

ANABAENA SP.'NİN PİGMENT İÇERİKLERİ ÜZERİNE GLUKOZUN ETKİSİ

Gülten Ökmen*, Onur Türkcan

Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Muğla

Geliş tarihi / Received: 17.12.2012

Düzeltilerek Geliş tarihi / Received in revised form: 10.03.2013

Kabul tarihi / Accepted: 08.04.2013

Özet

Gıda için doğal renklendiriciler, yenilenebilir kaynaklardan yapılmaktadırlar. Renklendiriciler genellikle mikroorganizmalardan ekstrakte edilmektedirler, ancak bitki materyali, böcek, algler, siyanobakteriler ve funguslar gibi diğer kaynaklar da kullanılmaktadır. Karbon ve azot siyanobakterilerde pigmentleri etkileyen en önemli çevresel faktörlerdendir. Glukoz, enerji ve metabolizma düzenleyici bir kaynak olmasının yanı sıra, hücrelerde ki klorofil-a, fikosiyenin, allofikosiyenin ve β -karoten gibi pigment içeriklerini de farklı olarak etkilemektedir. Mevcut araştırmada farklı glukoz konsantrasyonlarının (10- 320 mM) *Anabaena* sp.'nin klorofil-a, fikosiyenin, allofikosiyenin ve β -karoten içerikleri üzerine etkilerini araştırmayı amaçlamıştır. Maksimum pigment içerikleri 10 mM glukoz konsantrasyonunda saptanmıştır. Ancak, 40 mM'dan yüksek glukoz konsantrasyonlarında, bu türün pigment içerikleri ciddi bir şekilde azaltılmıştır. *Anabaena* sp. GO10, 60 mM ve daha yüksek glukoz konsantrasyonları tarafından tamamen baskılanmıştır. Bu araştırmada, glukozun, pigment üretimi için karbon kaynağı olarak kullanıldığı gösterilmiştir. Günümüze kadar yapılan çalışmalarda, siyanobakterilerin pigmentleri üzerine glukozun etkisine yönelik çok az sayıda bilgi bulunmaktadır.

Anahtar kelimeler: *Anabaena*, klorofil, fikosiyenin, allofikosiyenin, β -karoten, glukoz

THE EFFECT OF GLUCOSE ON PIGMENT CONTENTS OF ANABAENA SP.

Abstract

Natural colorants for food are made from renewable sources. Most often, the colorants are extracted from microorganisms, but other sources such as plant material, insects, algae, cyanobacteria and fungi are used as well. Carbon and nitrogen are the most significant environmental factors influencing the pigments in cyanobacteria. Glucose, a source of energy and a metabolism regulator, differently affected the pigment contents, chlorophyll-a, phycocyanin, allophycocyanin and β - caroten in the cells. The present study aimed to investigate the effects of various glucose concentrations (10-320 mM) on biomass, chlorophyll-a, phycocyanin, allophycocyanin and β - caroten, of *Anabaena* sp. The maximum pigment contents were estimated at 10 mM glucose concentration. But, in the high concentrations of glucose are more than 40 mM, biomasses and pigment contents of this strain were severely reduced. *Anabaena* sp. GO10 was completely suppressed by 60 mM and higher glucose concentrations. In this study show that, glucose use as carbon source for pigment production. There has been little information published on glucose applications of *Cyanobacteriae* pigments.

Keywords: *Anabaena*; chlorophyll, phycocyanin, allophycocyanin, β - carotene, glucose

*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ gultenokmen@gmail.com,

☎ (+90) 252 211 1676,

☎ (+90) 252 211 1472

GİRİŞ

Gıda endüstrisinde en önemli hedef, çekici görünüme sahip gıdaların geliştirilmesidir. Gıda endüstrisinde katkı maddesi olarak gıda renklendiricilerinin kullanımı, gıda üreticileri ve tüketicilerinin her ikisi için de işlenmiş gıdanın kabul edilebilirliğini belirlemede son derece yararlıdır (1, 2). Rengin gıdalara ilave edilmesinin farklı nedenleri bulunmaktadır. Bunlar; işlem sırasında kaybolan rengi gıdaya tekrar vermek, mevcut olan gıda rengini artırmak, renksiz gıdayı renklendirmek veya besin ile gıda takviyesi yapmak içindir (3). En yaygın olarak kullanılan gıda sınıfı pigmentler nitrit ve nitrat tuzları içeren kimyasal bileşiklerdir (4). Çevreye yönelik sentetik kökenli pigmentlerin neden olduğu toksisite problemleri, doğal pigmentlere olan ilgiyi artırmıştır (5). Bu sentetik bileşiklerin karsinogenik ve teratojenik etkileri olduğu rapor edilmiştir. Dolayısı ile bu, bitkiler ve mikroorganizmalar gibi biyolojik kökenli pigmentlerin üretimine artan ilginin en büyük nedenlerinden biridir (6).

Doğal pigmentler, bitkiler ve mikroorganizmalar olmak üzere iki ana kaynaktan sağlanabilir. Bunlar arasında, mikrobiyel kaynaklardan elde edilen pigmentler sentetik pigmentlere karşı potansiyel olarak iyi bir alternatiftirler. Mikroorganizmalardan pigment üretiminin avantajları, ucuz kültür ortamında kolay ve hızlı büyümeleri, hava şartlarından bağımsızlığı ve farklı tondaki renkleri kapsamalarıdır (7-14).

Mikroorganizmalar karotenoitler, melaninler, flavinler, kinonlar, prodigiosinler ve daha özel monascinerler, violacein veya indigo gibi farklı pigmentler üretmektedir (15). Günümüz endüstrisi, gıda ve diğer sanayi uygulamaları için bazı mikrobiyel pigmentleri üretebilmektedir (5). Doğal biyorenlendiricilerin birçoğu mikrobiyel bozulmadan gıdayı korumak için belli bakterilere, virüslere ve mantarlara karşı antagonistik aktivite göstermektedir (16). Bazı protozoa ve böceklerle karşı da aktiftir (17).

Siyanobakteriler sadece klorofil *a* 'ya sahiptir, bundan başka diğer fotosentetik pigmentleri ise çeşitli fikobiliproteinler ve karotenoitlerdir (18, 19). Klorofil özellikle reçel, jöle, şeker, dondurma ve diğer çeşitli ürünlerde kullanılmakta, ancak renklendirici olarak sınırlı kullanımı bulunmaktadır (3).

Fikosiyenin, Japonya ve Çin'de sakız, şeker, süt ürünleri, reçel, dondurma, alkolsüz içecekler gibi gıda ürünlerinde ve ayrıca kozmetikte doğal renklendirici olarak kullanılmaktadır (20). Son yıllarda yapılan bir çalışmada, fikosiyenin gardenya ve indigodan daha parlak mavi bir renklendirici olarak kabul edilmiş, jöle, sakız ve kaplamalı yumuşak şekerlerde parlak mavi rengi sağlamak amacı ile kullanıldığı bildirilmiştir (21). Bundan başka fikosiyenin çeşitli farmakolojik özellikleri de saptanmıştır (22-24).

Karotenoit, bitki ve mikroorganizmalarda yaygın olarak bulunan bir organik pigmenttir. Karotenoitler doğal gıda renklendiricisi ya da akuakültürde yem katkı maddeleri olarak kullanılmaktadır (25). β -karoten, vazgeçilmez bir besin ve doğal bir gıda renk maddesi olarak pazarda yüksek talebe sahiptir, bunun dışında kozmetiklere katkı maddesi ve aynı zamanda sağlıklı bir gıda olarak ta hizmet veren bir pigmenttir (26). Karotenoitlerin yoğun ışıktan korunmak ve gıdanın kalitesini güneşten korumak için filtre olarak hareket ettiği bilinmektedir. Çeşitli alglerin (*Dunaliella*, *Dictyococcus* ve *Haematococcus*), bakterilerin (*Halobacteria* ve *Eubacteria*'nın pek çok türleri), bazı filamentli mantarların (*Ascomycetes*) ve mayaların (*Cryptococcus*, *Phaffia*, *Rhodospiridium*, *Rhodotorula*, *Sporidiobolus* ve *Sporobolomyces*) karotenoit ürettikleri rapor edilmiştir (15, 27- 31).

Pigmentin rengi kültür koşulları, pH değeri ile substrat içindeki karbon ve azot kaynakları tarafından etkilenmektedir (32, 33). Bu çalışmada, karbon kaynağı olarak glukozun siyanobakteriyel klorofil-a, β -karoten, fikosiyenin ve allofikosiyenin içerikleri üzerine etkileri incelenmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Test Organizması ve Kültivasyon

Test edilecek siyanobakteriyel kültür Dr. Gülten Ökmen'in (Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Türkiye) önceki çalışmalarından elde edilmiş olup, *Anabaena* sp. GO10'dur. Stok kültür daha önce tarif edildiği gibi azotsuz BG- 11 ortamında geliştirilmiştir (34). Sıcaklık 25 ± 2 °C'de tutulmuş ve kültür beyaz ışık altında geliştirilmiştir. Logaritmik gelişme fazındaki kültürler deneyler için inokulum olarak kullanılmıştır. Deneyler 25 ml'lik saydam deney şişeleri içinde 10 ml ortam

inoküle edilmiş olarak, kesikli kültürlerde üretilmiştir. Kültür ortamı 1 N NaOH ve 1 N HCl ile pH 8'e ayarlanmıştır. Aydınlatma 600 lüks beyaz ışık ile sağlanmıştır (20, 35).

Glukozun Pigment İçerikleri Üzerine Etkisi

Klorofil-a, β -karoten, fikosiyenin ve allofikosiyenin içerikleri üzerine glukozun farklı konsantrasyonlarının (10-320 mM) etkisi *Anabaena* sp. GO10 üzerinde denenmiştir. Deneysel kültürler aşağıda tarif edildiği gibi aynı koşullar altında 10 ml azotsuz BG- 11 ortamı içeren 25 ml saydam deney şişeleri içinde geliştirilmiştir. Rippka (35)'ya göre, kültürler 25 ± 2 °C'de steril bir sıvı ortam içinde, 30 gün süre ile beyaz ışık (600 lüks) altında geliştirilmiştir. Otuz günlük inkübasyon süresi sonunda, kültürlerin klorofil-a, β -karoten, fikosiyenin ve allofikosiyenin içerikleri aşağıda tarif edilen teknikler ile saptanmıştır. Uygun kontrol sistemleri her bir deneyde glukoz içermeyenleri kapsamıştır. Kontrol ve uygulama kültürleri yukarıda da belirtildiği gibi aynı sıcaklık ve ışık yoğunluğu altında inkübasyona bırakılmıştır. Tüm deneyler üç paralel halinde çalışılmış ve ortalama değerleri verilmiştir.

Kuru Ağırlığın Saptanması

Santrifüj edilmiş kültürlerin peletleri damıtık su ile üç kez yıkanmış, daha sonra 70 °C'de 12h sabit ağırlığa kadar kurutulmuş ve kuru ağırlıkları ölçülmüştür (34, 36).

Klorofil-a İçeriğinin Saptanması

Klorofil *a* tayini, Porra ve diğerleri (37) tarafından tavsiye edilen spektrofotometrik yöntem (Shimadzu UV-1201V, Japonya) ile belirlenmiştir.

Klorofil *a* içerikleri ıslak ağırlıklar üzerinden hesaplanmıştır. Tüm pigment ekstraksiyonu hiçbir pigment kalmayınca kadar tekrarlanmıştır.

β -Karoten İçeriğinin Saptanması

β - karoten içeriklerini saptamak için, santrifüj edilmiş kültürlerin peletleri 4 °C'de 4 ml saf metanol ile homojenize edildikten sonra ultrasonikatörde parçalanmış ve daha sonra 24 saat boyunca karanlıkta inkübe edilmiştir. Hücre özütleri daha sonra, hücre tortularını uzaklaştırmak için 20.000xg'de 30 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Karoten içerikleri heptan köre karşı 436 nm'de spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir. Elde edilen değerler Anonim'e (38) göre hesaplanmıştır. β -karoten içerikleri kuru ağırlıklar üzerinden hesaplanmıştır. Tüm pigment ekstraksiyonu hiçbir pigment kalmayınca kadar tekrarlanmıştır.

Fikosiyenin ve Allofikosiyenin İçeriklerinin Saptanması

Saptama için Boussiba ve Richmond (39) tarafından önerilen spektrofotometrik yöntem kullanılmıştır. Örnekler santrifüj edilmiş, ultrasonikatörde parçalanmış ve pigment içerikleri süpernatant içinde tayin edilmiştir. Fikosiyenin 615 nm ve allofikosiyenin 652 nm'de ölçülmüştür. Ekstraktlarda ki pigment miktarları denklemler kullanılarak 615 ve 652 nm'de absorbansın ölçümünden hesaplanmıştır. Fikosiyenin ve allofikosiyenin içerikleri kuru ağırlıklar üzerinden hesaplanmıştır. Tüm pigment ekstraksiyonu hiçbir pigment kalmayınca kadar tekrarlanmıştır.

Çizelge 1. *Anabaena* sp.'nin klorofil a, fikosiyenin ve allofikosiyenin içerikleri üzerine glukozun etkileri
Table 1. The effects of glucose on chlorophyll a, phycocyanin and allophycocyanin contents of *Anabaena* sp.

Konsantrasyon Concentration (mM)	Klorofil a içeriği Chlorophyll a Content (mg/ml)	Fikosiyenin içeriği Phycocyanin content (mg/ml)	Allofikosiyenin içeriği Allophycocyanin content (mg/ml)
Kontrol Control	0.005 \pm 0.0002	0.009 \pm 0.0004	0.032 \pm 0.001
10	0.006 \pm 0.0001	0.012 \pm 0.0001	0.045 \pm 0.0004
20	0.006 \pm 0.0002	0.011 \pm 0.0003	0.040 \pm 0.001
40	0.003 \pm 0.0002	0.005 \pm 0.0004	0.017 \pm 0.001
60	(-)	(-)	(-)
160	(-)	(-)	(-)
320	(-)	(-)	(-)

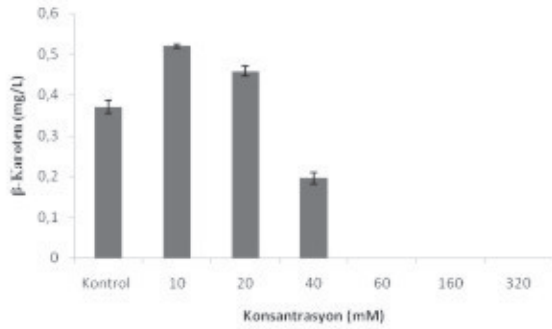
(-): Gelişme yok
No growth

İstatistiksel Analizler

Tüm deneyler, 3 tekrarlı yapılmıştır. Bu çalışmada sunulan veriler ortalama \pm standart sapma (SD) şeklinde kayıt altına alınmıştır.

SONUÇLAR

Bu çalışmada, bir siyanobakteri çalışılmış ve *Anabaena* sp. GO10'un pigment içerikleri üzerine glukozun farklı konsantrasyonlarının etkileri araştırılmıştır. *Anabaena* sp. GO10 farklı glukoz konsantrasyonları varlığında kültive edildiğinde, pigment içerikleri üzerinde belirgin etki görülmüştür (Şekil 1 ve Çizelge 1).



Şekil 1. *Anabaena* sp.'in β - karoten içerikleri üzerine glukozun etkileri
Figure 1. The effects of glucose on β - caroten contents of *Anabaena* sp.

Çalışmada, maksimum pigment içerikleri 10 mM glukoz konsantrasyonunda saptanmıştır. *Anabaena* sp. GO10'un pigment içeriklerinin tümü başlangıç glukoz konsantrasyonunda (10 mM) stimüle olmuş, ancak artan glukoz konsantrasyonlarından baskılanarak etkilenmiştir. Bu çalışmada kültürün pigment içerikleri 20 mM glukoz konsantrasyonuna kadar kısmen inhibe olmuş, ancak 60 mM glukoz konsantrasyonunda tamamen baskılanma gözlenmiştir (Şekil 1, Çizelge 1).

TARTIŞMA

Azot fikse eden siyanobakterilerin sel basmış çeltik alanlarında baskın cins oldukları ve azot fikse etmede yardımcı olduğu bilinmektedir (40-42). Pigmentin büyük miktarlarda sentezlenmesi için bakterilerin potansiyelini artırmak amacı ile farklı

ortamların karşılaştırılması, sıcaklığın rolü, farklı ortamda organizmanın gelişiminin rolü ve pigment üretiminin çalışılması gerekmektedir (43). Bu nedenle siyanobakterilerin büyüme ve metabolizmasını etkileyen çevresel faktörlerin çalışılması gerekmektedir çünkü belli biyosentetik ürünlerin optimizasyonu ve hücre metabolizmasının kontrolü ancak bu şekilde sağlanabilmektedir. Siyanobakterilere karbon kaynaklarının etkisi ile ilgili bilgi, özellikle glukoz için eksiktir. Bu nedenle glukoz bu çalışma için seçilmiştir.

Çalışmada, *Anabaena* sp. GO10'un tüm pigment içerikleri başlangıç glukoz (10 mM) konsantrasyonunda stimüle olmuş, ancak bu türün pigment içerikleri artan glukoz konsantrasyonları tarafından baskılanmıştır (Şekil1, Çizelge 1). Önceki çalışmalar göstermiştir ki, siklodekstrin *Serratia marcescens* ATCC 21639'un prodigiosin üretimini stimüle etmiştir (44). Ayrıca, dulcitol ve laktoz Nima suşu tarafından prodigiosin üretimi için iyi bir karbon kaynağı olarak rapor edilmiştir (45). Bir başka çalışmada, farklı karbon kaynaklarına karşı test organizmasının yanıtı araştırılmış ve ilginç sonuçlar ortaya konmuştur. Bu çalışmada, test organizmasının gelişimi önemli ölçüde sukroz ile uyarılmıştır (46). Literatüre göre, aktinomisetlerin organik bileşiklerin geri dönüşümünü ve bozunmasını sağladığı ve aynı zamanda farklı karbon kaynaklarının *Streptomyces* tarafından melanin üretimi için kullanıldığı ileri sürülmüştür (47). *Chlorella*'nın fotoheterotrofik kültüründe, PSII inaktivasyonu benzer bir şekilde meydana gelmiştir (48). Glukoz tarafından fotosentezin inhibisyonu için en muhtemel nedenin PSI'e solunum zincirinden elektron transferi olduğuna inanılmakta ki bu da PSII'den elektron akışını azaltmaktadır. Siyanobakterilerde glukozun çeşitli etkilerini ayırmak özellikle zordur çünkü fotosentez yapan organizmalarda, fotosentez ve solunum elektron taşıma zincirinin ortak bölgelerine sahiptir (49).

Anabaena sp. GO10'un tüm pigment içerikleri 60 mM glukoz konsantrasyonunda tamamen baskılanmıştır (Şekil 1, Çizelge 1). Oller (50), glukoz ve sorbitolün prodigiosin sentezi üzerinde baskılayıcı bir etkisi olduğunu bildirmiştir. Martin ve Demain (51), antibiyotik üretimi için bir karbon kaynağı olarak polisakkarid veya oligosakaritin glukozdan daha iyi olduğunu rapor etmişlerdir. Özellikle,

glukozun prodigiosin üretimini inhibe ettiği galaktozun ise etmediğini bildirmişlerdir. Ayrıca glukoz içeren bir ortamda, bakteriler glukoz-6-fosfat dehidrojenaz alloenzimini (G6PD) üretebilir, bu enzim pigment üretimini inhibe etmektedir (52).

Bu çalışmadan elde edilen veriler, *Anabaena* sp. GO10'un gelişimleri ve pigment içerikleri üzerine glukozun hem inhibitör hem de uyarıcı etkisi hakkında bilgi vermektedir. Çalışmada büyüme ve pigmentasyon üzerine glukozun etkileri incelenmiş ve optimum aralığı belirlenmiştir. BG-11 ortamı içinde gelişim ve pigmentasyon için en uygun glukoz konsantrasyonu 10 mM olarak tespit edilmiştir, bu yüzden gıda sınıfı pigmentler için uygun bir cins olabileceği düşünülmüştür. Pigment içerikleri üzerine karbon kaynaklarının etkisinin daha iyi anlaşılması için, siyanobakterilerde karbon kaynaklarının biyokimyasal hedeflerinin daha fazla çalışılmasına ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

- Spears K. 1988. Developments in food colourings: the natural alternatives. *Trends Biotechnol*, 6, 283-288.
- Griffiths JC. 2005. Coloring Food and beverages. *Food Technol*, 59 (5), 38-44.
- Mortensen A. 2006. Carotenoids and other pigments as natural Colorants. *Pure Appl Chem*, 78 (8), 1477-1491.
- Subhasree RS, Dinesh Babu P, Vidyalakshmi R, Chandra Mohan V. 2011. Effect of Carbon and Nitrogen Sources on Stimulation of Pigment Production by *Monascus purpureus* on Jackfruit Seeds. *Int J Microbiol Res*, 2 (2), 184-187.
- Venil CK, Lakshmanaperumalsamy P. 2009. An Insightful Overview on Microbial Pigment, Prodigiosin. *Electron J Biol*, 5(3), 49-61.
- Jozlova P, Martinkova L, Vesely D. 1994. Biological activity of polyketide pigments produced by the fungus *Monascus*. *J Appl Microbiol*, 79, 609-616.
- Mizukami H, Konoshima M, Tabata M. 1978. Variation in pigment production in *Lithospermum erythrorhizon* callus cultures. *Phytochemistry*, 17, 95-97.
- Papageorgiou VP, Winkler A, Sagredos AN, Digenis GA. 1979. Studies on the relationship of structure to antimicrobial properties of naphthoquinones and other constituents of *Alkanna tinctoria*. *Planta Med*, 35, 56-60.
- Cross BE, Edinberry MN. 1972. Pigments of *Gnomonia erythrostoma*. Part I. The structures of erythrostominone, deoxyerythrostominone, and deoxyerythrostominol. *J Chem Soc (Perkin)*, I, 3, 380-390.
- Ryu BH, Park BG, Chi YE, Lee JH. 1989. Production of purplish-red pigment in mixed culture of *Streptomyces propurpuratus* ATCC 21630 and *Bacillus* sp R-89. *Korean J Appl Microbiol Bioeng*, 17, 327-333.
- Parisot D, Devys M, Barbier M. 1990. Naphthoquinone pigments related to fusarubin from the fungus *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. *Microbios*, 64, 31- 47.
- Yongsmith B, Krairak S, Bavavoda R. 1994. Production of yellow pigments in submerged culture of a mutant of *Monascus* sp. *J Ferment Bioeng*, 78, 223-228.
- Kim CH, Kim SW, Hong SI. 1998. Production of red pigment by *Serratia* sp. KH-95 and its cultural properties. *Korean J Biotechnol Bioeng*, 13, 431-437.
- Cho YJ, Park JP, Hwang HJ, Kim SW, Choi JW, Yun JW. 2002. Production of red pigment by submerged culture of *Paecilomyces sinclairii*. *Lett Appl Microbiol*, 35, 195-202.
- Dufossé L. 2009. Microbial Pigments. In: *Encyclopedia of Microbiology, Schaechter M (chief ed), Volume 3*, pp. 457-471.
- Bridle P, Timberlake CF. 1997. Anthocyanins as natural food colours-selected aspects. *Food Chem*, 58(1-2), 103-109.
- Chattopadhyay P, Chatterjee S, Sen SK. 2008. Biotechnological potential of natural food grade biocolorants. *African J Biotechnol*, 7 (17), 2972-2985.

18. Fay P. 1983. The Blue Greens. In: *The Institute of Biology's Studies in Biology*, Arnold E (chief ed), London, pp. 490-830.
19. Fogg GE, Stewart WDP, Fay P, Walsby AE. 1973. Culture, nutrition and growth. In: *The Blue Green Algae*, Academic Press, London, New-York, pp 129-142.
20. Sekar S, Chandramohan M. 2008. Phycobiliproteins as a commodity: trends in applied research, patents and commercialization. *J Appl Phycol*, 20, 113-136.
21. Jespersen L, Stromdahl LD, Olsen K, Skibsted LH. 2005. Heat and light stability of three natural blue colorants for use in confectionery and beverages. *European Food Res Technol*, 220, 261-266.
22. Bhat VB, Madyastha KM. 2000. C-Phycocyanin: a potent peroxy radical scavenger *in vivo* and *in vitro*. *Biochem Biophys Res Commun*, 275, 20-25.
23. Romay CH, Gonzalez R, Ledon N, Ramirez D, Rimbau V. 2003. Phycocyanin: a biliprotein with antioxidant, anti-inflammatory and neuroprotective effects. *Curr Protein Pept Sci*, 4, 207-216.
24. Benedetti S, Benvenuti F, Pagliarani S, Francogli S, Scoglio S, Canestrari F. 2004. Antioxidant properties of a novel phycocyanin extract from the blue-green alga *Aphanizomenon flos-aquae*. *Life Sci*, 55, 2353-2362.
25. Benemann JR. 1992. Microalgae aquaculture feeds. *J Appl Phycol*, 4, 233-245.
26. Raja R, Hemaiswarya S, Rengasamy R. 2007. Exploitation of *Dunaliella* for β - carotene production. *Appl Microbiol Biotechnol*, 74, 517-523.
27. Ninet L, Renaut J. 1979. Carotenoids. In: *Microbial Technology*, Pappler HJ (chief ed), Volume 1, Academic Press, New York, pp. 529-544.
28. Goodwin TW. 1980. Fungi. In: *The Biochemistry of the Carotenoids, Plants*, Goodwin TW (chief ed), Volume 1, Chapman and Hall, London, pp. 257-290.
29. Johnson EA, Schroeder WA. 1995. Microbial Carotenoids. In: *Advances Biochemical Engineering Biotechnology*, Fiecher A (chief ed), Volume 53, Springer-Verlag, Heidelberg, pp. 119-178.
30. Oren A. 2005. Review: A Hundred Years of *Dunaliella* Research 1905-2005. *Saline Systems*, 1(2), 1-14.
31. Aksu Z, Eren AT. 2007. Production of Carotenoids by Isolated Yeast of *Rhodotorula glutinis*. *Biochem Eng J*, 35(2), 107-113.
32. Kunz B, Ober P. 1987. *Monascus* fermentate: a new dietetic raw material. *Bioeng*, 3, 18-26.
33. Danuri H. 2008. Optimizing Angkak pigments and lovastatin production by *Monascus purpureus*. *Hayati J Biosci*, 15(2), 61-66.
34. Castenholz RW. 1988. Culturing methods for cyanobacteria. *Methods Enzymol*, 167, 68-93.
35. Rippka R. 1988. Isolation and purification of cyanobacteria. *Methods Enzymol*, 167, 3-27.
36. Cappuccino JG, Sherman N. 2001. Microbiology A Laboratory Manual. Sixth Edition, Benjamin Cummings, S. Francisco, pp 119.
37. Porra RJ, Thompson WA, Kriedemann PE. 1989. Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls *a* and *b* extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standarts by atomic absorption spectroscopy. *Biochim Biophys Acta*, 975, 384-394.
38. Anonim 2002. Analysis of Beta-Carotene and Total Carotenoids from *Spirulina*. *Spirulina Pacifica Technical Bulletin#003b*. Cyanotech Corporation, 23 January 2002.
39. Boussiba S, Richmond AE. 1979. Isolation and characterization of phycocyanin from the blue-green alga *Spirulina platensis*. *Arch Microbiol*, 120, 155-159.
40. Singh RN. 1961. The role of blue-green algae in nitrogen economy of Indian Agriculture. *Indian Council Agr Res*, New Delhi, pp 175.
41. Stewart WDP. 1967. Transfer of biologically fixed nitrogen in sand dune slack region. *Nature*, 214, 603-604.
42. Henriksson E, Henriksson LE, DaSilva EJ. 1975. A comparison of nitrogen fixation by algae of temperate and tropical soils. In: *Nitrogen fixation by free-living microorganisms*, Stewart WDP (chief ed), Volume 6, Cambridge Univ. Press, pp. 36-49.

43. Gurpreet KC, Balmeet SG. 2011. Production and Characterization of Microbial Carotenoids as an Alternative to Synthetic Colors: a Review, *Int J Food Properties*, 14(11), 503-513.
44. Bar R, Rokem JS. 1990. Cyclodextrin-stimulated fermentation of prodigiosin by *Serratia marcescens*. *Biotechnol Lett*, 12, 447-448.
45. Sole M, Francia A, Rius N, Loren JG. 1997. The role of pH in the glucose effect on prodigiosin production by non-proliferating cells of *Serratia marcescens*. *Lett Appl Microbiol*, 25, 81-84.
46. Khanafari A, Khavarinejad D, Mashinchian A. 2010. Solar salt lake as natural environmental source for extraction halophilic pigments. *Iranian J Microbiol*, 2(2), 103-109.
47. Sunanda K, Uma K, Apparao A. 2009. Characterization of marine *Streptomyces* from Visakhapatnam coast. *Drug Invention Today*, 1(2), 78-80.
48. Chemeris YK, O'Jon H, Venediktov PS. 1992. Inactivation of Photosystem II during Heterotrophic Growth of *Chlorella* Initiated by Glucose Metabolites. *Sov Plant Physiol*, 39, 421-427.
49. Schreiber U, Endo T, Mi HL, Asada K. 1995. Quenching Analysis of Chlorophyll Fluorescence by the Saturation Pulse Method: Particular Aspects Relating to the Study of Eukaryotic Algae and Cyanobacteria. *Plant Cell Physiol*, 36, 873-882.
50. Oller AR. 2005. Media effects of sugars on pigmentation and antibiotic susceptibility in *Serratia marcescens*. *Sci Technol*, 2, 243-246.
51. Martin JF, Demain AL. 1980. Control of antibiotic biosynthesis. *Microbiol Rev*, 44, 230-251.
52. Gargallo D, Loren JG, Guinea J, Vinas M. 1987. Glucose-6-phosphate dehydrogenase alloenzymes and their relationship to pigmentation in *Serratia marcescens*. *Appl Environ Microbiol*, 53, 1983-1986