diğer çalışmalara destek olması ve özellikle hedeflenen ürünlerin daha az maliyet ile en kısa zamanda elde edilmesi açısından önemlidir.



6. KAYNAKLAR

- Al-Shatri, A.H., Ali, E., Al-Shorgani, N., Sahaid, M. 2014. Growth of *Scenedesmus dimorphus* in different algal media and pH profile due to secreted metabolites, African Journal of Biotechnology. DOI:10.5897/AJB2013.13455; 13(16): 1714-1720.
- Andersen, R.A. 2005. Algal Culturing Techniques, Elsevier Academic Press, USA, 578 p.
- Anonim. 2014. <http://www.ccap.ac.uk/media/recipes.htm#> (Erişim tarihi:01.08.2014)
- Anonim. 2015. [http://www.marine.csiro.au/microalgae/methods/Making %20 Media .htm](http://www.marine.csiro.au/microalgae/methods/Making%20Media.htm) (Australian National Algae Culture Collection-Methods) (Erişim tarihi:01.04.2015).
- Anonim. 2016. <https://www.noisebridge.net/images/7/70/TruCell.TN.AUvsOD.pdf>, Technical Note, Finesse, LLC 3350 Scott Boulevard #1 Santa Clara, CA 95054 9351 Irvine Boulevard Irvine, CA 92618 800-598-9515 www.finesse-inc.com.
- Apha, Awwa, Wef. 2005. Standard Methods for the Examination of Water & Wastewater, 21st Edition, 1207 p.
- Arumugam, M., Agarwal, A., Arya, M.C., Ahmed, Z. 2012. Influence of nitrogen sources on biomass productivity of microalgae *Scenedesmus bijugatus*. Bioresource Technology, 131: 246-249.
- Atay, D. 1984. Bitkisel Su Ürünleri Üretim Tekniği. Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Su Ürünleri Bölümü, Ziraat Fakültesi Yayınları, Ankara, 253 s.
- Beyatlı, Y. 1996. Biyoteknoloji ve Biyoprotein Üretimi, KÜKEM Derneęi Bilimsel Yayınlar No: 5.
- Birch, G., Parker, K.J., Worgan, J.T. 1976. The Socio-economic implications of producing food from waste: Applied Science Publisher Ltd. London, 264-277.
- Bischoff, H.W., Bold, H.C. 1963. Some soil algae from Enchanted Rock and related algal species. Phycological Studies IV. Univ. Texas Publ. 6318: 1-95.
- Borowitzka, M.A. 1992. Algal biotechnology products and processes: matching science and economics. J Appl Phycol, 4: 267-279.

- Chaichalerna, S., Pokethitiyook, P., Yuan, W., Meetam, M., Sritong, K., Pugkaew, W., Kungvansaichol, K., Kruatrachue, M., Damrongphol, P. 2011. Culture of microalgal strains isolated from natural habitats in Thailand in various enriched media. *Applied Energy*, 89: 296-302.
- Chen, F., Jiang, Y. 2001. Algae and their Biotechnological Potential, Proceedings of the 4th Asia-Pacific Conference on Algal Biotechnology, 3-6 July 2000 in Hong Kong.
- Cirik, S., Gökpınar, Ş. 1993. Plankton Bilgisi ve Kültürü, Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları No: 47, Ders Kitabı Dizini No: 19, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir.
- Croftcheck, C.E.X.Y., Shea, A., Montross, M., Crocker, M., Andrews, R. 2013. Influence of media composition on the growth rate of *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus acutus* utilized for CO₂ mitigation. *Journal of Biochemical Technology*, 4(2): 589-594.
- Demirel, Z. 2006. Eğirdir Gölü'nden izole edilen yeşil mikroalg (Chlorophyta) *Scenedesmus protuberans* Fris.'in antimikrobiyal ve antioksidan özelliğinin araştırılması. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans tezi. 147 s.
- Dilov, H., Vojnova, Z. 1985. Experiments to decrease the microbial number during the cultivation of monocellular algi, Bulgarian Acad.Sci., Industrial Research Lab. of Algology.
- Erdoğan, A., Çağır, A., Dalay, M.C., Eroğlu, A.E. 2015. Composition of Carotenoids in *Scenedesmus protuberans*: Application of Chromatographic and Spectroscopic Methods. *Food Analytical Methods*, 8: 1970-1978.
- George, B., Pancha, I., Desai, C., Chokshi, K., Paliwal, C., Ghosh, T., Mishra, S. 2014. Effects of different media composition, light intensity and photoperiod on morphology and physiology of freshwater microalgae *Ankistrodesmus falcatus*, A potential strain for bio-fuel production. *Bioresource Technology*, 171: 367-374.
- Glass, J.B., Wolfe-Simon, F., Anbar, AD. 2009. Coevolution of metal availability and nitrogen assimilation in cyanobacteria and algae. *Geobiology* 7: 100-123.
- Gönülol, A. 2016. Turkishalgae electronic publication, Samsun, Turkey. <http://turkiyealgleri.omu.edu.tr> (Erişim tarihi:01.02.2016)

- Guiry, M.D., Guiry, G.M. 2016. *AlgaeBase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org> (Erişim tarihi:01.02.2016)
- Gümüş, F., Gönülođ, A. 2012. Taşmanlı Göleti (Sinop) epifitik algleri. 5. Ulusal Limnoloji Sempozyumu, 27-29 Ağustos 2012, Isparta, S.D.Ü.
- Halkman A.K. 2005. Besiyerleri, Bölüm 3, www.mikrobiyoloji.org. Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları Ed: AK. Halkman. Başak Matbaacılık Ltd. şti., Ankara, 358 s.
- Hoek, C.V.D., Mann, D.G., Jahns, H.M. 1995. *Algae: An Introduction to Phycology*. 12-13, 24-25, 300-301. New York, Cambridge University Press.
- Huber-Pestalozzi, G.G. 1983. *Das Phytoplankton des Süřswassers Systematic und Biologie*, Part 7, Teil 1: Komarek, J, und B. Fott: Chlorophyceae (Grünalgen), Ordnung Chlorococcales, E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung (Naegle u. Obermiller), Stuttgart, 1044 p.
- İnaç, A., 1994. *Scenedesmus* spp.'nin tatlısulardan izolasyonu ve laboratuvar şartlarında üremesinin araştırılması, YL tezi, Gazi Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü, 61 s.
- Janssen, M., Bathke, L., Marquardt, J., Krumbein, W.E., Rhiel, E. 2001. Changes in the photosynthetic apparatus of diatoms in response to low and high light intensities. *Int Microbiol.* 4(1): 27-33.
- John, D.M., Whitton, B.A., Brook, A.J. 2003. *The Freshwater algal flora of the British Isles, an identification guide to freshwater and terrestrial algae*. Natural History Museum Press, Cambridge, 714 p.
- Kechasov, D. 2013. Biochemical and molecular analysis of LC-PUFA biosynthesis in the microalga *Nannochloropsis*, Master thesis, University of Stavanger, 110 p.
- Kommareddy, A., Anderson, G. 2003. Study of light as a parameter in the growth of algae in Photo-Bio Reactor. ASAE Paper No. 034057. Las Vegas, Nevada: ASAE.
- Korurek, D. 1996. *Chlorella vulgaris* Beijerinck, 1890'in tatlısu birikintilerinden izolasyonu, laboratuvar şartlarında üreme ve fizyolojileri, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Doktora Tezi, 180 s.

- Ma, J., Lu, N., Qin, W., Xu, R., Wang, Y., Chen, X. 2006. Differential responses of eight cyanobacterial and green algal species, to carbamate insecticides Ecotoxicology and Environmental Safety 63: 268-274.
- Ma, J., Zheng, R., Xu, L., Wang, S. 2002. Differential Sensitivity of Two Green Algae, *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella pyrenoidosa*, to 12 Pesticides Ecotoxicology and Environmental Safety 52, 57-61.
- Makarevičienė, V., Andrulevičiūtė, V., Skorupskaitė, V., Kasperovičienė, J. 2011. Cultivation of Microalgae *Chlorella* sp. and *Scenedesmus* sp. as a Potential Biofuel Feedstock. Environmental Research, Engineering and Management, 3(57), 21-27.
- Mandotra, S.K., Kumar, P., Suseela, M.R., Ramteke, P.W. 2014. Fresh water green microalga *Scenedesmus abundans*: A potential feedstock for high quality biodiesel production. Bioresource Technology, 156: 42-47.
- Mitrovic, M.S., Chessman, C.B., Etselle, A.D., Ryan, N. 2008. Development of blooms of *Cyclotella meneghiniana* and *Nitzschia* spp. (Bacillariophyceae) in a shallow river and estimation of effective suppression flows. Hydrobiologia. 596: 173-185.
- Neumüller, M., Cunningham, A., McKee, D. 2002. Assessment of a microscopic photobleaching technique for measuring the spectral absorption efficiency of individual phytoplankton cells. Journal of Phytoplankton Research 24 (8): 741-746.
- Noüe, J., Eidhin, D.N. 1988. Improved performance of intensive semicontinuous cultures of *Scenedesmus* by biomass recirculation, Biotechnology and Bioengineering, 31: 397-406.
- OECD. 2016. SIDS Initial Assessment Report, Calcium Chloride, Unep Publications. (<http://www.inchem.org/documents/sids/sids/7778543.pdf>), (04. 2016).
- Öztürk, M. 1994. Bir Doğa Koruma Alanı Olan Sarıkum Gölü (Sinop) Makroskobik ve Mikroskobik Algleri. XII. Ulusal Biyoloji Kongresi, 6-8 Temmuz 1994, Edirne, IV: 195-200.
- Özyurt, M. 1977. Mikrobiyal Proteinin Hayvan Yemi Olarak Kullanılması, Gıda Dergisi 2, 4, 5, 1977; 171-174.

- Pektaş, M. 2001. Çoğun Baraj Gölü (Kırşehir) Alg Florası. Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, 51 s.
- Prescott, G.W. 1973. Algae of the Western Great Lakes Area, (5 th Edition) W.M.C., Brown Dubique, Iowa, 977 p.
- Pringsheim, E. 1946. Pure Culture of Algae, Cambridge University Press.
- Pulz, O. 2001. Photobioreactors: production systems for phototrophic microorganisms. IGV Institute for Cereal Processing, Arthur-Scheunert-Allee 40/41, 14558 Bergholz-Rehbrücke, Germany. Hop on biotechnology of microalgae. Bergholz-Rehbrücke, Germany.
- Purves, W.K., Orians, G.H. 1983. Life: The Science of Biology. 186-211. Sunderland, M.A.: Sinauer Associates, INC.
- Ramaraj, R., Tsai, D.D.W., Chen, P.H., 2013. Chlorophyll is not accurate measurement for algal biomass, Chiang Mai J. Sci., 40 (4): 547-555.
- Richmond, A. 2004. Handbook on Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology. 23, 37, 125-172. Iowa State Press, Iowa: Blackwell Publishing.
- Rodrigues, L.H.R., Arenzon, A., Raya-Rodriguez, M.T., Fontoura N.F. 2011. Algal density assessed by spectrophotometry: A calibration curve for the unicellular algae *Pseudokirchneriella subcapitata*. Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology, 3(8): 225-228
- Roubex, V., Lancelot, C. 2008. Effect of salinity on growth, cell size and silicification of an euryhaline freshwater diatom: *Cyclotella meneghiniana* Kütz. Transitional Waters Bulletin. 1: 31-38.
- Santos-Ballardo, D.U., Rossi, S., Hernández, V., Vázquez Gómez, R., Rendón-Unceta, M.C., Caro-Corrales, J., Valdez-Ortiz, A. 2015. A simple spectrophotometric method for biomass measurement of important microalgae species in aquaculture, Aquaculture, 448: 87-92.
- Sarma, S.J., Das, R.K., Brar, S.K., Bihan, Y.L., Buelna, G., Verma, M. 2014. Application of magnesium sulfate and its nanoparticles for enhanced lipid production by mixotrophic cultivation of algae using biodiesel waste, Energy,
- Senez, J.C. 1982. New Feeds and foods by advanced biotechnologies, Journal of Biotechnology, 5, 1, 23-27.

- Shaul, O. 2002. Magnesium transport and function in plants: the tip of the iceberg. *BioMetals*, 15: 307-21.
- Sıvacı, E., Yardım, Ö., Gönüloğlu, A., Bat, L., Gümüş F. 2008. Sarıkum (Sinop-Türkiye) Lagününün Bentik Algleri. *Journal of Fisheries Sciences*, 2(4): 592-600.
- Sivakumar, R., Rajendran, S. 2013. Growth measurement technique of microalgae, (short communication) *Int. J. Curr. Sci.*, 7: E 52-54.
- Stein, J.R. 1973. *Handbook of Phycological Methods, Culture Methods and Growth Measurements*, Cambridge at the University Press, USA, 448 p.
- Strain, H.H., Manning, W.M., Hardin, G. 1944. Xanthophylls and carotenes of diatoms, brown algae, dinoflagellates, and sea-anemones *Biol Bull*: 169-191.
- Sukatar, A. 2002. Alg Kültür Yöntemleri, Ege Üniv. Yayınevi, İzmir, 168 s.
- Thompson, P.A., Levasseur, M.E., Harrison, P.J. 1989. Light-limited growth on ammonium vs. nitrate: what is the advantage for marine phytoplankton, *Limnol Oceanogr.*, 34: 1014-1024.
- Tsoglin, L., Gabel, B. 2000. The technology of production of biomass labeled with stable isotopes. Abstracts of the 4th European Works.
- Utex. 2014. <https://utex.org/>, The UTEX Culture Collection of Algae at the University of Texas at Austin.
- Velichkova, K., Sirakov, I., Georgiev, G. 2013. Cultivation of *Scenedesmus dimorphus* strain for biofuel production. *Agricultural Science and Technology*, 5 (2):181-185.
- Xin, L., Hu, H.Y., Ke, G., Sun, Y.X. 2010. Effects of different nitrogen and phosphorus concentrations on the growth, nutrient uptake, and lipid accumulation of a fresh water microalga *Scenedesmus* sp. *Bioresource Technology*, 101:5494-5500.
- Yılmaz, C. 2005. "Sarıkum Gölü Ekosistemi (Sinop)", TURQUA - Türkiye Kuvaterner Sempozyumu V, (02-03 Haziran 2005), Bildiriler Kitabı, İstanbul Teknik Üniversitesi, Avrasya Yerbilimleri Enstitüsü Yayını, (219-226), İstanbul.
- Yiğit, N., Kurt, L., Güler, C., Kaya, M., Saygılı, F., Yüksel, E., Asaroğlu, M., Özdemir, C. 2012. Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğü Aksaz-Karagöl Sulak Alan Biyolojik Çeşitlilik Araştırması.

ÖZGEÇMİŞ

Rıdvan ÖZTÜRK, 1990 yılında İstanbul, Bakırköy’de doğdu. İlk ve orta öğrenimini İstanbul’da tamamladı. 2008 yılında girdiği Sinop Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’nden 2012 yılında mezun oldu. 2013 yılında, Sinop Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans öğrenimine başladı.

