

Farklı Kültür Ortamlarının *Scenedesmus* spp. Gelişimi Üzerine Etkileri

Selin DOĞAN¹, **Zeliha AKYÜZ¹**, **Rabia TATAR¹**, **Emirhan ÖGRÜ²**,
Muhammet Furkan TOPAL¹, **Yusuf GÜLŞAHİN¹**, **Gökçe KARADAYI³**,
Mehmet KARADAYI⁴, **Özden FAKIOĞLU^{5*}**, **Medine GÜLLÜCE⁴**

¹Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, Türkiye

²Atatürk Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri Mühendisliği, Erzurum, Türkiye

³Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Erzurum, Türkiye

⁴Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Erzurum, Türkiye

⁵Atatürk Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Temel Bilimler Bölümü, Erzurum, Türkiye

Özet: Bu çalışmanın amacı Chlorophyceae (Yeşil algler) grubunun endüstriyel açıdan önemli bir üyesi olan *Scenedesmus* spp. türlerinin gelişimleri üzerine farklı kültür ortamlarının etkilerinin araştırılmasıdır. Bu amaçla Erzurum il sınırları içerisinde yer alan doğal göllerden plankton keçesi ile alınan örneklerden *Scenedesmus* spp. izole edilmiştir. *Scenedesmus* spp.'nin BBM (Bold's Basal Medium), 3N-BBM (3 Nitrogen Bold's Basal Medium), WCM (Wright's Cryptophyte Medium), BG-11 (Blue Green Algal) saf hücre kültür büyümeleri 14 günlük inkübasyon süresince takip edilmiştir. Deneme sonunda en yüksek gelişim ortalama 355×10^4 adet/ml hücre sayısı ile 3N-BBM kültür ortamında, en düşük gelişim ortalama 86×10^4 adet/ml hücre sayısı ile WCM kültür ortamında hesaplanmıştır. Sonuç olarak azot (N) ile zenginleştirilmiş kültür ortamının *Scenedesmus* spp. gelişimine pozitif etki ettiği tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: BBM, 3N-BBM, WCM, BG-11 Medium, *Scenedesmus* spp.

Effects on Growing of *Scenedesmus* spp. use of Different Medium

The aim of this study is investigated in the effects of different medium on growing performans *Scenedesmus* spp., which is an industrially important member of the Chlorophyceae (Green algae) group. For this purpose, *Scenedesmus* spp. is isolated from natural lakes within the borders of Erzurum province by from samples taken with a plankton net. Pure cell culture growth of *Scenedesmus* spp. in BBM (Bold's Basal Medium), 3N-BBM (3 Nitrogen Bold's Basal Medium), WCM (Wright's Cryptophyte Medium), BG-11 (Blue Green Algal) was monitored during 14 days in incubation. At the end of the try has been found the highest growth in 3N-BBM culture medium with a mean cell counting of 355 cells/ml, and the lowest growth in WCM culture medium with a mean cell counting of 86 cells/ml. As a result of in this try has been determined that the culture medium enriched with nitrogen (N) is effective positive impact on growing of *Scenedesmus* spp

Keywords: BBM, 3N-BBM, WCM, BG-11 Medium, *Scenedesmus* spp.

GİRİŞ

Mikroalgler, fenotipik özellikleri bakımından tek hücreli ve çok hücreli yapıda olabilen, ototrofik veya heterotrofik özelliklerde, fotosentez yapabilen basit mikroskobik canlılardır (Plaza, 2008). Mikroalglerde aktif bir hareket gözlenmez, suyun hareketi ile hareket edebilen organizmalar olup gerçek bir embriyoya, çiçek sapına, köküne ve yapraklarına sahip değildirler. Bu canlılar fotosentez yoluyla güneş ışığı, suyu ve CO₂'i kullanarak ihtiyaçları olan

biyokütleyi sentezlerler. Genel olarak mikroalglerin bileşimi CO_{0.48}H_{1.83}N_{0.11}P_{0.01}'dir (Xu, 2014). Mikroalglerin kuru hücre ağırlıklarının yaklaşık %7-23'ünü yağlar, %5-23'ünü karbohidratlar ve %6-52'sini proteinler oluşturmaktadır (Zhu, 2015).

Mikroalgler değerli moleküllerin kaynağı ve kimyasal bileşimleri (yağ asitleri, proteinler, pigmentler, stabil izotoplar vb.) nedeniyle yetiştirilmeleri yaygınlaşmaktadır. (Brown, 1997). Bunun yanı sıra kısa sürede kolay yetiştirilebilmeleri ve çevre dostu yenilenebilir bir kaynak olması yönünden de mikroalglerin çok sayıda ticari uygulaması vardır. Başta gıda, tıbbi, nutrasötik ve kozmetik

*Corresponding Author: ozden.fakioğlu@atauni.edu.tr

Submitted date: 10 Nov 2023

Accepted date: 13 Dec 2023

endüstrilerindeki uygulamalarda kullanımları açısından oldukça kıymetlidir (Del Campo et al., 2000; Mimouni, 2012; Guedes, 2013).

Mikroalglerin birçok türü doymamış yağ asitleri, yüksek protein, β -karoten, pigment ve vitamin içeriklerinden dolayı gıda ham ve katkı maddesi olarak da kullanılmaktadır (Soletto et al., 2005). İnsanlar tarafından besinsel kullanımları 2000 yıl öncesine kadar uzanmaktadır ki kıtlık sırasında Çinlilerin hayatta kalmak için *Nostoc*, *Arthrospira Spirulina* ve *Aphanizomenon* türlerini içeren bazı mavi-yeşil algleri tükettikleri bilinmektedir (Jensen, 2001).

Su ürünleri yetiştiriciliğinde önemli bir rol oynayan mikroalgler aynı zamanda çiftlik hayvanlarının yem formülasyonlarında besin değerini arttırmak için kullanılmaktadır (Becker, 2013; Borowitzka, 1997; Stolz, 2005).

Mikroalg Yetiştirme Ortamının Özellikleri

Mikroalgler buldukları ortam ile etkileşim halindedirler. Işık, pH, sıcaklık ve besinler mikroalglerin etkilendiği en önemli ortam parametreleridir (Tablo 1). Uygun üretim ortamının sağlanabilmesi için bu kriterlerin optimum seviyede olması önem arz etmektedir. Bu ortam parametreleri sadece fotosentezi ya da ürün verimliliği etkilemez aynı zamanda hücrenel biyokimyasal kompozisyonunu da etkilemektedirler (Richmond, 2004). Mikroalg üretimine etki eden faktörler aşağıda sıralanmıştır: **1. Sıcaklık:** Sıcaklık alglerin hücre boyutunu, büyüme hızını, gerekli besinleri ve biyokimyasal bileşimini en çok etkileyen faktörlerden biridir. Maksimum sıcaklıkta büyüme hızı, sıcaklık ile artmasına rağmen bazı türlerde belirgin bir şekilde düşüş görülebilmektedir. Mikroalglerin çoğu 16-27°C arasındaki sıcaklığı tolere edebilirler. 16°C'den düşük sıcaklıklar mikroalglerin üremelerini yavaşlatırken; 35°C'den yüksek sıcaklıklar ise genellikle mikroalgler için öldürücü etkiye sahiptir (Juneja et al., 2013). **2. Işık:** Alglerin büyüme evresinde kullandıkları bir enerji kaynağıdır. Algler organik bileşikler; özellikle de şekeri CO₂'ye dönüştürmek için enerji kaynağı olarak kullanılmaktadır. Bu yüzden ışık algler için büyümede elzem bir etkidir. Alglerin büyüme hızları ve lipid üretimleri aydınlatma düzeyine göre değişiklik gösterebilmektedir (Blair et al., 2014). **3. pH:** Spesifik olarak her türün gelişebilmesi için belli bir pH aralığı bulunmasına rağmen, genellikle pH 7 ile 9 aralığı alglerin gelişmeleri için uygun olmaktadır. Alglerde pH değeri genelde besin alımıyla doğrudan ilişki içerisinde. Ortamda karbondioksit ve nitrat bulunması pH'yı yükseltirken, amonyak ortamın pH'sını düşürmektedir (Rashid et al., 2013). **4. Tuzluluk:** Tuzluluk (NaCl), alg hücrelerinin biyokimyasal yapısını etkileyen önemli bir diğer faktördür. Yapılan çalışmalarda alglerin doğal yaşamlarından daha çok ya da daha az tuzlu ortamlarda büyüme hızlarının ve hücre bileşiminin değiştiğini göstermiştir. Ayrıca tuz stresine maruz kalan alglerin lipid içeriklerinin de arttığı görülmüştür (Zhila et al., 2011; Fabregas et al., 1984). **5. Havalandırma/Karıştırma:** Karıştırma, genellikle alglerin sedimentasyonunu önlemek için kullanılmasının yanı sıra sıcaklık ve ışığı tüm kültür içerisinde yayılmasını, kültür ortamında optimum seviyede tutulmasında ve sıcaklığın ve ışığın hücrelere eşit olarak dağılması için de uygulanmaktadır. **6. Besinler:**

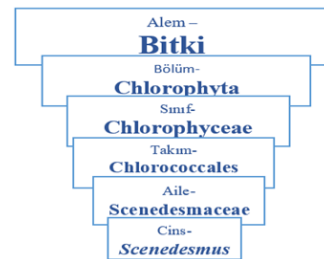
Mikroalglerin üremesinde gerekli olan besinler; makro ve mikro elementler ve vitaminlerdir. Yapılan bazı çalışmalarda alg kültür ortamlarında en az 56 elementin var olduğunu bildirmişlerdir. Bu elementlerden bazıları fosfor (P), azot (N), kobalt (Co), nikel (Ni), potasyum (K), kükürt (S), kalsiyum (Ca), sodyum (Na), magnezyum (Mg) gibi fizyolojisinin temelini oluşturmaktadır ve metabolik faaliyetler için gerekli olan elementlerdir. Azot stresine maruz kalan alglerde lipid üretiminin daha fazla olduğu, büyüme ortamında azot bulunan mikroalglerin ise monogliserit ile digliseritleri daha fazla ürettiğini tespit etmişlerdir (Becker, 1995; Jayasankar and Polywal, 2000; Sukatar, 2002; Richmond, 2004). Azot, alglerde nükleik asitlerle proteinlerin oluşumunda görev alan temel element olup; mikroalglerin bütün işlevsel ve yapısal proteinlerinin temel bileşenini oluşturur (Hu, 2008).

Tablo 1. Mikroalg kültürüne etki eden parametreler için geliştirilmiş değerler (Coutteau, 1996)

Parametreler	Aralık değerler	Optimum değerler
Sıcaklık (°C)	16-27	18-24
Tuzluluk (g/L)	12-40	20-24
Işık yoğunluğu (lux)	1,000-10,000 (hacim ve yoğunluğa bağlıdır)	2,500-5,000
Fotoperiyot (aydınlık:karanlık,saat)		16:8 (minimum) 24:0 (maksimum)
pH	7-9	8,2-8,7

Scenedesmus fizyolojik özellikleri

Biyoteknolojik çalışmalarda sıkça kullanılan Scenedesmus cinsi Chlorophyta (Yeşil Algler) bölümü, Chlorophyceae grubu ve Chlorococcales takımının bir üyesidir (Şekil 1). (Phinyo, 2017). *Scenedesmus* genel görünüşü mekik biçimindedir. Bazıları tek ve bazıları da 2, 4, 8 veya 16'lı hücrelerden oluşmaktadır. *Scenedesmus*'un temel formu dört hücreden oluşan basit bir koloni şeklindedir (Trainor, 1996). Her hücrede 1 kromatafor, 1 çekirdek ve 1 pirenoid bulunurken, hücrede göz ve kamçı yoktur.



Şekil 1. *Scenedesmus* spp. sınıflandırılması

Biyoteknolojik çalışmalar özellikle *Scenedesmus*, *Chlorella*, ve *Dunaliella* cinslerine ait türler üzerine yapılmaktadır (Ben-Amotz and Avron, 1983). Ayrıca *Scenedesmus* cinsi

üyeri indikatör organizma olarak limnolojik çalışmalar ile su yönetimi araştırmalarında da kullanılmaktadır. Scenedesmus herbivor zooplanktonlar için iyi bilinen yem kaynağı olduğu deneylerle kanıtlanmıştır (Demirel, 2006). Buna birlikte protein içeriğinin zenginliğinden dolayı gıda maddesi olarak da kullanılmaktadır (Borowitzka, 1991; Güner and Aysel, 2006).

Scenedesmus kültür ortamından direkt etkilenmektedir. Kültür ortamındaki değişimler Scenedesmus türlerinde fizyolojik ve morfolojik değişime neden olmaktadır. Örneğin; 1. Işıklı ortam ve azalan basınç altında H₂ oluştururken; karanlık ortamlarda organik maddeden H₂ ve CO₂ ürünlerini oluşturmaktadır. 2. Kültür ortamlarında azot, fosfor ve potasyum eksikliğinde sekonder karotenoidleri (ksantsantin, astaksantin) oluşmaktadır. 3. Jelatini sıvılaştırıcı ekstrasellüler proteazı serbest bırakmaktadır (Demirel, 2006). Bu çalışmada, farklı kültür ortamlarının Scenedesmus spp. biyokütlesine etkisi araştırılarak Scenedesmus spp. büyümesini arttıracak kültür ortamının belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Scenedesmus spp.

Hücre şekli oval-iđ, eliptik olup; hücre 3,5-9 µm eninde ve 7-21 µm boyundadır. Scenedesmus spp. 4 hücre uzun kenarlar

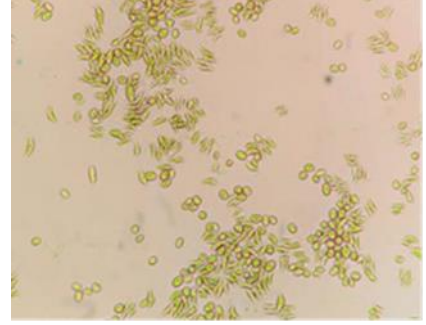
Table 2. Bold's Basal Medium (Andersen, 2005).

Bileşen	Stok solüsyonu (g/L saf su)	Kullanılan Miktar
NaNO ₃	25,00	10 mL
CaCl ₂ ·2H ₂ O	2,50	10 mL
MgSO ₄ ·7H ₂ O	7,50	10 mL
K ₂ HPO ₄	7,50	10 mL
KH ₂ PO ₄	17,50	10 mL
NaCl	2,50	10 mL
Alkaline EDTA Çözeltisi		1mL
EDTA	50,00	
KOH	31,00	
Asitlenmiş Demir Çözeltisi		1mL
FeSO ₄ ·7H ₂ O	4,98	
H ₂ SO ₄		
Boron Çözeltisi		1mL
H ₃ BO ₃	11,42	
İz Metal Solüsyon		1mL
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	8,82	
MnCl ₂ ·4H ₂ O	1,44	
MoO ₃	4,93	
CuSO ₄ ·5H ₂ O	1,57	
Co(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O	0,49	

Table 3. 3N-Bold Basal Medium (Andersen, 2005).

Bileşen	Stok Solüsyon (g/400mL saf su)	Kullanılan Miktar
NaNO ₃	10,00	30 mL
CaCl ₂ ·2H ₂ O	1	10 mL
MgSO ₄ ·7H ₂ O	3	10 mL
K ₂ HPO ₄	3	10 mL
KH ₂ PO ₄	7	10 mL
NaCl	1	10 mL

boyunca düzgünce yan yana gelmiştir. Scenedesmus spp. hücresinde 1 adet kromotofor, pirenoid ve çekirdek bulunur. Kamçı bulunmaz (Şekil 2).



Şekil 2. Scenedesmus spp.

Deney Ortamı

Bu çalışmada, Scenedesmus spp. dört farklı (BBM, 3N-BBM, WCM, BG-11 M) kültür ortamında yetiştirilmiştir. Kültür ortamlarına ilişkin bilgiler aşağıda sunulmuştur (Tablo 2, Tablo 3, Tablo 4, Tablo 5). Bütün kültür ortamları otoklavda sterilizasyon işlemine tabi tutulmuştur.

İz Metal Solüsyon		6 mL
Na ₂ EDTA·2H ₂ O	0,75	
FeCl ₃ ·6H ₂ O	0,097	
MnCl ₂ ·4H ₂ O	0,041	
ZnCl ₂ ·7H ₂ O	0,005	
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0,002	
Na ₂ MoO ₄ ·6H ₂ O	0,004	
Soilwater: GR+ Medium		40 mL
CaCO ₃	1	
Sera toprağı	2000	
Vitamin B12		1mL
HEPES tampon çözelti pH 7,8	2,4	
Cyanocobalamin	0,027	
Biotin Vitamin Solution		1mL
HEPES tampon çözelti pH 7,8	2,4	
Biotin	0,005	
Thiamine Vitamin Solüsyon		1mL
HEPES tampon çözelti pH 7,8	2,4	
Thiamine	0,067	

Tablo 4. WC Medium ([Andersen, 2005](#)).

Bileşen	Stok solüsyon (g/L saf su)	Kullanılan Miktar
Gliserin	-	500 mg
Tris	-	500 mg
NaNO₃	85,01	1 mL
CaCl₂ · 2H₂O	36,76	1 mL
MgSO₄ · 7H₂O	36,97	1 mL
NaHCO₃	12,60	1 mL
Na₂SiO₃ · 9H₂O	28,42	1 mL
K₂HPO₄	8,71	1 mL
İz Element Metal Solüsyon*		1 mL
Na ₂ EDTA · 2H ₂ O	-	4,36 g
FeCl ₃ · 6H ₂ O	-	3,15 g
CuSO ₄ · 5H ₂ O	10	1 mL
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	22	1 mL
CoCl ₂ · 6H ₂ O	10	1 mL
MnCl ₂ · 4H ₂ O	180	1 mL
Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	6	1 mL
H ₃ BO ₃	-	1 g
Vitamin Solüsyon*		1 mL
Thiamine · HCl (vitamin B1)	-	100 mg
Biotin (vitamin H)	0,5	1 mL
Cyanocobalamin (vitamin B12)	0,5	1 mL

Tablo 5. BG-11 Medium (Andersen, 2005).

Solüsyon	Stok solüsyonu (g/L saf su)	Kullanılan Miktar
Fe sitrat çözeltisi		1 ml
Sitrik asit	6	1ml
Ferrik Ammonium sitrat	6	1ml
NaNO₃	-	1,5 g
K₂HPO₄ · 3H₂O	40	1ml

MgSO ₄ · 7H ₂ O	75	1ml
CaCl ₂ · 2H ₂ O	36	1ml
Na ₂ CO ₃	20	1ml
MgNa ₂ EDTA · H ₂ O	1,0	1ml
İz Element Metal Solüsyon*		1ml
H ₃ BO ₃		2,860 g
MnCl ₂ · 4H ₂ O		1,810 g
ZnSO ₄ · 7H ₂ O		0,220 g
CuSO ₄ · 5H ₂ O	79	1 mL
Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O		0,391 g
Co(NO ₃) ₂ · 6H ₂ O	49,4	1 mL

Scenedesmus spp. Kültür Ortamı

Doğadan izole edilen *Scenedesmus* spp. ilk olarak 100 mL'lik erlenmayerlere alınarak 25 °C'de, 3200 lux aydınlatmalı ve 110 rpm'de inkübatörde (JRS Lab 32 marka) 16:8 saat gündüz-gece fotoperiyodunda gelişimi sağlanmıştır. Deneme Atatürk Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi'nde bulunan Alg Ünitesi'ndeki (Şekil 3) 250 mL'lik erlenmayerlere aktarılmıştır (Bold, 1949; Bischoff and Bold, 1963). Her bir grup 3'er tekerrürlü yapılmıştır. Deneme süresi olan 14 gün boyunca sadece CO₂ verilmiştir. Oda sıcaklığı Arçelik marka klima ile 25 °C'ye ayarlanmıştır. Aydınlatma için sıcak-soğuk beyaz floresan lambalar kullanılmıştır. Karıştırma işlemi hava motoruna bağlı hava taşlarının yardımı ile sağlanmıştır.



Şekil 3. Alg ünitesi fotoğrafı

Hücre Sayımı

Scenedesmus spp. hücre sayımında thoma lamı kullanılmış ve 1/3 oranında seyreltilmiş örnekler 14 gün boyunca her gün 2 tekrarlı olacak şekilde sayılmıştır. Thoma lamında ml'de bulunan hücre sayısının hesaplanmasında aşağıda gösterilen formülden yararlanılmıştır:

$$\text{Hücre sayısı (adet/ml)} = A \times SF \times 10000$$

Burada; A: 16 karede sayılan mikroorganizma sayısı, SF: Seyreltme Faktörü ve 1000 ise mm³'ün çevrilmesinde kullanılan sabit sayıdır.

Spesifik Büyüme Hızı (μ)

Scenedesmus spp.'nin spesifik büyüme hızı aşağıdaki formüllerden hesaplanmıştır (Eşitlik 1 ve Eşitlik 2).

Eşitlik 1 (Cirik and Gökpınar, 1999):

$$\mu = 1/(t_1 - t_0) \cdot (3,332) \cdot (\log X/X_0)$$

Burada; μ = Spesifik büyüme hızı (gün⁻¹)
 t_1 ve t_0 = Zaman birimi (gün)
 x ve x_0 = Hücre sayısı (adet/ml)

Eşitlik 2 (Duygu, 2019);

$$\mu = \ln(X_2 - \ln X_1)/t$$

Burada; μ : Spesifik büyüme hızı (gün⁻¹)
 X_1 ve X_2 : Hücre sayısı (adet/ml)
 t = Zaman birimi (gün)

Verilerin değerlendirilmesi

Analizden elde edilecek bulguların istatistiki açıdan önemlerinin değerlendirilmesinde IBM SPSS 20 Software programı kullanılmıştır. Gruplara bağlı değişimini incelemek için One-Way (ANOVA) kullanılmış olup; önemli olan gruplar arasındaki önem düzeyi DUNCAN testiyle karşılaştırılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada, Erzurum İl sınırları içerisindeki doğal ve yapay göllerden izole edilen *Scenedesmus* spp. gelişimine farklı kültür ortamlarının etkisi araştırılmıştır. Çalışma 14 gün boyunca devam etmiştir. Deneme grupları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0,05$). Bu çalışmada, 3N-BBM ortamı diğer kültür ortamları ile kıyaslandığında ortalama 355 adet/ml hücre sayısı ile en iyi gelişimin sağlandığı kültür ortamı olmuştur.

Bu kültür ortamını BG-11 kültür ortamı 180 adet/ml ile takip etmiştir. *Scenedesmus* spp. gelişimi en az WC kültür ortamında tespit edilmiştir (Tablo 6). *Scenedesmus* spp. pH'nın 6,4'de sabit tutulduğu, anaerobik olarak sindirilmiş mezbaha atık suyunda gelişimi araştırılmış ve yaz aylarında yetiştirilen alg kültürleri, kışın yetiştirilenlere göre 2,3-2,7 kat daha yüksek biyokütle verimliliğine sahip olduğunu bildirmişlerdir (Shayesteh et al., 2023).

Scenedesmus quadricauda'nın LC Oligo kültür ortamında biyokütle gelişimi araştırıldığı diğer bir çalışmada ise bu kültür ortamına ilk kullanımdan sonra ya nitrojen (N) ve fosfor (P) ya da ortam bileşimindeki tüm besin maddeleri eklenmiş; çalışma sonunda tüm besin maddelerinin eklendiği kültür ortamında hücre sayısında artış gözlemlendiğini saptamışlardır (Rocha et al., 2015).

Bu çalışmada 3N-BBM gelişimi en düşük gelişimin gözlemlendiği kültür ortamından yaklaşık 3 kat daha fazla biyokütle verimliliğine sahip olduğu bulunmuştur.

Tablo 6. *Scenedesmus* spp. hücre sayısının kültür ortamları ve güne bağlı değişimi (n=4)

Medium Gün	Hücre sayısı (adet/ml, 10 ⁴)			
	WC*	BBM	3N-BBM	BG-11
1	10 ^{Al**}	10 ^{Am}	10 ^{Am}	10 ^{Am}
2	12 ^{Cl}	11 ^{Dm}	20 ^{Bl}	46 ^{Al}
3	27 ^{Dk}	32 ^{Cl}	60 ^{Bk}	78 ^{Ak}
4	43 ^{Dh}	58 ^{Cj}	102 ^{Aj}	93 ^{Bı}
5	30 ^{Dj}	57 ^{Ck}	186 ^{Aı}	87 ^{Bj}
6	36 ^{Di}	79 ^{Cı}	342 ^{Ah}	120 ^{Bh}
7	52 ^{Dg}	91 ^{Ch}	390 ^{Ac}	189 ^{Bg}
8	85 ^{Df}	111 ^{Cg}	432 ^{Aa}	200 ^{Bf}
9	93 ^{De}	130 ^{Ce}	426 ^{Ab}	225 ^{Bc}
10	104 ^{Dd}	128 ^{Cf}	401 ^{Ac}	270 ^{Bd}
11	134 ^{Dc}	168 ^{Ca}	400 ^{Ad}	298 ^{Bb}
12	190 ^{Cb}	165 ^{Db}	390 ^{Ac}	296 ^{Bc}
13	192 ^{Ca}	160 ^{Dc}	370 ^{Ag}	296 ^{Bc}
14	189 ^{Cb}	156 ^{Dd}	375 ^{Af}	301 ^{Ba}

**A,B,C,D: Büyük harfler aynı gün içerisindeki kültür ortamları arasındaki farkı göstermektedir ve aynı satır içerisindeki farklı büyük harfi taşıyan kültür ortamları arasındaki fark istatistik olarak önemlidir (p<0,05).

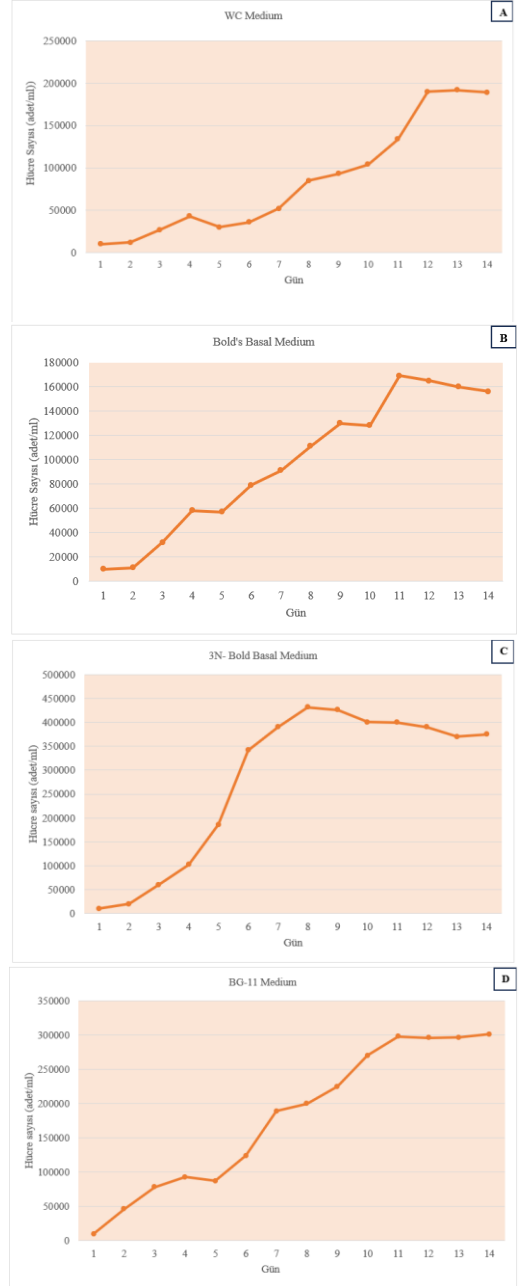
a, b,c,d,: Küçük harfler her bir kültür ortamı için günler arası farkı göstermektedir ve aynı sütundaki farklı küçük harf taşıyan günler arasındaki fark istatistik olarak önemlidir (p<0,05).

WC kültür ortamında geliştirilen *Scenedesmus* spp. hücrelerin sayımları ilk kez 24 saat sonunda thoma lamında mikroskop altında yapılmıştır. Sayımın 4. gününde hücre sayısı hızlı şekilde artmıştır ancak ilerleyen günlerde artış hızı daha yavaş şekilde olmuştur. 8. gününden sonra logaritmik bir artış gözlemlenmiştir. Maksimum hücre sayısına 12. günde (190 x10⁴ adet/ml) ulaşılmıştır. 12. günden sonra durağan fazda kalmıştır (Şekil 4).

BBM ortamında *Scenedesmus* spp. gelişimi 4. günden sonra başlamış; 6. günden 11. güne kadar doğrusal olarak artış göstermiştir. Maksimum hücre sayısına 11. günde (168 x 10⁴ adet/ml) ulaşılmıştır. 11. günden sonra durağan faza geçmiştir (Şekil 4).

Scenedesmus spp. gelişimi 3N-BBM ortamında en iyi sonucu vermiştir. Bu kültür ortamında lag fazı 4 gün sürmüştür. Log fazı hızlı ve yoğun gelişim göstererek 8. günde tamamlanmış ve en yüksek değere (430 x10⁴ adet/ml) ulaşılmıştır. Diğer günlerde her ne kadar artış ve azalışlar gösterse de durağan fazda kalmıştır (Şekil 4).

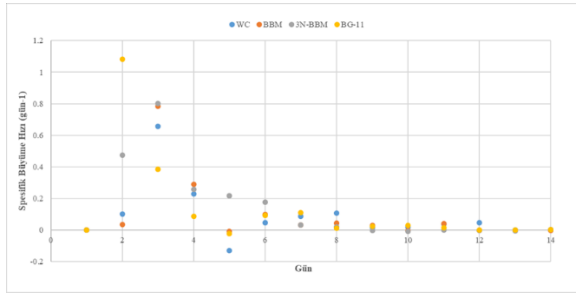
Araştırma periyodu boyunca ikinci iyi gelişimi sağlayan kültür ortamı BG-11 Medium'dur. Bu kültür ortamında lag fazı 1 gün sürmüş ve 2. Günden itibaren log fazına geçmiştir. Log fazı 11 gün sürmüş ve en yüksek hücre sayısı olan 300 X 10⁴ adet/ml değerine ulaşmıştır. Daha sonra durağan fazda deneme sonlandırılmıştır (Şekil 4). 3-NBBM kültür ortamı ile karşılaştırıldığında daha uzun süre gelişim olmasına rağmen hücre sayısı olarak bu besiyerinden 1,2 kat daha az gelişim tespit edilmiştir.



Şekil 4. Farklı kültür ortamlarında *Scenedesmus* spp. gelişim faz grafiği (A: WCM, B: BBM, C:3N-BBM, D:BG-11).

Scenedesmus spp. başta biyodizel çalışmaları (Matusanaga et al., 2009; Garcia-Moscoso et al., 2013; Yang et al., 2020) olmak üzere bir çok araştırmada en fazla kullanılan mikroalgdır. Bu çalışmalarda en önemli sorun *Scenedesmus* spp.'nin hücre gelişiminin sürdürülebilir olmasıdır. Bu nedenle farklı kültür koşulları denenmektedir (Mandal and Mallick, 2009; Baydaş, 2010; Xin et al., 2010; Xin et al., 2011; Ağırman, 2015; Liu, 2016; Çoban, 2019; Kar, 2019; Kurusakız, 2020; Özalin, 2020).

Bu araştırmada, *Scenedesmus* spp. spesifik büyüme hızı WC medium için 0,20 gün⁻¹, BBM için 0,19 gün⁻¹, 3N-BBM için 0,21 gün⁻¹ ve BG-11 medium için 0,12 gün⁻¹ olarak hesaplanmıştır (Tablo 7). *Scenedesmus* spp. uygulanan kültür ortamlarının spesifik büyüme hızına etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0,05). *Scenedesmus* spp.'nin günlere bağlı spesifik büyüme hızı değişimi şekil 5'de verilmiştir. WC, BBM ve BG-11 kültür ortamlarında 5. günde spesifik büyüme gerilemiş ve daha sonra tekrar artış tespit edilmiştir. 3N BBM ise devamlı bir artış saptanmış ancak 9. günden sonra negatif büyüme gözlemlenmiş olmasına rağmen günlük en yüksek spesifik büyüme hızına bu kültür ortamında rastlanılmıştır.



Şekil 5. *Scenedesmus* spp. spesifik büyüme hızının günlere bağlı değişimi.

Tablo 7. *Scenedesmus* spp. farklı kültür ortamlarının spesifik büyüme hızı, hücre sayıları (ORT±SD)

Besin Ortamı	Hücre sayısı (adet/ml, 10 ⁴)	Sapessifik Büyüme Hızı (saat ⁻¹)	
		0. gün	14. gün
WC	10,25±1,26	189,25±0,50	0,53
BBM	10,25±1,26	155,75±0,50	0,43
3N-BBM	10,25±1,26	374,75±0,50	1,09
BG-11	10,25±1,26	301±0,00	0,87

Duygu (2019) *Scenedesmus obliquus*'a 7 farklı kültür ortamı (Bold Wynne, Knop, Prat, Yagojinski, KANMW, KINMW, BENMW ve OBNMW) uygulaması yapmış kültür ortamlarının en büyük ve en küçük spesifik büyüme hızları sırasıyla 0,018 saat⁻¹ ve 0,007 saat⁻¹ olarak hesaplamışlardır.

Bu çalışmamızda en yüksek ve en düşük spesifik büyüme hızı 1,09 saat⁻¹ ve 0,43 saat⁻¹ olarak saptanmıştır. Kültür ortamlarında azot eklenmesinin aynı cins üzerindeki spesifik büyüme hızını arttırdığını söyleyebiliriz.

SONUÇ

Sonuç olarak *Scenedesmus* spp. hücre gelişimine kültür ortamındaki azot (N) oranının artırılmasının hücre sayısını pozitif yönde etki ettiği tespit edilmiştir. Deneme süresi boyunca hücre sayısının 3N-BBM kültür ortamında en fazla olduğu saptanmıştır. Mikroalgler ticari olarak birçok alanda kullanılmaktadır ve mikroalg kültürlerinde en önemli sorunlardan birisi düzenli ve hızlı gelişim göstermelerinin istenmesidir. Bu çalışma ile *Scenedesmus* spp. hücre gelişimi için en uygun kültür ortamı değerlendirilmiştir. Gelecekte bu çalışmaların farklı kültür ortam denemeleri ile devam etmesinin yanı sıra hem hücre gelişimini tetikleyen mekanizmaların ortaya konulması hem de hücre organellerindeki değişimi ortaya koyacak hücre genetiği çalışmalarının yapılması tavsiye edilmektedir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI:

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

KAYNAKLAR

- Ağırman, N. (2015). *Chlorella vulgaris* ve *Scenedesmus acutus*'un Gelişimi, Pigment Oluşumu, Lipit Ve Protein İçeriği Üzerine Farklı Stres Faktörlerinin Etkileri. Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Fırat Üniversitesi, Elazığ.
- Andersen, R.A. (2005). *Algal Culturing Techniques* (1). San Diego, ABD: Elsevier Science Publishing Co.
- Baydaş, F. (2010). Farklı İki Mikroalg (*Scenedesmus dimorphus* ve *Chlorella vulgaris*) ve Kuru Ekmek Mayası (*Saccharomyces cerevisiae*) ile Beslenen *Moina micrura* (Kurz, 1874)'nın Besin Alma Aktivitesinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Fırat Üniversitesi, Elazığ.
- Becker, E.W. (2013). *Microalgae for human and animal nutrition*. Handbook of microalgal culture: applied phycology and biotechnology, 461-503.
- Becker, E.W., (1995). *Microalgae: Biotechnology and Microbiology*. P: 293. Cambridge University Pres.
- Ben-Amotz, A., Avron, M. (1983). Accumulation of metabolites by halotolerant algae and its industrial potential. *Ann. Rev. Microbiol*, 37:95-119.
- Bischoff, H.W., Bold H.C. (1963). Filamentous and Colonial Soil Algae from Dauphin Island, Alabama. *Transactions of the American Microscopical Society*, 88(2), 240-246.

- Blair, M. F., Kokabian, B., & Gude, V. G. (2014). Light and growth medium effect on *Chlorella vulgaris* biomass production. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2(1), 665–674. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2013.11.005>.
- Blair, M.F., Kokabian, B., Gude, V.G. (2014). Light and growth medium effect on *Chlorella vulgaris* biomass production. *J. Environ. Chem. Eng.*, 2 (1), 665-674.
- Bold H.C. (1949). The Morphology of *Chlamydomonas chlamydogama*, Sp. Nov. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 76(2), 101-108.
- Borowitzka, L.J. (1991). Development of western biotechnology's algal β -carotene plant. *Bioresource technology*, 38(2-3), 251-252.
- Borowitzka, M. A. (1997). Microalgae for aquaculture: Opportunities and constraints. *Journal of Applied Phycology*, 9(5), 393–401. <https://doi.org/10.1023/A:1007921728300>.
- Brown, M. R., Jeffrey, S. W., Volkman, J. K., & Dunstan, G. A. (1997). Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture*, 151(1–4), 315–331. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(96\)01501-3](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(96)01501-3).
- Cirik, S. & Gökpinar, Ş. (1999). *Plankton Bilgisi ve Kültürü*. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi ders kitabı, Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova, İzmir.
- Çoban, A. (2019). Farklı Azot Kaynaklarının *Scenedesmus acutus* mey'nun Gelişimi, Lipit ve Protein Miktarı Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Fırat Üniversitesi, Elazığ.
- Del Campo, J. A., Moreno, J., Rodríguez, H., Angeles Vargas, M., Rivas, J., & Guerrero, M. G. (2000). Carotenoid content of chlorophycean microalgae: factors determining lutein accumulation in *Muriellopsis* sp. (Chlorophyta). *Journal of Biotechnology*, 76(1), 51–59. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(99\)00178-9](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(99)00178-9).
- Demirel, Z. (2006). Eğirdir Gölünden İzole Edilen Yeşil Mikroalg (Chlorophyta) *Scenedesmus protuberans* Fris.'in Antimikrobiyal ve Antioksidan Özelliğinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ege Üniversitesi, İzmir.
- Duygu, D. Y. (2019). Growth Kinetics of *Scenedesmus obliquus* strains in different nutrient media. *Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research*, 5(2), 95-103. <https://doi.org/10.17216/limnofish.514166>.
- Fabregas, J., Toribio, L., Abalde, J., Cabezas, B., Herrero, C. (1984). *Aquacultural Engineering Approach to biomass production of the marine microalga Tetraselmis suecica* (kylin) butch using common garden fertilizer and soil extract as cheap nutrient supply in batch cultures, 6(2):141-150.
- Garcia-Moscoco, J.L., Obeid, W., Kumar, S., Hatcher, P.G. (2013). Flash hydrolysis of microalgae (*Scenedesmus* sp.) for protein extraction and production of biofuels intermediates. *The Journal of Supercritical Fluids*, 82, 183-190.
- Guedes, A.C., Gião, M.S., Seabra, R., Ferreira, A.S., Tamagnini, P., Moradas-Ferreira, P., & Malcata, F.X. (2013). Evaluation of the antioxidant activity of cell extracts from microalgae. *Marine drugs*, 11(4), 1256-1270.
- Güner, H., Aysel A., (2006). *Tohumuz Bitkiler Sistematigi*. Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar serisi, no:108 VI. Baskı, 1.cilt, 117-120,
- Hu, Q., Sommerfeld M., Jarvis, E., Ghirardi, M., Posewitz, M., Seibert, M., Darzins, A. (2008). Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances. *Plant J*, 54(4):621-39.
- Jayasankar, R., & Polywal, K. (2000). Seasonal variation in the essential micro-nutrients of *Gracilaria* spp. of Tamil Nadu coast. *Indian Journal of Fisheries*, 47(4), 349-354.
- Jensen, G.S. (2001). Blue-green algae as an immunoenhancer and biomodulator. *J. Am. Nutraceutical Assoc.*, 3, 24-30.
- Juneja, A., Ceballos, R. M., & Murthy, G. S. (2013). Effects of environmental factors and nutrient availability on the biochemical composition of algae for biofuels production: A review. *Energies*, 6(9), 4607–4638.
- Kar, F. (2019). *Scenedesmus dimorphus* Biyofilm Kültürlerinde Azot Açlığının Lipid Üretimi Üzerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Dumlupınar Üniversitesi, Kütahya.
- Kurusakız, M. (2020). *Scenedesmus intermedius* ve *Scenedesmus planctonicus* Alg Türlerinde Azota Bağlı Lipit İçeriğindeki Değişimlerin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kırıkkale Üniversitesi, Kırıkkale.
- Liu, J., Qiu, W., Song, Y. (2016). Stimulatory effect of auxins on the growth and lipid productivity of *Lopez*, B. R., Palacios, O. A., Bashan, Y., Hernandez-Sandoval, F. E., De-Bashan L. E. (2019). Riboflavin and lumichrome exuded by the bacterium *Azospirillum brasilense* promote growth and changes in metabolites in *Chlorella sorokiniana*

- under autotrophic conditions. *Algal Research*, 44,1-8.
- Mandal, S., Mallick, N. (2009). Microalga *Scenedesmus obliquus* as a potential source for biodiesel production. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 84, 281-291.
- Matsunaga, T., Matsumoto, M., Maeda, Y., Sugiyama, H., Sato, R., Tanaka, T. 2009. Characterization of marine microalga, *Scenedesmus* sp. strain JPCC GA0024 toward biofuel production, *Biotechnology letters*, 31(9), 1367-1372.
- Mimouni, V., Ulmann, L., Pasquet, V., Mathieu, M., Picot, L., Bougaran, G., ... & Schoefs, B. (2012). The potential of microalgae for the production of bioactive molecules of pharmaceutical interest. *Current pharmaceutical biotechnology*, 13(15), 2733-2750.
- Özalm, G. (2020). *Scenedesmus regularis* ve *Scenedesmus obliquus* Alg Türlerinde Azota Bağlı Lipit İçeriğindeki Değişimlerin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kırıkkale Üniversitesi , Kırıkkale.
- P. Coutteau. (1996). "Micro-Algae," In: P. Lavens and P. Sorgeloos, Eds., *Manual on the Production and Use of Live Food for Aquaculture*, FAO Fisheries Technical Paper No. 361, Laboratory of Aquaculture & Artemia Reference Center, University of Gent, Belgium.
- Phinyo, K., Pekkoh, J., & Peerapornpisal, Y. (2017). Distribution and ecological habitat of *Scenedesmus* and related genera in some freshwater resources of Northern and North-Eastern Thailand. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 18(3), 1092-1099.
- Plaza, M., Cifuentes, A., & Ibáñez, E. (2008). In the search of new functional food ingredients from algae. *Trends in Food Science and Technology*, 19(1), 31–39.
- Rashid, N., Rehman, M. S. U., Memon, S., Ur Rahman, Z., Lee, K., & Han, J. I. (2013). Current status, barriers and developments in biohydrogen production by microalgae. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 22, 571–579.
- Richmond, A. (Ed.). (2004). *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology* (Vol. 577). Oxford: Blackwell science.
- Rocha, G.S., Pinto, F.H.V., Melão, M.G.G., & Lombardi, A.T. (2015). Growing *Scenedesmus quadricauda* in used culture media: is it viable?. *Journal of applied phycology*, 27, 171-178. <https://link.springer.com/article/10.1007/s10811-014-0320-8>.
- Shayesteh, H., Raeisossadati, M., Vadiveloo, A., Bahri, P.A., & Moheimani, N. R. (2023). Culture depth effect on *Scenedesmus* sp. growth, photo-physiology and nutrient removal rate in anaerobically digested abattoir effluent. *Journal of applied phycology*, 35(2), 567-580. <https://link.springer.com/article/10.1007/s10811-023-02915-2>.
- Shayesteh, H., Raeisossadati, M., Vadiveloo, A., Bahri, P.A., & Moheimani, N.R. (2023). Culture depth effect on *Scenedesmus* sp. growth, photo-physiology and nutrient removal rate in anaerobically digested abattoir effluent. *Journal of applied phycology*, 35(2), 567-580.
- Soletto, D., Binaghi, L., Lodi, A., Carvalho, J. C. M., & Converti, A. (2005). Batch and fed-batch cultivations of *Spirulina platensis* using ammonium sulphate and urea as nitrogen sources. *Aquaculture*, 243(1–4), 217–224.
- Stolz, P., & Obermayer, B. (2005). Manufacturing microalgae for skin care. *Cosmetic and toiletries*, 120(3), 99-106.
- Sukatar, A., (2002). *Alg Kültür Yöntemleri*. Ege Üni. Fen Fak. Kitapları Serisi No:184, syf: 104.
- Trainor, F. R. (1996). Reproduction in *Scenedesmus*. *Algae. The Korean Journal of Phycology*, 11(2), 183-201.
- Xin, L., Hong-Ying, H., Ke, G., Ying-Xue, S. (2010). Effects of different nitrogen and phosphorus concentrations on the growth, nutrient uptake, and lipid accumulation of a freshwater microalga *Scenedesmus* sp., *Bioresource Technology*, 101, 5494-5500.
- Xin, L., Hong-Ying, H., Yu-Ping, Z. (2011). Growth and lipid accumulation properties of a freshwater microalga *Scenedesmus* sp. under different cultivation temperature. *Bioresource Technology*, 102(3), 3098-3102.
- Xu, M., Bernards, M., & Hu, Z. (2014). Algae-facilitated chemical phosphorus removal during high-density *Chlorella emersonii* cultivation in a membrane bioreactor. *Bioresource technology*, 153, 383-387.
- Zhila, N.O, Kalacheva, G.S., Volova, T.G., (2011). Influence of nitrogen deficiency on biochemical composition of the green alga *Botryococcus*. *J Appl Phycol*, 17:309–315.
- Zhu, L. (2015). Biorefinery as a promising approach to promote microalgae industry: An innovative framework. *Renewable and sustainable energy reviews*, 41, 1376-1384.
- Badger, M.R., & Price, G.D. (1994). The role of carbonic anhydrase in

photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 45, 369-392.
<https://doi.org/10.1146/annurev.pp.45.060194.002101>.