



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



Yüksek Lisans Tezi

***Scenedesmus obliquus* MİKROALGININ GELİŞİMİNDE
STRİGOLAKTON HORMONUNUN OLASI ETKİLERİ**

Seran KIRKINCI

Biyoloji Anabilim Dalı

Botanik Programı

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Gülriz BAYÇU KAHYAOĞLU**

Ağustos, 2021

İSTANBUL

Bu çalışma, 5.08.2021 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı, Botanik Programında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

Prof. Dr. **Gölriz BAYÇU KAHYAOĞLU**(Danışman)
İstanbul Üniversitesi
Fen Faköltesi

Prof. Dr. Gül CEVAHİR ÖZ
İstanbul Üniversitesi
Fen Faköltesi

Prof. Dr. Şener AKINCI
Marmara Üniversitesi
Fen-Edebiyat Faköltesi

İntihal Programı Beyanı

20.04.2016 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, İstanbul Üniversitesi’nin aboneli olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Fen Bilimleri Enstitüsü’nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.

Proje Destekleri

Bu tez, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin 34608 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

Tezden Üretilmiş Yayınların Künye Bilgileri

--

ÖNSÖZ

Tez çalışmalarımı yönlendiren, araştırmalarımnda bilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyerek akademik alanda yetişmeme ve gelişmeme katkıda bulunan sevgili danışman hocam Prof. Dr. Gülriz BAYÇU KAHYAOĞLU'na,

Yüksek lisans sürecim boyunca her zaman destek olan sevgili hocam Prof. Dr. Gül CEVAHİR ÖZ'e,

Tezimin deneysel kısımlarında her zaman yardımcı olan, bilgi ve deneyimlerini asla esirgemeyen ve tez aşamam sırasında her zaman destek ve yol gösteren hocam Öğr. Gör. Dr. Yusuf Can GERÇEK'e,

Deneysel ve tez yazım sürecimde hiç sıkılmadan yardımlarını ve desteğini gösteren yüksek lisans arkadaşım Fatma Nur BAŞTÜRK'e,

Tezimin deneysel kısmının başlamasına yardımcı ve destek olan Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesinden sevgili hocam Dr. Öğr. Üyesi Murat TELLİ'ye

Tezimin her aşamasında bana yardımcı olan sevgili hocalarım ve laboratuvar çalışma arkadaşlarım Doç. Dr. Serap SAĞLAM, Öğr. Gör. Dr. Hande MORGİL GERÇEK, Arş. Gör. Dr. Almıla ÇİFTÇİ, Arş. Gör. Kadir BOZTAŞ, Yiğit Sabri ÜNLÜ ve Kayhan DEREÇİK'e,

Bugüne kadar yanımda olan ve desteklerini asla esirgemeyen sevgili anneannem Perihan Leyla SARIHAN, sevgili babaannem Mualla Göksun KIRKINCI, sevgili annem Sedef KIRKINCI ve sevgili babam Uğur KIRKINCI'ya yardımları ve sabırlarından dolayı içtenlikle teşekkür ederim.

Ağustos 2021

Seran KIRKINCI

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİL LİSTESİ	vii
TABLO LİSTESİ	ix
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ	x
ÖZET.....	xii
SUMMARY.....	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL KISIMLAR	4
2.1. MİKROALGLER.....	4
2.1.1. <i>Scenedesmus obliquus</i> (Turpin) Kützing	7
2.1.2. Çevresel Faktörler	11
2.1.2.1 Sıcaklık.....	11
2.1.2.2 Işık.....	12
2.1.2.3 Karbondioksit.....	13
2.1.2.4 pH.....	14
2.1.2.5 Elementler.....	14
2.1.2.6 Tuzluluk.....	15
2.1.3. Mikroalglerin Büyüme Kinetikleri	16
2.2. STRİGOLAKTON	17
2.2.1. Strigolakton Biyosentezi	20
2.2.2. Strigolaktone Hormonu ile Yapılan Çalışmalar	23
2.3. LİPİDLER	30
2.3.1. Lipid Biyosentezi	32
2.3.2. Lipid ile Yapılan Bazı Çalışmalar	33

3. MALZEME VE YÖNTEM.....	36
3.1. MALZEME	36
3.1.1. Mikroalg Suşu	36
3.1.2. Bitkisel Hormon	36
3.1.3. Kültür Ortamı	36
3.2. YÖNTEM	38
3.2.1. Yetiştirme Ortamı	38
3.2.2. Gelişim Analizi	39
3.2.2.1. <i>Hücre Büyümesinin Hesaplanması</i>	39
3.2.2.1. <i>Hücre Sayısının Hesaplanması</i>	39
3.2.2.2. <i>Biyokütlenin Hesaplanması</i>	42
3.2.3. Total Karotenoid ve Klorofil a/b Analizi	42
3.2.4. Total Lipid Analizi	43
3.2.5. Yağ Asidi Metil Esterlerinin hazırlanması	44
3.2.6. GC-MS analizi	44
3.2.7 Yağ Asitleri Standart Karışımı ve Kalibrasyon Değeri.....	45
3.2.8 İstatistiksel Hesaplamalar.....	46
4. BULGULAR	47
4.1. GR24'ÜN ALGAL BÜYÜME VE GELİŞİME ETKİSİ	47
4.1.1. GR24'ün Algal Büyümeye Etkisi	47
4.1.2 GR24'ün Klorofil- <i>a</i> , Klorofil- <i>b</i> ve Total Karotenoid Üzerine Etkisi	50
4.1.3 GR24'ün Total Lipid İçeriği Üzerine Etkisi	52
4.1.4 GR24'ün Yağ Asidi İçeriği Üzerine Etkisi	53
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	55
KAYNAKLAR.....	62
ÖZGEÇMİŞ.....	71

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1.1: Mikroalglerin endüstriyel alanlarda kullanımı (Aishvarya ve diğ., 2015).....	1
Şekil 2.1: Mikroalger, ışığı etkili bir biçimde kullanarak atmosferik CO ₂ 'i çeşitli organik bileşiklere dönüştürmektedir (Khan, Shin and Kim, 2018).....	5
Şekil 2.2: <i>Scenedesmus obliquus</i> 'un mikroskobik görüntüsü (Darienکو, 2019).....	8
Şekil 2.3: Fotosentez ile kullanılan kaynaklar ve ürünleri (Pilon, Berberoğlu ve Kandilian, 2011).....	13
Şekil 2.4: Kapalı ortamda yetişen algin büyüme eğrisi (Allaf, 2013).....	16
Şekil 2.5: Strigol molekülünün kimyasal yapısı (Smith, 2014).....	17
Şekil 2.6: GR24'ün kimyasal yapısı (Smith, 2014).....	19
Şekil 2.7: SL'nin bitki hücresindeki biyosentez yolağı (Felemban ve diğ., 2019).....	21
Şekil 2.8: Bitki aleminin, SL ile ilgili genlerinin evrimi için ileri sürülen şema. Yeşil kutular SL ve proteinlerinin varlığı (Yeşil), SL ve proteinlerinin yokluğu (Kırmızı), homolog proteinler (Sarı) ve tanımsız (Beyaz) kutularla simgelenmiştir (Delaux ve diğ., 2012).....	22
Şekil 2.9: <i>Pisum sativum ccd8</i> mutant bitkisinin kök salgısında, yabani tip ve <i>rms4</i> bitkilerinin kök salgısı karşılaştırıldığında SL bulunamamıştır (Gomez-Roldan ve diğ., 2008).....	25
Şekil 2.10: GR24'ün sürgün büyümesini inhibe ettiğini gösteren grafik (Gomez-Roldan ve diğ., 2008).....	25
Şekil 2.11: <i>Solanum lycopersicon</i> bitkisine uygulanan 10 ⁻⁸ M IAA ve belli konsantrasyonlardaki GR24'ün bitki kök ve kök hücre uzunluğuna olan etkileri (Koltai ve diğ., 2010).....	27
Şekil 2.12: Eksojen uygulanan IAA, NAA, 2,4-D, GR24 hormonlarının ve NPA'nın (oksin akış inhibitörü) kök tüylerine olan etkisi (Koltai ve diğ., 2010).....	27

Şekil 2.13: Bazı yağ asitlerinin moleküler yapısı (Braun ve diğ., 2017).....	30
Şekil 2.14: Mikroalgler lipid biyosentezi (ACCase: asetil_CoA karboksilaz; ACP: acetil taşıyıcı protein; CoA: koenzim A; DAGAT: diacilgliserol aciltransferaz; DHAP: dihidroksiaseton fosfat; ENR: enil-ACP reduktaz; ER: Endoplazmik Retikulum; FAT: yağ asil-ACP tioesteraz; G3PDH: gliserol-3-fosfat dehidrogeniz; GPAT: gliserol-3-fosfat aciltransferaz; HD: 3-hidroksiacyl-ACP dehidrataz; KAR: 3-ketoacyl-ACP reduktaz; KAS: 3-ketoacyl-ACP sentaz; LPAAT: lizo-fosfatidik asit asiltransferaz; LPAT: lizo-fosfatidilkolin asiltransferaz; MAT; melonil-CoA:ACP transacylaz; PDH: pirüvat dehidrogenaz kompleks; TAG: triacylgliserol)(Radakovits ve diğ., 2010).....	33
Şekil 3.1: <i>S. obliquus</i> suşunun yetiştirme ortamı.....	38
Şekil 3.2: 10x objektif ile odaklanmış hemositometre lamı (Louis ve Siegel, 2011).....	40
Şekil 3.3: Hücre sayımı için kullanılan <i>S. obliquus</i> hücreleri görüntüsü.....	41
Şekil 4.1: Hücre sayısının dağılım grafiği ile hesaplanması.....	47
Şekil 4.2: Hücre sayısının güne bağlı üstsel büyüme eğrisi.....	48
Şekil 4.3: GR24'ün güne bağlı hücre sayısına etkisi.....	48
Şekil 4.4: GR24'ün 10. günde biyokütleye etkisi.....	49
Şekil 4.5: GR24'ün güne bağlı klorofil- <i>a</i> ve klorofil- <i>b</i> konsantrasyonuna etkisi.....	50
Şekil 4.6: GR24'ün güne bağlı total karotenoid konsantrasyonuna etkisi.....	51

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1: <i>Scenedesmus obliquus</i> 'un taksonomisi.....	7
Tablo 2.2: Farklı alglerin genel içerikleri (Becker, 2007).....	9
Tablo 2.3: Doğal olarak bulunan bazı SL'ler (Xie, Yoneyama ve Yoneyama, 2010).....	18
Tablo 2.4: SL'nin <i>Monoraphidium</i> sp. QLY-1 alg biyokütesi ve lipid içeriği üzerine etkisi (Song ve diğ., 2019).....	29
Tablo 3.1: BG11 besi ortamın içeriği.....	37
Tablo 3.2: GC metodunda kullanılan yağ asidi standart listesi.....	45
Tablo 4.1: GR24 hormonunun farklı konsantrasyonlarında yetiştirilen <i>S. obliquus</i> mikroalgindeki total lipid içerikleri.....	52
Tablo 4.2: GR24 hormonunun farklı konsantrasyonlarında yetiştirilen <i>S. obliquus</i> mikroalgindeki yağ asidi içerikleri.....	53

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
d	: Gün
dk	: Dakika
ft.	: Ayak
g	: Gram
kg	: Kilogram
L	: Litre
Lux	: Işık yoğunluğu
M	: Molar
m	: Metre
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
µg	: Mikrogram
µM	: Mikromolar
nM	: Nanomolar
v	: Hacim
%	: Yüzdelik

Kısaltmalar	Açıklama
ACCCase	: Asetil-CoA karboksilaz
AM	: Arbuskular mikorizal
CCD7	: Carotenoid Cleavage Dioxygenase 7
CCD8	: Carotenoid Cleavage Dioxygenase 8
D27	: DWARF 27
FAS	: Yağ asidi sentaz
FAT	: Thioesteraz
GR24	: (-)-Strigolakton GR24
KAS	: 3-ketoasil-ACP sentaz
MAT	: Malonil-CoA:ACP transakilaz
MAX1	: More Axillary Growth 1
MUFA	: Tekli doymamış yağ asidi

N	: Azot
NaOH	: Sodyum hidroksit
OD	: Optik yoğunluk
°C	: Santigrat
P	: Fosfor
pH	: Hidrojen potansiyeli
PUFA	: Uzun Zincirli Doymamış Yağ Asidi
ROS	: Reaktif Oksijen Türevleri
rpm	: Dakikadaki devir sayısı
S1	: 10^{-8} M GR24
S2	: 10^{-6} M GR24
S3	: 10^{-4} M GR24
SFA	: Doymuş Yağ Asidi
SL	: Strigolakton
TAG	: Triaçilgliserol
TFA	: Toplam Yağ Asidi

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Scenedesmus obliquus MİKROALGININ GELİŞİMİNDE STRİGOLAKTON HORMONUNUN OLASI ETKİLERİ

Seran KIRKINCI

İstanbul Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman : Prof. Dr. Gülriz BAYÇU KAHYAOĞLU

Nüfus artışı ve iklim değişikliği nedeni ile farmasötik ve biyoyakıt gibi alanlarda kullanılan hammadde ihtiyacı da artış göstermektedir. Mikroalgal hücre sayısının hızlı artması, lipid, protein ve karbonhidrat gibi önemli metabolitlerin bol miktarda bulunması ve biyokütlelerinin tamamının kullanılabilmesi önemli parametrelerdir. Hammadde ihtiyacının karşılanabilmesi için mikroalgal büyüme, gelişme ve metabolit miktarında artış ile ilgili çeşitli çalışmalar sürdürülmektedir. Fitohormonlar, yüksek bitkilerin ve mikroalglerin büyüme ve gelişiminde etkili olan metabolitlerdir. Eksojen fitohormon uygulamasının mikroalgal hücre sayısı, biyokütle verimliliği, lipid, protein ve karbonhidrat gibi metabolit artışına katkı sağladığı çeşitli çalışmalarda belirtilmiştir. Abiyotik stres koşullarında yetiştirilen bazı mikroalg kültürlerinde total lipid ve yağ asidi içeriklerinde artış varken; hücre sayısı, biyokütle miktarı ve fotosentez performansı azalabilir. Eksojen fitohormon uygulanmış mikroalg kültürlerinde ise bu indirgenmelerin olmadığı ve dolayısı ile endüstriyel üretim maliyetlerinin azaldığı ifade edilmiştir. Bu nedenle, endüstriyel açıdan önemli metabolitlerin üretimini arttırmak amacıyla mikroalgelere uygulanan eksojen fitohormonlarla ilgili çalışmalar büyük önem taşımaktadır.

Bu araştırmada, strigolakton (SL) hormonunun *Scenedesmus obliquus* mikroalg kültürüne eksojen olarak uygulanması ve algal biyokütle ile lipid içeriğinin artırılması amaçlanmıştır. SL'nin sentetik formu olan GR24 farklı süre ve konsantrasyonlarda uygulanmıştır. Hormon uygulamalarından sonra *S. obliquus* hücre sayısı, biyokütle miktarı, klorofil ve yağ asidi içeriğinde artışlar gözlenmiştir. GR24'n yağ asidi içeriklerine etkisi GC-MS (Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi) lmleriyle belirlenmiştir. Özellikle 10^{-6} M GR24 uygulamasının total yağ asidi içeriğini kontrol grubuna göre 1,37 kat artırdığı saptanmıştır.

Tez çalışmamızdan elde edilen verilerin ışığında, *S. obliquus*'un büyüme ve gelişiminde GR24 hormonunun etkili olduğu ve gelecekte yapılacak daha detaylı araştırmalara zemin oluşturabileceği düşünülmektedir.

Ağustos 2021, 86 sayfa.

Anahtar kelimeler: Biyokütle, Pigment, *Scenedesmus obliquus*, Strigolakton, Yağ asidi

SUMMARY

M.Sc. THESIS

POSSIBLE EFFECTS OF STRIGOLACTONE HORMONE ON THE DEVELOPMENT OF THE MICROALGAE *Scenedesmus obliquus*

Seran KIRKINCI

İstanbul University

Institute of Graduate Studies in Sciences

Department of Biology

Supervisor : Prof. Dr. Gülriz BAYÇU KAHYAOĞLU

Due to population growth and climate change, the need for raw materials used in areas such as pharmaceuticals and biofuels is also increasing. The rapid increase in the number of microalgal cells, the abundance of important metabolites such as lipids, proteins and carbohydrates, and the use of their entire biomass are important parameters. Various studies on microalgal growth, development and increase in the amount of metabolites are carried out in order to meet the raw material need. Phytohormones are metabolites that are effective in the growth and development of higher plants and microalgae. It has been stated in various studies that exogenous phytohormone application contributes to the increase in the number of microalgal cells, biomass productivity, metabolites such as lipid, protein and carbohydrate. While there was an increase in total lipid and fatty acid contents in some microalgae cultures grown under abiotic stress conditions; number of cells, amount of biomass and photosynthesis performance may decrease. It has been stated that there is no such reduction in microalgae cultures treated with exogenous phytohormones, and therefore industrial production costs are reduced. Therefore, studies on exogenous phytohormones applied to microalgae in order to increase the production of industrially important metabolites are of great importance.

In this research, it was aimed to increase algal biomass and lipid content by exogenous application of strigolactone (SL) hormone to *Scenedesmus obliquus* microalgae culture. GR24, the synthetic form of SL, was applied at different periods and concentrations. After hormone treatments, increases were observed in the cell number, biomass amount, chlorophyll and fatty acid content of *S. obliquus*. The effect of GR24 on fatty acid contents was determined by GC-MS (Gas Chromatography-Mass Spectrometry) measurements. It was determined that especially 10^{-6} M GR24 application increased the total fatty acid content 1.37 times compared to the control group.

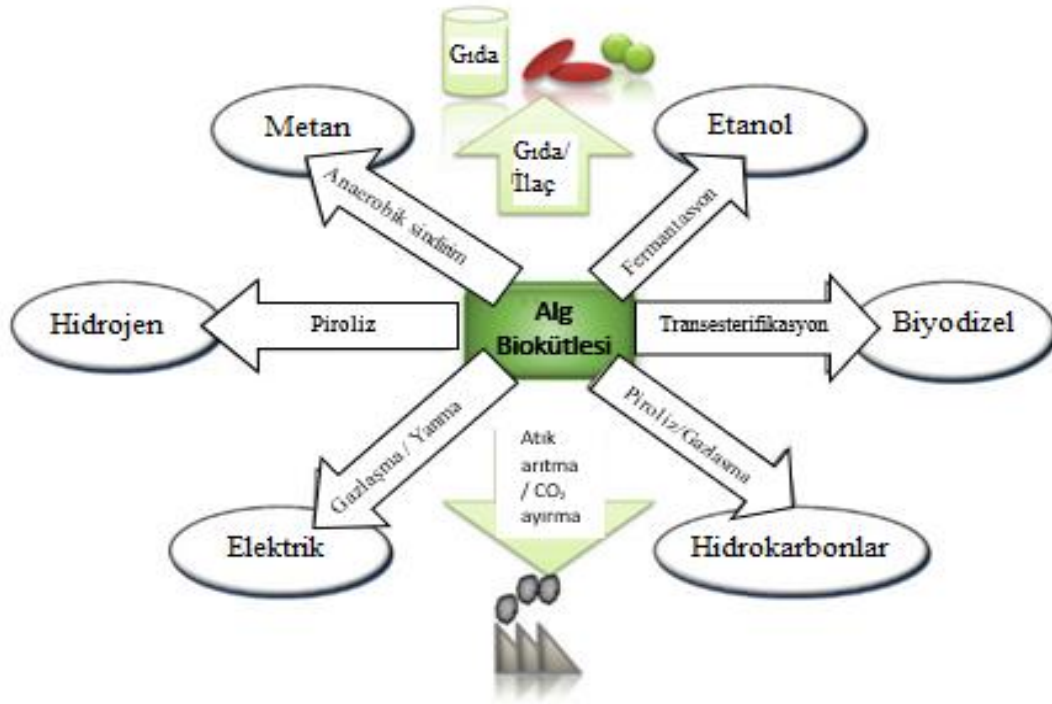
In the light of the data obtained from our Thesis study, it is thought that the GR24 hormone is effective in the growth and development of *S. obliquus* and may form the basis for more detailed research in the future.

August 2021, 86 pages.

Keywords: Biomass, Pigment, *Scenedesmus obliquus*, Strigolactone, Fatty Acid

1. GİRİŞ

Biyodizel, gıda, ilaç üretimi ve atık arıtımı ile ilgili endüstriyel alanlarda mikroalg kullanımının artış gösterdiği dikkat çekmektedir (Şekil 1.1). Özellikle petrol gibi yenilenebilir olmayan fosil yakıtların yerine geçebilecek biyoyakıt üretimi ile ilgili birçok çalışma yapılmaktadır. Bu ve benzeri alanlarda mikroalglerin tercih edilmesinin en önemli nedenlerinden biri çok hızlı büyümeleri ve üç ana bileşik olan, lipid, karbonhidrat ve protein moleküllerini bünyelerinde bol miktarda bulundurmalarıdır. Ticari olarak önemli olan bu molekülleri içermelerinden dolayı fitoremediasyon, biyoyakıt, nutrasötik, farmasötik ve gıda endüstrisinde kullanımları artmıştır (Matich ve diğ., 2018).



Şekil 1.1: Mikroalglerin endüstriyel alanlarda kullanımı (Aishvarya ve diğ., 2015).

Bilimsel araştırmalarda mikroalglerin kullanımının artmasındaki başlıca nedenler: yüksek fotosentez verimlilikleri, atık sularda azot ve fosfor gibi maddeleri kullanabilmeleri, abiyotik strese karşı direnç oluşturabilmeleri ve potansiyel metabolitleridir.

Mikroalglerin yukarıda belirtilen özelliklerinden dolayı moleküler içerik ve biyokütle verimliliğini arttırmak için birçok çalışma yapılmıştır. Araştırmalara göre abiyotik strese karşı oluşturdukları direnç ile lipid içeriklerinde artışlar gözlenmiştir.

Scenedesmus sp. CCNM 1077 suşu ile yapılan bir çalışmada, azot sınırlamasının ve ardışık azot eksikliğinin, alg morfolojisine ve biyokimyasal değişikliklerine etkisi incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre azot sınırlaması ve ardışık azot eksikliği, organizmanın fotosentez aktivitesini ve ham protein içeriğini önemli ölçüde dşrmştir. Ancak, kuru hücre ağırlığı ve biyokütle verimliliği belli bir nitrat (NO₃) konsantrasyonu ve 3 günlük NO₃ sınırlamasına kadar fazla etkilenmemiştir. Büyüme ortamından NO₃'ın tamamen uzaklaştırılmasıyla, kültürlerde en yüksek lipid ve karbonhidrat içeriği tespit edilmiştir. Bu durum organizmayı biyodizel ve biyoetanol üretimi için potansiyel bir ham madde haline getirmektedir (Pancha ve diğ., 2014).

Botryococcus spp. TRG suşları ile Tayland'da yapılan bir çalışmada, büyüme ortamındaki azot, tuz, demir ve ışık şiddetinin lipid üretimine etkisi incelenmiştir. Azot eksikliği, yüksek demir konsantrasyonu ve yüksek ışık şiddetinin *Botryococcus* spp. TRG'nin lipid içeriğinde artışa neden olduğu bildirilmiştir (Yeesang ve Cheirsilp, 2011).

Çeşitli abiyotik stres (azot, yüksek ışık şiddeti, sıcaklık, tuzluluk, ağır metaller vb) koşullarında yetişen mikroalglerin lipid veya karbonhidrat üretimi artabilir. Ancak abiyotik stres, aynı zamanda hücre büyümesini yavaşlatabilir, algal biyokütleyi ve verimliliği azaltabilir. Bu durum biyodizel üretiminde maliyet artışlarına neden olabilmektedir. Farklı abiyotik stres koşullarında bulunan mikroalglerde yan ürünler olarak reaktif oksijen türevlerinin de (ROS) retildiği saptanmıştır. Daha önce yapılan araştırmalarda, kültür ortamına uygulanan farklı fitohormonlar ile hücre büyümesinin devam edebildiği, metabolit üretiminin arttığı ve strese karşı direnç gelişebildiği bildirilmiştir. Fitohormonların oksidatif stresi azaltarak, biyokütle ve değerli ürün üretiminde düzenleyici olarak yer alabileceği belirtilmiştir (Zhao ve diğ., 2019).

Stres koşulu olmadan yürütülen bazı çalışmalarda ise, alg kültürüne uygulanan bitkisel hormonun biyokütle ve metabolit artışına etki ettiği belirlenmiştir (Salama ve diğ., 2014; Kozlova, Hardy ve Levin, 2017; Piotrowska-Niczyporuk ve diğ., 2018a; Piotrowska-Niczyporuk ve diğ., 2018b).

Strigolaktonlar (SL), kök ve sürgün yapısını koruma, çimlenmeyi teşvik etme, sürgün dallanmasını baskılama ve senesens gibi görevleri bulunan yeni sınıf bitki hormonlarından (Rameau ve diğ., 2019). Yeşil soy haritası incelendiğinde, küf, ciğerotu, karyofit ve klorofit yeşil alglerde SL varlığı saptanmıştır (Delaux ve diğ., 2012). Yeşil alg kültürlerine SL hormonu uygulanarak yürütülen çalışmalarda, alglerde biyokütle ve lipid akümüasyonu artışı olduğu ifade edilmiştir (Song ve diğ., 2019; Song ve diğ. 2020; Shen ve diğ., 2020; Zhang ve diğ., 2021a).

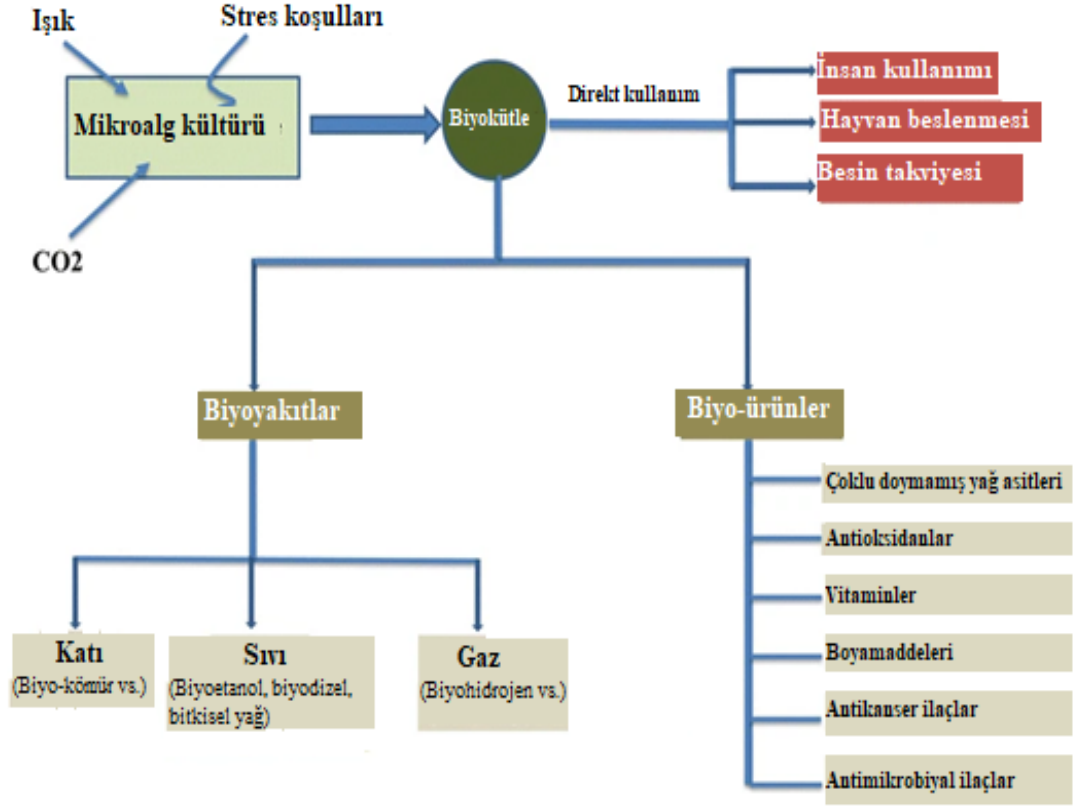
Bu çalışmanın amacı, *S. obliquus* mikroalginin yetiştirme ortamına eksojen uygulanan strigolakton hormonunun algal büyüme ve gelişim ile metabolitler üzerine etkilerini incelemektir.

2. GENEL KISIMLAR

2.1 MİKROALGLER

Algler genel olarak Rhodophyta (kırmızı alg), Phaeophyta (kahverengi alg), Chlorophyta (yeşil alg) ile Cyanophyta (mavi-yeşil alg) diye sınıflandırılan fotosentetik canlılardır. Algler, göller, nehirler, okyanuslar ve hatta atık sular gibi çeşitli sucul ekosistemlerde canlılıklarını sürdürebilen; sıcaklık, tuzluluk, pH, farklı ışık şiddetleri ve kuraklık gibi farklı çevre koşullarına direnebilen, tek veya başka organizmalar ile simbiyotik ilişki içinde yaşayabilen organizmalardır. Boyutlarına göre makroalgler ve mikroalgler olarak ikiye ayrılırlar (Khan, Shin and Kim, 2018).

Mikroalgler, mikroskobik tek hücreli canlılar olup prokaryotik veya ökaryotik hücre yapısında bulunabilirler. Cyanophyta prokaryotik, bazı Chlorophyta'lar ise ökaryotik mikroalglerdendir (Khan, Shin and Kim, 2018). Ökaryotik mikroalgler evrensel karbon fiksasyonunun %50'sinden sorumludur (Helliwell ve diğ., 2016). Karasal yüksek bitkiler evrensel karbon fiksasyonunda önemli bir rol oynarken, sucul mikroalgler, CO₂ fiksasyonu biyokatalizörü olarak önem kazanmış mikroorganizmalardır (Kurano ve diğ., 1995). Mikroalgler, atık suları, fazla CO₂ miktarını ve inorganik besin maddelerini, protein, yağ, karbonhidrat ve diğer yararlı organik bileşiklerce zengin bir yeşil biyokütleye dönüştürmek için güneş enerjisini etkili biçimde kullanabilirler (Lewis ve McCourt, 2004; Batista ve diğ., 2013). Yağ asitleri, özgün karotenoidler, flavanoidler, oligosakkaritler ve besince zengin yağlar gibi koruyucu ve besleyici bileşikler dizisini doğal olarak üreterek en zor çevre koşullarında hızla gelişebilirler. Mikroalgler, yüksek biyokütle verimliliği, hızlı büyüme, CO₂ fiksasyonu ve oksijen (O₂) üretim hızı ile yüksek bitkilerle karşılaştırıldığında, fotosentetik yönden karasal bitkilere göre çok daha verimlidirler (Gouveia ve diğ., 2010; Leliaert ve diğ., 2012). Özellikle yeşil mikroalgler, biyoenerji, biyofarmasötik, biyolojik materyal, nutrasötikler, tarım ve hayvan sağlığı, kozmetik ve kişisel bakım ürünleri gibi çeşitli endüstriyel alanlar ile rekombinant protein ve moleküllerin üretiminde kullanılmaktadır (Şekil 2.1) (Rasala ve Mayfield, 2015)



Şekil 2.1: Mikroalgler, ışığı etkili bir biçimde kullanarak atmosferik CO₂'i çeşitli organik bileşiklere dönüştürmektedir (Khan, Shin and Kim, 2018).

Endüstriyel alan ve biyolojik üretim alanları dışında günümüze kadar yapılan deneysel çalışmalarda birçok yeşil alg model sistem olarak kullanılmıştır. Örneğin Melvin Calvin, *Chlorella* yeşil mikroalgini kullanarak yaptığı çalışmada Calvin döngüsünü açıklamıştır. Joachim Hämmelina, dev hücreli *Acetabularia* yeşil algini kullanarak transplant deneyini gerçekleştirmiş ve mRNA'nın yapısı belirlenmeden varlığını saptamıştır. *Dunaliella salina* çok miktarda β-karoten üretimi gerçekleştirdiğinden biyoyakıt üretiminde çokça tercih edilmektedir. *Chlamydomonas reinhardtii* çok uzun zamandan beri fotosentez, kloroplast biyogenetiği, flagella yapısı, hücre-hücre tanımı, sirkadiyan saat ve hücre döngüsü kontrolü gibi birçok alanda kullanılmaktadır (Leliaert ve diğ., 2012).

C. vulgaris ve *D. salina* mikroalgleri, yaşlanma karşıtı krem, yenileyici ve yumuşatıcı özelliklere sahip yüz ve cilt bakım ürünleri ile güneşten koruma ve saç bakımı gibi kozmetik ürünlerde de sıklıkla kullanılmaktadır (Priyadarshani ve Rath, 2012).

Tabakhane Atık Sularında (TAS) kontaminasyon yükünü azaltmak ve atıkları güvenli bir şekilde uzaklaştırmak amacıyla uygulanacak biyolojik arıtmada *Scenedesmus* sp., *C. variabilis* ve *C. sorokiniana* mikroalgleri farklı TAS konsantrasyonlarında yetiştirilerek incelenmişlerdir. *C. variabilis* ve *C. sorokiniana* mikroalglerinin hücre yoğunluğu, klorofil ve şeker içeriği kontrol grubuna göre büyük ölçüde artmıştır. *C. sorokiniana*'nın biyokütlesi ve total lipid içeriği %25 ve %40 TAS konsantrasyonlarında kontrol grubuna göre sırasıyla iki ve üç kat artış göstermiştir. *Scenedesmus* sp. uzun lag fazı ve diğer suşlara göre düşük performans göstermiştir. *C. sorokiniana*'ya besin tedarikini dengelemek için kelp artık ekstraktı eklenmiş, büyüme ve atık su indikatörleri tüm konsantrasyonlarda geniş ölçüde gelişmiştir. Lag fazı, %60 konsantrasyonda 8 günden 4 güne düşmüş ve klorofil, karbonhidrat, biyokütle ile total lipidler sırasıyla %184, %400, %62 ve %135 oranında değerlerini arttırmıştır (Nagi ve diğ., 2020).

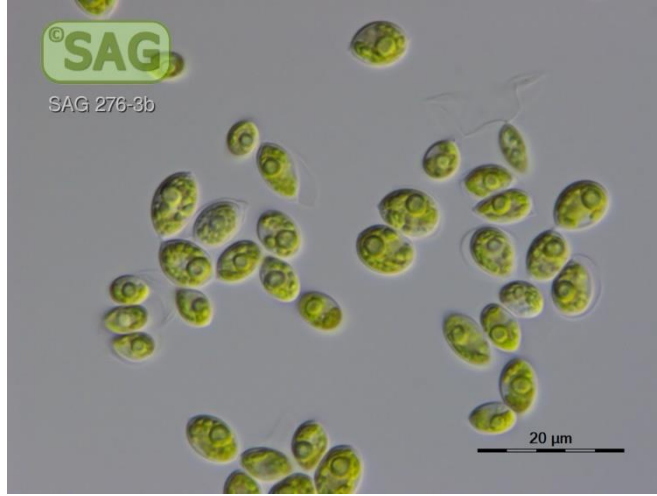
Becker (2013)'in derlediği bir çalışmaya göre, insan diyetinde kullanılan hayvansal ve bitkisel kaynaklı besinler ile birçok alg türünde protein, karbonhidrat, yağ ve vitamin içerikleri incelenmiştir. *S. obliquus* yeşil mikroalginin de bulunduğu birçok yeşil algin protein ve karbonhidrat içeriği, insan diyetinde kullanılan hayvansal et ve birkaç farklı gıda ile karşılaştırılmıştır. *S. obliquus* yeşil algindeki C16:4 ile C18:3 lipidlerin diğer alglerden daha fazla olduğu belirtilmiştir. Alglerde bulunan vitamin miktarının da insan diyetinde kullanılan besinlere oranla çok daha fazla olduğu saptanmıştır. Böylece, bazı mikroalglerin insan beslenmesinde önemli bir yeri olabileceği öne sürülmüştür.

2.1.1 *Scenedesmus obliquus* (Turpin) Kützing

Kokoid bir yeşil alg olan *Scenedesmus* cinsinin hücreleri eliptik ve iğsidir. Genellikle 2, 4 ya da 8'er hücre, bir ila üç sıra olmak üzere birlikte gruplandırılmış veya tek hücreli olarak bulunabilir (Tablo 2.1 ve Şekil 2.2) (An, Friedl ve Hegawald, 1999; Darienko, 2019). Yaklaşık 1300 taksaya sahip olan *Scenedesmus* mikroalginin türlerinden biri olan *Scenedesmus obliquus* (Turpin) Kützing, palmitik, oleik ve sitrik asit gibi temel yağ asitlerini içerdiğinden biyodizel üretimi ve atık su iyileştirme çalışmaları için aday gösterilen bir organizmadır. Bu nedenle birçok araştırmacı lipid ürünleri için bu mikroalgi seçmektedirler (Chu ve diğ., 2014).

Tablo 2.1: *Scenedesmus obliquus* 'un taksonomisi.

Üst Âlem	Ökaryotlar/Eukaryota
Âlem	Bitkiler/Plantae
Alt Âlem	Viridiplantae
Şube	Chlorophyta
Sınıf	Chlorophyceae
Takım	Sphaeropleales
Aile	Scenedesmaceae
Cins	<i>Scenedesmus</i>
Tür	<i>Scenedesmus obliquus</i>



Şekil 2.2: *Scenedesmus obliquus*'un mikroskopik görüntüsü (Darienکو, 2019).

Son zamanlarda *Scenedesmus* ve *Chlorella* gibi birçok mikroalgden önemli karotenoidlerden biri olan lutein pigmenti elde edilmeye başlanmıştır. Mikroalg kullanımının avantajları: (1) mikroalglerin bütün biyokütlesi kullanılabilir, (2) mikroalgler yüksek büyüme hızına sahip oldukları için lutein pigment verimliliği artıyor ve (3) yüksek biyokütle verimliliğinde karasal bitkilere göre daha fazla lutein içeriğine sahipler (Chan, ve diğ., 2013). Ayrıca antikanser ile antimikrobiyal aktiviteye sahip organizmalardır (Marrez ve diğ., 2019)

Becker (2007) yaptığı çalışmada farklı algler kullanarak kuru ağırlıklarındaki protein, yağ ve karbonhidrat içeriğini saptamıştır. *S. obliquus* mikroalginin, protein, yağ ve karbonhidrat bakımından zengin olduğunu belirlemiştir (Tablo 2.2)

S. obliquus biyokütle ekstraktının, karotenoid ve klorofil ürünlerinin üzerindeki, basınç, sıcaklık, CO₂ akış hızı ve polar kosolvent etkisi araştırılmıştır. En yüksek karotenoid ürününe 250 bar basınç ve 60 °C sıcaklıkta ulaşılmıştır. Klorofil ürünü ise basınç etkisi ile çok az artmıştır fakat sıcaklık ve CO₂ akış hızı ile düşmüştür.

Tablo 2.2: Farklı alglerin genel içerikleri (Becker, 2007).

Algler	Protein (%)	Karbonhidrat (%)	Lipid (%)
<i>Anabaena cylindrica</i>	43-56	25-30	4-7
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	62	23	3
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	48	17	21
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	57	26	2
<i>Chlorella vulgaris</i>	51-58	12-17	14-22
<i>Dunaliella salina</i>	57	32	6
<i>Euglena gracilis</i>	39-61	14-18	14-20
<i>Porphyridium cruentum</i>	28-39	40-57	9-14
<i>Scenedesmus obliquus</i>	50-56	10-17	12-14
<i>Spirogyra</i> sp.	6-20	33-64	11-21
<i>Arthrospira maxima</i>	60-71	13-16	6-7
<i>Spirulina platensis</i>	46-63	8-14	4-9
<i>Synechococcus</i> sp.	63	15	11

En yüksek klorofil-*a* içeriği 4,8 g/dk CO₂ ve karotenoidin klorofil-*a*'ya oranı, en yüksek, 250 bar basınç ve 60 °C sıcaklık ile ulaşmıştır. Bunlar dışında kosolvent olan etanol kullanımı klorofil-*c* haricindeki bütün klorofil ürünlerinin miktarını arttırmıştır. Süper kritik sıvı ekstraksiyonu yöntemi ile yapılan bu çalışmada uygulanan tüm koşullar etkisinde bahsi geçen pigmentlerin, ayrımı ve arıtımının kolay olabileceği gözlenmiştir (Guedes ve diğ., 2013).

%0.03-%50 CO₂ aralığında yetiştirilen *S. obliquus* SJTU-3 ve *C. pyrenoidosa* SJTU-2 suşu ile yapılan çalışmada büyüme ve gelişme incelenmiştir. İki mikroalgin de %50 CO₂'de büyüyebileceği ve en iyi büyümenin %5 ila %20 CO₂ konsantrasyonları arasında gerçekleştiği belirtilmiştir. Her iki mikroalgin en iyi büyüme potansiyeli %10 CO₂'de gözlenmiştir. İki mikroalgde de C16-C18 yağ asitleri içeriği farklı CO₂ konsantrasyonlarında incelenmiştir. Yüksek CO₂ konsantrasyonları, total yağ ve uzun zincirli doymamış yağ asidi (PUFA) akümülyasyonunda etkilidir. Elde edilen sonuçlara göre her iki mikroalgin de, baca gazlarından kaynaklı CO₂ konsantrasyonunu azalttığı ve biyodizel ürünü olarak kullanımının uygun olduğu saptanmıştır (Tang ve diğ., 2011).

Bitki hormonlarının *S. obliquus*'un büyüme ve gelişimine etkisi, biyodizel üretimi ve atık su temizleme ile ilgili birçok çalışma bulunmaktadır (Mandal ve Mallick, 2009; Salama ve diğ., 2014; Gupta ve diğ., 2016; Piotrowska-Niczyporuk, Bajguz ve Zambrzycka-Szelewa, 2017; Piotrowska-Niczyporuk ve diğ., 2018a; Piotrowska-Niczyporuk ve diğ., 2018b).

2.1.2 Çevresel Faktörler

Mikroalgin büyüme gelişmesini etkileyen başlıca çevresel faktörler sıcaklık, ışık, elementler, gazlar ve pH'dır.

2.1.2.1 Sıcaklık

Sıcaklık, algal büyümede ve hücre içi sıcaklığa bağlı bileşik oluşumunda etkili çevre faktörlerinden biridir. Mikroalglerin, sıcaklık karşısındaki fizyolojik uyumlarının, enzim reaksiyonları, hücre geçirgenliği ve hücre yapısı gibi çeşitli parametrelerle düzenlendiği düşünülmektedir. Doğada besin kısıtlanması, sıcaklık stresinin en önemli etkilerinden biridir. Sıcaklık stresi, bunun dışında lipidlerin faz geçişi, makromoleküllerin oluşumu ve fizyokimyasal reaksiyonların kinetiği üzerinde de son derece etkilidir (Hodaifa, Martínez ve Sánchez, 2010).

Scenedesmus sp. LX1 ile yapılan çalışmada, farklı sıcaklık değerlerinin, yetiştirilen mikroalglerin büyüme ve gelişimi üzerindeki etkileri incelenmiştir. 20 °C'lik kültür ortamının *Scenedesmus* sp. LX1 mikroalginin yetiştirilmesinde optimal sıcaklık olduğu belirlenmiştir. Düşük sıcaklıklarda ise mikroalg hücrelerinde ROS seviyesinin arttığı tespit edilmiştir (Xin, Hong-Ying ve Yu-Ping, 2011).

Martínez ve diğ. (2000) yaptıkları çalışmada *S. obliquus* mikroalgini farklı sıcaklık derecelerinde yetiştirerek büyüme ve gelişimini incelemişlerdir. 25 °C olarak belirlenen optimum sıcaklıkta, biyokütlenin arttığını bildirmişlerdir.

S. obliquus ile yapılan bir çalışmada en iyi büyüme oranını 30 °C'lik kültür ortamının verdiği belirlenmiştir. Fosfor inhibisyonu sıcaklığa bağlı olarak değişir. Yüksek sıcaklıklarda inhibisyon değeri düşmektedir (Martinez, Jimenez ve Yousfi, 1999).

2.1.2.2 Işıık

Işıık şiddeti ve fotoperiyod (aydınlık ve karanlık evre) döngüsü, mikroalg kültürlerinin büyüme oranını belirleyen birincil faktörlerden biridir. Fotoototrofik kültür için, ışık sistemi ve fotoperiyod, kültürün biyokütlesini ortaya koyan önemli bir bileşendir. Mikroalgler ışığı, hücre protoplazmasını sentezleyen kaynak olarak kullanırlar ve ışık doygunluk sınırları yaklaşık olarak 600 ft mum ışığıdır. Böylelikle, mikroalgler ışık doygunluk sınırının üzerine çıktıkları zaman, fazladan olanı kullanamazlar. Diğer taraftan, ışık şiddeti, mikroalg kültürünün kültür yoğunluğu üzerinde önemli bir rol oynar. Eğer mikroalgler, yüksek kültür yoğunluğu ve hücre konsantrasyonunda yetişiyorsa, ışık şiddeti, kültüre doğrudan nüfuz edebilmesi için artırılmalıdır (Wahidin, Idris ve Shaleh, 2013).

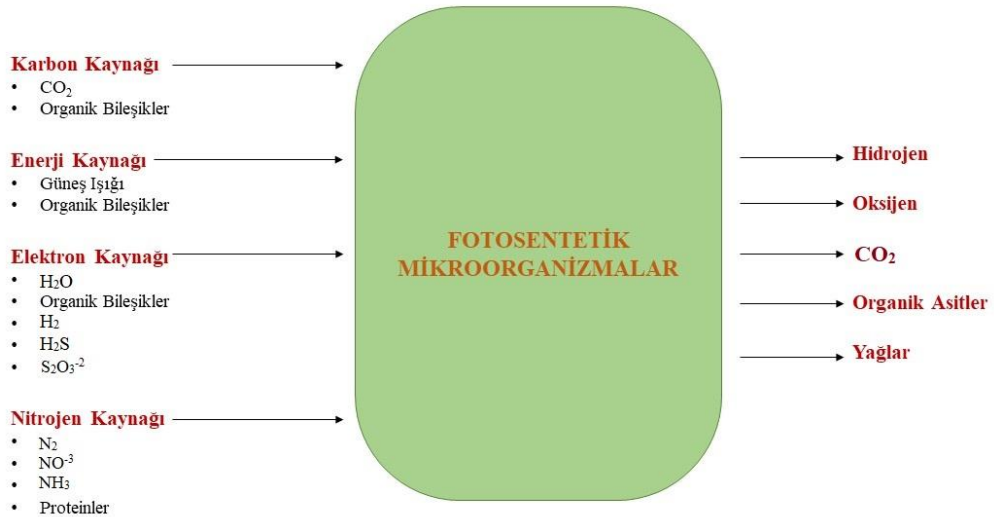
Fotosentetik bir organizma olan mikroalgler, ışık kaynağını fotosentez yoluyla kullanarak CO₂'yi, oksijen ve karbonhidrata dönüştürür (Şekil 2.3). Bunun yanı sıra hücre içeriğindeki protein ve yağı üretir (Pilon, Berberoğlu ve Kandilian, 2011).

Ho, Chen ve Chang (2012) yaptığı çalışmada farklı ışık şiddeti altında yetiştirilen *S. obliquus* CWN-N suşunun spesifik büyüme hızına ve biyokütle, lipid ve karbonhidrat verimliliği ile CO₂ fiksasyonu üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Sonuç olarak 180 ile 540 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ aralığndaki ışık şiddetlerinde, spesifik büyüme hızı 1,65 ile 1,8 d⁻¹ civarındadır; 420 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ışık şiddetinde maksimum biyokütle, lipid ve CO₂ verimliliği ile CO₂ fiksasyonu sırasıyla, 840,56 L⁻¹ d⁻¹, 96,50 mg L⁻¹ d⁻¹, 321,52 mg L⁻¹ d⁻¹ ve 90 mg L⁻¹ d⁻¹'dir.

2.1.2.3 Karbondioksit

Fotosentetik organizmalarda ışık gibi CO₂ varlığı da büyük önem taşır. Hücrelerin biyokütlelerinde içerdikleri başlıca metabolitlerin karbon kaynağı işlevini görür (Pilon, Berberoğlu ve Kandilian, 2011). CO₂ ile mikroalg arasındaki bir diğer önemli ilişki ise, küresel ısınma kaynaklı olarak artan atmosferik CO₂ miktarının mikroalglerle biyolojik fiksasyonunun, gelecek vadede bir karbon azaltıcı yöntem olmasıdır. Bunun nedeni mikroalglerin, karasal bitkilere oranla daha hızlı büyümeleri ve yüksek fotosentetik etkinliğe sahip olmalarıdır (Kumar ve diğ., 2011; Chang ve diğ., 2016). Sıcaklık, pH, azot oksit (NO_x) ve kükürt oksit (SO_x) gazları, ışık, kültür suyu ve yoğunluğu, CO₂ konsantrasyonu ve kütle transferi ile O₂ akümüasyonu, CO₂ ayırma sürecini etkileyen faktörlerdir (Kumar ve diğ., 2011).

S. obliquus mikroalgine uygulanan farklı CO₂ oranları ve yetiştirme ortamı içerikleriyle yapılan deneyde, %10 CO₂ uygulanan kültürün biyokütlesinin, diğer oranlardaki kültürlerle göre fazla olduğu, zengin element içeren besi yerine göre element eksikliği olan ve %10 CO₂ uygulanan kültürde biyodizel için önemi olan C16 ve C18 yağ asitlerinin birikiminin fazla olduğu gözlenmiştir (Ho, Chen ve Chang, 2010).



Şekil 2.3: Fotosentez ile kullanılan kaynaklar ve ürünleri (Pilon, Berberoğlu ve Kandilian, 2011).

2.1.2.4 pH

pH ve sıcaklık gibi çevre faktörlerinin kültür ortamı üzerindeki optimizasyonu, mikroalgal büyümeyi etkilediği gibi yağ içeriği ve antioksidan bileşik üretimini de etkiler (Guedes ve diğ., 2011; Breuer ve diğ., 2013).

Guedes ve diğ. (2011) yürüttükleri bir çalışmada, farklı pH ve sıcaklık uyguladıkları kültürlerde *S. obliquus* mikroalginin gelişimini incelenmiştir. Araştırmacıların verilerine göre, 25 °C sıcaklık ve pH 8 değeri ile en yüksek biyokütle değeri elde edilmiştir. Bunun yanı sıra, sıcaklık ve pH arttığında antioksidan üretiminin de arttığı tespit edilmiştir. En yüksek antioksidan içeriği ise 30 °C ve pH 8 de gözlemlenmiştir. Yapılan bu çalışmaya göre mikroalgal biyokütle değişiminden sadece pH değil onun yanında sıcaklıkla beraber pH değerinde de etkili olduğu düşünülmektedir.

Breuer ve diğ. (2013) araştırmasında farklı pH ve sıcaklık değerleri uygulayarak yetiştirdikleri *S. obliquus* mikroalginde benzer şekilde büyüme ve gelişimi incelemiştir. pH 7 ve 27.5 °C sıcaklıkta geliştirilen kültürün en yüksek biyokütleyle sahip olduğu, triaçilgliserol (TAG) ve toplam yağ asidi (TFA) içeriklerinin de arttığı tespit edilmiştir.

2.1.2.5 Elementler

Mikroalglerin yetiştiği ortamdaki element içeriğinin algal büyüme ve gelişiminde etkisi vardır. Yapılan çalışmalarda glikoz, azot ve fosfor içeriğine bağlı enerji üretimi ve biyodizel için önemli olan lipid üretimini doğrudan etkilediği belirlenmiştir (Piorreck, Bassch ve Pohl, 1984; Chen ve Johns, 1991; Martínez, Jiménez ve Yousfi, 1999).

Piorreck, Bassch ve Pohl (1984) yaptıkları çalışmada *S. obliquus*, *C. vulgaris* ve 4 mavi-yeşil alg türünü farklı azot konsantrasyonlarında yetiştirmişlerdir. Azot kaynağı olarak amonyum klorür (NH₄Cl) ve potasyum nitrat (KNO₃) kullanılmıştır. Elde edilen verilere göre, azot seviyesinin yükselmesiyle birlikte bütün alglerde biyokütle, protein içeriği ve klorofilde de artış olduğu gözlenmiştir. Düşük azot seviyesinde ise yeşil alglerin içerdiği total lipid yüzdesi artmıştır. Ancak, C16:0 ve C18:1 yağ asidi içeriği ve hidrokarbonlar, azot seviyesi arttıkça %70 oranında azalmıştır. Azot seviyesi yükseldikçe, yeşil alglerin içerdiği total lipid yüzdesi %20'ye düşmüştür. Mavi-yeşil alglerin total lipid içeriği ise azot seviyesine bağlı olarak dikkate değer bir oranda değişmemiştir.

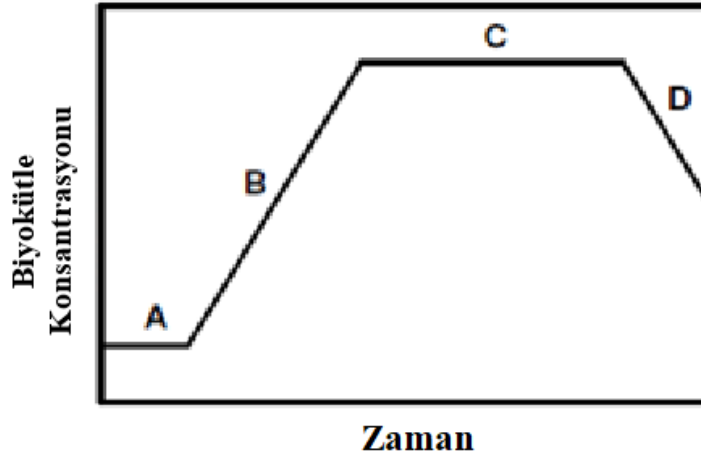
2.1.2.6 Tuzluluk

Yüksek konsantrasyonlardaki tuz, fotosentetik organizmalar üzerinde pek çok biyoenerjetik ve biyokimyasal değişikliğe sebep olabilir. Artan tuz stresi nedeniyle meydana gelen bu değişiklikler, biyopolimer üretiminin artmasına ve lipid katabolizmasına neden olabilir. Farklı tuz konsantrasyonları fitoplanktonlarda osmotik stres, iyon stresi ve seçici membran iyon geçirgenliğine bağlı olarak hücrel iyonik oranların değişmesinde etkili olur (Alyabyev, A.J. ve diğ., 2007; Salama ve diğ. 2013). Bunlara karşın algler tuz stresine dayanarak büyümelerini optimize edebilir (El-Sayed ve Abdel-Maguid,2010).

Salama ve diğ. (2013)'nin yaptıkları bir çalışmada *Chlamydomonas mexicana* R.A. Lewin ve *S. obliquus* mikroalginin tuz stresi altında lipid içeriği ve büyüme oranındaki değişimi incelemiştir. Sonuçlara göre 25 mM NaCl tuzu her iki mikroalgin lipid içeriğini artırmış, bunun yanında mikroalgal büyümeyi teşvik etmiştir. *C. mexicana* R.A. Lewin mikroalginde 0,43 mM'dan 25 mM'a doğru artan NaCl konsantrasyonunda %23'ten %37'ye; *S. obliquus* mikroalginde ise %22'den %34'e olmak üzere lipid üretimi artmıştır. Bunun yanında %41 ile en yüksek oleik yağ asidi içeriği 50 mM NaCl konsantrasyonundaki, *S. obliquus* kültüründe gözlenmiştir.

2.1.3 Mikroalglerin Büyüme Kinetikleri

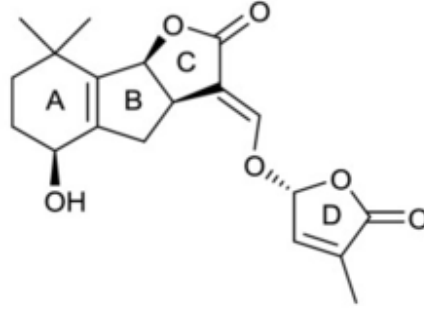
Algal biyokütlenin artması, organizmaya bulunduğu ortamdan bileşikler eklenerek boyutunun ve kütlesinin artmasıyla gerçekleşir. Populasyondaki hücrelerin artmasıyla hücre sayısı da artar. Kültür ortamındaki algal büyüme, sıcaklık ve kütle transferi gibi dış faktörler tarafından sınırlanmaz, fazlara bölünür. Belirtilen fazlar sırasıyla, adaptasyon fazı (lag fazı), üstel büyüme fazı (log fazı), durağan faz ve logaritmik ölüm fazı şeklindedir. Algal hücreler, yeni kültür ortamına eklendiği zaman kendilerini yeni ortama adapte etmeye çalışırlar. Bu evre lag fazıdır. Daha sonra hızlanan büyüme başlar ve hücrelerin bölünmesi ile büyümesi maksimum hıza ulaşır (Şekil 2.4). Bu faza log fazı denir. Durağan faza ulaştıklarında, sınırlı besin miktarları, mikroorganizmaları büyümekten ve biyokütle artışından korur. Bu noktada, hücresel bölünme ve hücre ölümü, hücrelerin bölünmesinin durduğu evre tarafından gerçekleşir fakat metabolik aktivite devam eder. Bu süreç, mikroorganizmaların besinleri tükettiği ve öldüğü zamana kadar devam eder (Allaf, 2013).



Şekil 2.4: Kapalı ortamda yetişen algin büyüme eğrisi (Allaf, 2013).

2.2 STRİGOLAKTON

Bitkiler, büyüme ve gelişim süreçlerinde hormonlar gibi sinyal molekülleri kullanarak çevresel koşullara uyum sağlarlar. Strigolakton (SL), bitki biliminde önemi gittikçe artan bitki hormonlarından biridir (Xie, Yoneyama ve Yoneyama, 2010). Cook ve diğ. (1966) pamuk bitkisi ile yaptıkları araştırmada, pamuğun kök salgılarının *Striga lutea* Lour. adlı parazit bitkinin tohumlarını çimlendirdiğini gözlemlemişler ve bu maddeye strigol adını vermişlerdir (Şekil 2.5) (Smith, 2014).

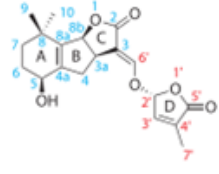
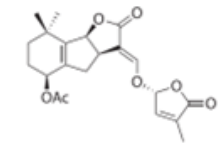
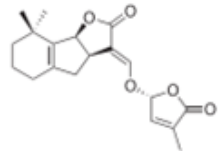
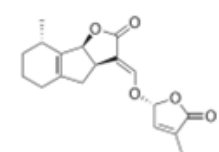
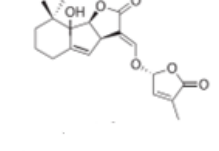
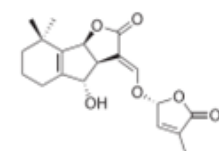


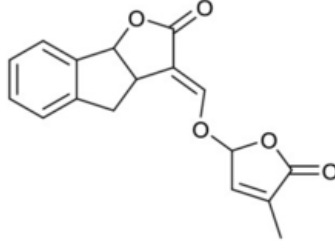
Şekil 2.5: Strigol molekülünün kimyasal yapısı (Smith, 2014).

İlerleyen çalışmalarda *Alectravogelli*, *Sorghumbicolar*, *Orobancheminor* gibi bitki tohumlarının çimlenmesinde etkili olan kimyasallara sırasıyla alektrol, sorgolakton ve orobanşol denilmiştir (Hauck, Müller ve Schildknecht, 1992; Müller, Hauck ve Schildknecht, 1992; Yokota ve diğ., 1998). Yukarıda belirtilen kimyasalların yapısında lakton grubu bulunduğu için, bu kimyasallar genel olarak SL'ler olarak adlandırılmıştır (Butler; 1994). Doğada bulunan SL'ler 19 karbonludur ve dört organik halkadan meydana gelmektedir. Bu halkalar, bir enol-eter köprüsü ile butenolid grubuna (D halkası) bağlanan, trisikliklakton (ABC kısmı) içerir (Zwanenburg, Pospíšil ve Čavar Zeljković, 2016).

Bugüne kadar doğal olarak bulunan SL'ler birçok farklı bitkiden elde edilmiştir (Tablo 2.3). Lakton halkaları içeren SL'lerden strigolün A halkasını aromatik bir yapı haline getirerek sentetik bir SL olan GR24 elde edilmiştir (Şekil 2.6) (Smith, 2014; Zwanenburg, Pospíšil ve Čavar Zeljković, 2016).

Tablo 2.3: Doğal olarak bulunan bazı SL'ler (Xie, Yoneyama ve Yoneyama, 2010).

Doğal bulunan SL'ler	Kimyasal yapısı
Strigol	
Strigil asetat	
5-Deoksistrigol	
Sorgolakton	
Alektrol	
Orobanşol	

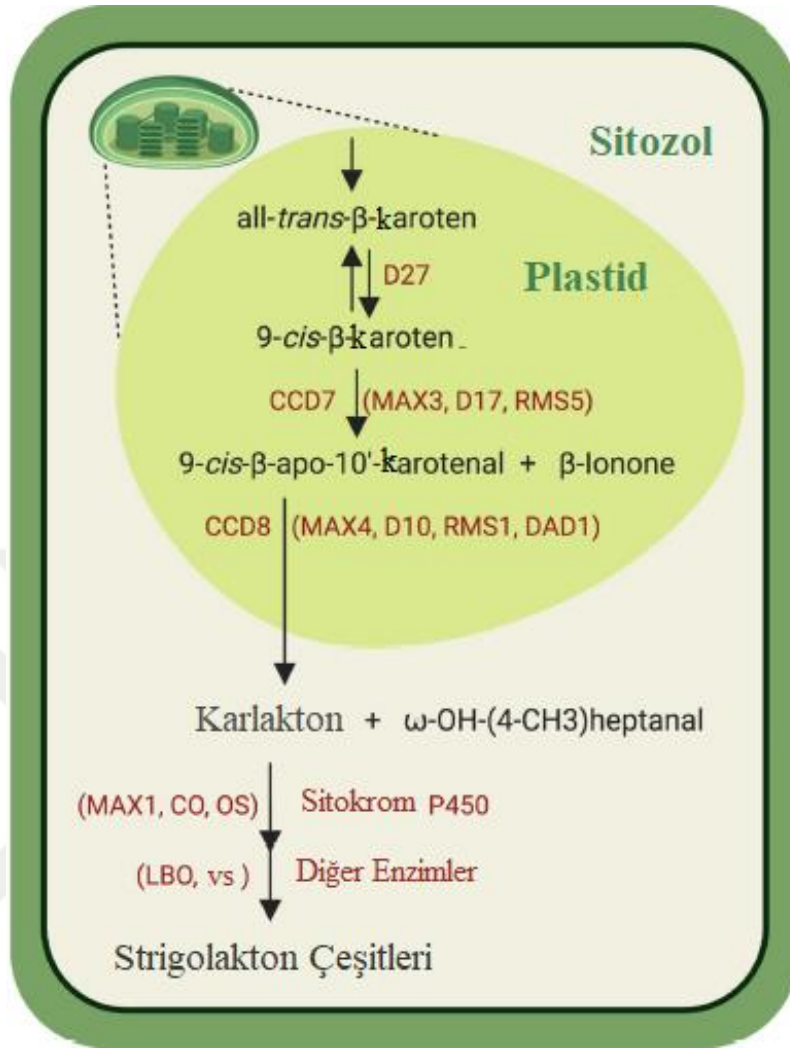


Şekil 2.6: GR24'ün kimyasal yapısı (Smith, 2014).

SL'ler, çimlenmenin yanı sıra, arbuskular mikorizal (AM) mantarların toprak altındaki hif dallanmalarını da teşvik ederek konakçı oldukları bitki ile simbiyotik bir ilişki kurarlar (Akiyama, Matsuzaki ve Hayashi, 2005). Bunun dışında da sürgün dallanmasını baskılama, internodyum uzamasını ve uzunluğunu düzenleme, gravitropik seviye açısına etkisi, gövdelerin ikincil büyümesini kontrol etme, yaprak şekli ve kenarına etkisi, ürüme organ büyüklüğünü, çiçeklenme zamanı gibi toprak üstü yapısını düzenler. Kök uzunluğu, yan kök ve kök tüyü gelişimi, anormal gelişen kök düzenlenmesi gibi kök yapısını düzenler. SL'ler besin eksikliği ve osmotik basınç gibi abiyotik streslere karşı etkilidir ve oksin, sitokinin, gibberellin (GA), absisik asit (ABA) ve brasinosteroidler ile etkileşim halindedir (Yoneyama ve diğ., 2007a; Gomez-Roldan ve diğ., 2008; Arite ve diğ., 2009; Hayward ve diğ., 2009; Koltai ve diğ., 2010; Ruyter-Spira ve diğ., 2011; Czarnecki ve diğ., 2013; de Saint Germain, 2013; Scaffidi ve diğ., 2013; Rameau ve diğ., 2019). Bitki büyüme ve gelişiminin düzenlenmesinde rol oynadığı için yeni nesil bitki hormonu olarak tanımlanır (Zwanenburg ve Blanco-Ania, 2018).

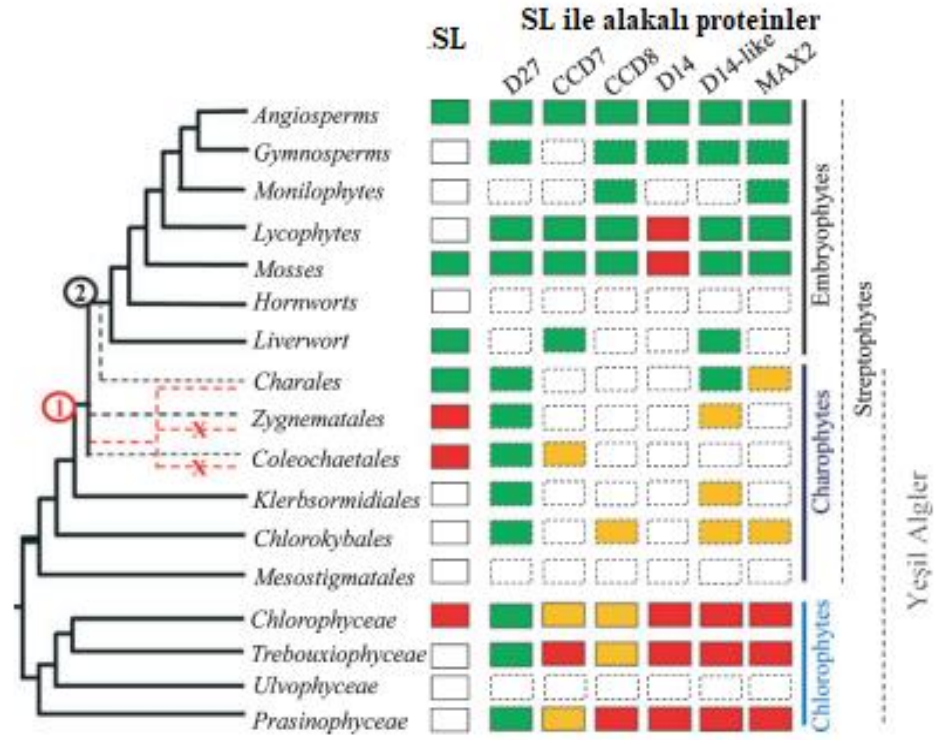
2.2.1 Strigolakton Biyosentezi

SL'ler, ABA gibi karotenoidlerden kökenlenen hormonlardır (Felemban ve diğ., 2019). SL'nin moleküler yapısı $C_{19}H_{22}O_6$ 'dır (Cook ve diğ., 1966) SL'nin biyosentezi, plastid ve sitozol içinde olmak üzere iki kısımda gerçekleşir (Şekil 2.7) (Felemban ve diğ., 2019). Plastid içinde sentezlenen β -karoten pigmenti 40 karbonludur ve bazı enzimler aracılığı ile 19 karbonlu SL'lere dönüşür. *Arabidopsis thaliana* ile yapılan çalışmalarda sentez enzimlerinden DWARF 27 (D27), Carotenoid Cleavage Dioxygenase 7 (CCD7) ve Carotenoid Cleavage Dioxygenase 8 (CCD8) enzimleri, biyosentezin plastid içinde geçen kısmında görev alır (Alder ve diğ., 2012; Jia ve diğ., 2019). D27, CCD7 ve CCD8 enzimleri β -karoteni karlaktona dönüştürür. Karlakton, 19 karbonlu ve biyolojik aktiviteleri SL'lere benzeyen bir moleküldür. Karlakton SL'lere özgü butenolid halkasına ve enol-eter parçasına sahiptir (Alder ve diğ., 2012; Scaffidi ve diğ., 2013). Karlakton ve sentetik SL olan GR24 kullanılarak yapılan çalışmada, karlaktonun, GR24 kadar etkili olmadığı fakat konsantrasyona bağlı olarak *S. hermonthica* bitkisinin tohumlarını çimlendirdiği gözlenmiştir. Karlakton'un bu özelliğinden ve C halkasının bulunmamasından dolayı, çimlenme aktivitesinde C halkasının gerekli olmadığı saptanmıştır (Alder ve diğ., 2012). Karlakton molekülü sitozolde bulunur ve SL'ye dönüşebilmesi için B ve C halkaları gerekmektedir. Bunun için sitokrom P450 enzimlerinden olan More Axillary Growth 1 (MAX1) enzimiyle en basit yapılı SL meydana getirilir (Alder ve diğ., 2012; Waldie, McCulloch ve Leyser, 2014). SL'lerin öncüsü olan 5-deoksisitrigol'ün hidrilasyonu ile strigol, orobanşol veya sorgomol SL'leri meydana gelir. Bunlar, asit veya şeker ile aminoasitlerin konjuge edilmesi sonucunda diğer doğal SL'lere dönüşür (Xie, Yoneyama ve Yoneyama, 2010).



Şekil 2.7: SL'nin bitki hücresindeki biyosentez yolağı (Felemban ve diğ., 2019).

Chlorophyceae sınıfına bağlı olan yeşil alglerde SL sentez genleri ile yapılan bir çalışmada SL varlığı gözlenmemiş, ancak D27 geni ile CCD7 ve CCD8 genlerinin analogları belirlenmiştir (Şekil 2.8) (Delaux ve diğ., 2012). Yapılan çalışmalara göre SL biyosentezi ve miktarında azot ve fosfor eksikliği ile oksin, GA ve ABA bitki hormonları etkilidir (Jia ve diğ., 2019).



Şekil 2.8: Bitki aleminin, SL ile ilgili genlerinin evrimi için ileri sürülen şema. Yeşil kutular SL ve proteinlerinin varlığı (Yeşil), SL ve proteinlerinin yokluğu (Kırmızı), homolog proteinler (Sarı) ve tanımsız (Beyaz) kutularla simgelenmiştir (Delaux ve diğ., 2012).

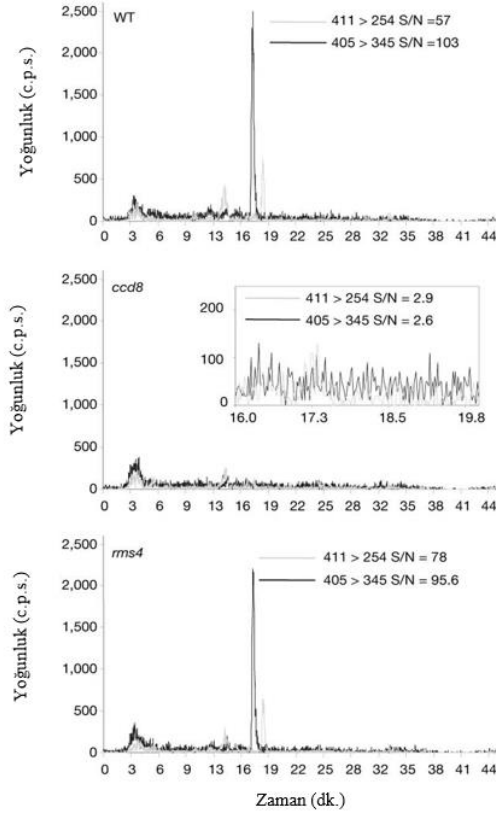
2.2.2. Strigolakton Hormonu ile Yapılan Çalışmalar

S. hermonthica gibi bazı parazit bitkilerde konakçı bir bitkinin ürettiği kimyasal ürün sayesinde tohum çimlenmesinin düzenlendiği ve bu duruma kadar tohumlarının dormansi durumunda kaldığı saptanmıştır. Pamuk bitkisi ve *S. lutea* parazit bitkisi ile yapılan çalışmada, pamuk bitkisinin köklerinden salgılanan bir kimyasal sayesinde *S. lutea* bitkisinin tohumlarının çimlenebildiği gözlenmiştir ve bu kimyasal salgıya strigol adı verilmiştir. Strigol moleküler yapısına göre GA bitki hormonuna benzediği fakat herhangi bir GA ile özdeş olmadığı ve GA bitki hormonun *S. lutea* bitki tohumlarının çimlenmesinde etkili olmadığı belirlenmiştir (Cook ve diğ., 1966).

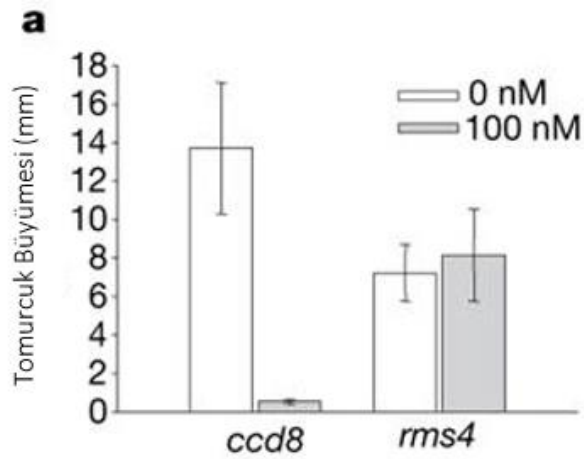
AM mantarlarının yaşam döngüsündeki en kritik gelişme hif dallanmasıdır. Hiflerin dallanması konakçı kökleriyle simbiyotik ilişki kurulmasında önemlidir. Dallanma faktörünün, başarılı bir kök kolonizasyonu için hif morfogenezinin tetiklenmesinde gerekli bir bitki sinyal molekülü olduğu varsayılmaktadır. Dallanma faktörü bütün mikotrofik bitkilerin kök salgılarında saptanmıştır fakat konakçı olmayan bitkilerde belirlenememiştir. Konuyla ilgili en kapsamlı çalışmada, düşük fosfat koşulları altında büyüyen bitkilerin kök salgılarının yeterli fosfora sahip bitkilerin kök salgılarından daha aktif olduğu gözlenmiş ve dallanma faktör ürünü ile kök salgılarının fosfor varlığında düzenlendiği düşünülmektedir. Düşük fosfor koşulunda hidroponik bir ortamda yetiştirilen *Lotus japonicus* ile yapılan deneyde, hidroponik solüsyona salınan lipofilik bileşikler *Gigaspora margarita* AM mantar çimlenme sporlarının hifal dallanma aktivitesi için test edilmiştir. *L. japonicus* köklerinden elde edilen dallanma faktörünün AM mantarı hiflerinin dallanmasını teşvik ettiği gözlenmiştir. Dallanma faktörü ile yapılan analiz çalışmalarında bu salgının SL'ler ile yakından ilişkili olduğu belirlenmiş ve 5-deoksi-strigol olarak tanımlanmıştır (Akiyama, Matsuzaki ve Hayashi, 2005).

Trifolium pratense ile yapılan bir araştırmada ise fosfor eksikliğine bağlı olarak orobanşol eksüdasyonu incelenmiştir. Üç farklı azot konsantrasyonundaki hidroponik kültürlerde yetiştirilen bitkinin kök salgılarında orobanşol ve bu salgıların parazit bitki tohumu çimlenmesine etkileri araştırılmıştır. Kök salgılarında orobanşol miktarı amonyum varlığında artarken, nitrat varlığında azalmıştır. Parazit bitkilerin çimlenme aktivitesinde ise kayda değer bir etki yaratmamıştır. Bir diğer kültür ortamında ise düşük miktarlarda azot, fosfor, kalsiyum, potasyum ve magnezyum etkileri ayrı ayrı incelenmiştir. Element eksikliğinde yetişen bitkinin kök salgıları ile kontrol grubu karşılaştırıldığında salgıdaki orobanşol miktarı fosfor dışındaki elementlerde kayda değer bir artış göstermezken fosfor eksikliğinde yaklaşık 70 kat artmıştır. Çimlenme uyarıcı olarak kullanıldığında ise, fosfor eksikliğindeki kök salgısının çok düşük miktarlarının (0,5 μ M) *O. minor* bitkisinin tohum çimlenmesini etkilediği, kontrol grubunun kök salgısının ise daha yüksek konsantrasyonlarda (50 μ M) etkilediği belirlenmiştir. Son olarak, farklı fosfor konsantrasyonları içeren kültürler ile fosfor içermeyen kültürlerin kök salgıları incelendiğinde, fosfor içermeyenlerde 20 kat daha fazla orobanşol bulunduğu belirlenmiştir. Tüm bu sonuçlara göre, bitkilerin kök salgılarındaki SL içeriğinde fosfor elementinin etkisi olduğu düşünülmektedir (Yoneyama ve diğ., 2007a).

CCD7 ve CCD8 enzimlerinin SL biyosentezinde görev alan karotenoid ile ilgili enzimler olduğu düşünülmektedir. SL içermeyen mutant *Pisum sativum ccd8* bitkisinin kök salgısı yabancı türün kök salgısı ile karşılaştırıldığında, mantar hifi dallanmasının ve *Orobanch* tohum çimlenmesinin önemli ölçüde azaldığı saptanmıştır. *G. margarita* mantarı ile *P. sativum ccd8* bitkisinin simbiyotik ilişkisine bakıldığında yabancı türe göre kök kolonizasyonunda da azalma olduğu gözlenmiştir. *P. sativum ccd8* bitkisine eksojen olarak uygulanan GR24 ile hifi dallanmasında, *Orobanch* tohum çimlenmesinde ve kök kolonizasyonunda artış olduğu belirlenmiştir. Eksojen uygulanan GR24, kök kolonizasyonunda yabancı türe etki etmemiştir. Yabancı tür, mutant *ccd8* ve mutant *rms4* kök salgılarının analizi yapıldığında, yabancı tür ve mutant *rms4* kök salgılarında SL saptanırken, mutant *ccd8*'de saptanamamıştır (Şekil 2.9). *P. sativum* bitkisindeki CCD8 enziminin, SL içeriği ile AM etkileşimini kontrol ettiği belirlenmiştir. Ayrıca, eksojen uygulanan GR24 ile mutant *ccd8* bitkisinin tomurcuk büyümesi artarken, mutant *rms4* bitkisine uygulan GR24'ün tomurcuk büyümesinde etkili olmadığı, sürgün dallanmasını inhibe ettiği (Şekil 2.10) ve sonuç olarak SL'nin bitki yapısını kontrol ettiği saptanmıştır (Gomez-Roldan ve diğ., 2008).

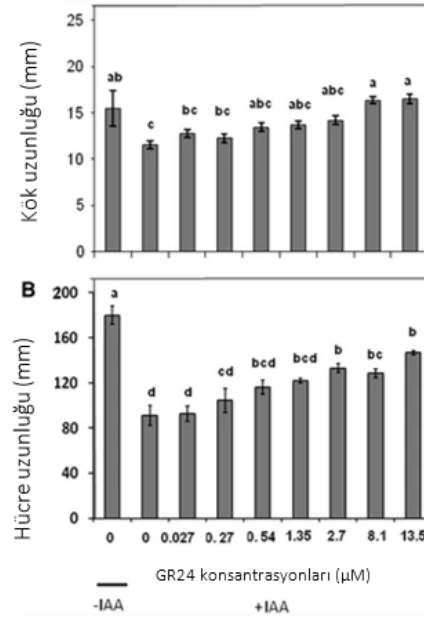


Şekil 2.9: *Pisum sativum ccd8* mutant bitkisinin kök salgısı, yabani tür ve *rms4* bitkilerinin kök salgısı ile karşılaştırıldığında SL bulunamamıştır (Gomez-Roldan ve diğ., 2008).

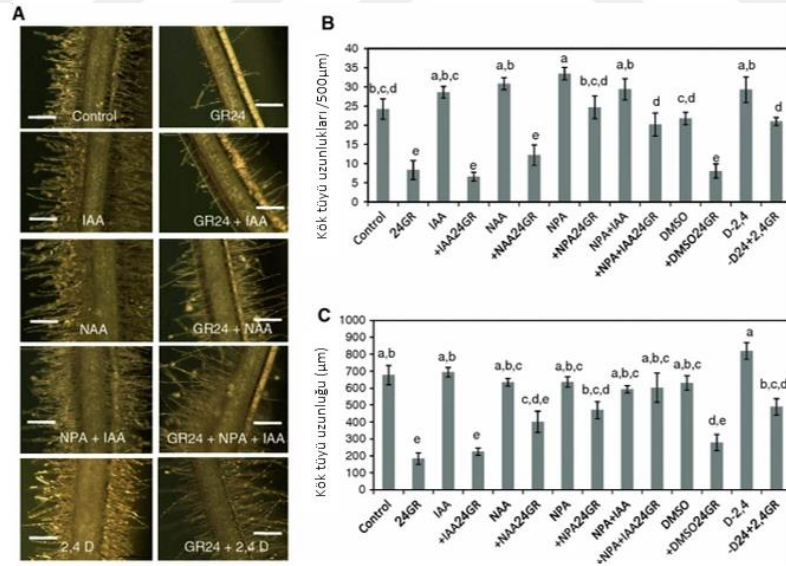


Şekil 2.10: GR24'ün sürgün büyümesini inhibe ettiğini gösteren grafik (Gomez-Roldan ve diğ., 2008).

SL'nin, oksin akış taşıyıcılarını etkileyen ve böylelikle kök hücrelerinden oksin akışını düzenleyerek kök büyümesi ve gelişiminde etkili bir çok mekanizmanın olabileceği düşünülmektedir. *Solanum lycopersicon* ile çalışılan bir deneyde eksojen uygulanan belli konsantrasyonlardaki indol asetik asit (IAA), NPA, diklorofenoksiasetik asit (2,4.-D) ve GR24 ile bitki kök büyüme ve gelişimi incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre eksojen uygulanan IAA hormonu kök ve kök hücre uzamasını engellerken, aynı sisteme uygulanan GR24 ile bu durumu elimine ettiği gözlenmiştir (Şekil 2.11). GR24'ün yüksek konsantrasyon (27 μ M) uygulamasında domates bitkisinin kök ucunda asimetrik hücre uzaması gözlenmiştir ve eksojen uygulanan IAA bu durumu ortadan kaldıramamıştır. Böylece kökler anormal gravitropik yanıt vermişlerdir. Oksin bitki hormonu anormal gravitropik yanıt gibi kök asimetrik büyümesini düzenlediği fakat yüksek konsantrasyondaki GR24 varlığında bunu yapamadığını ve böylece SL'nin oksin taşınmasını etkilediği belirlenmiştir. Bu etkinin kök hücrelerinde taşınan oksin hormonuna doğrudan değil, oksin akış taşıyıcılarına karşı olduğu düşünülmektedir. Aynı sistemi naftalen asetik asit (NAA) ve GR24 ile denediklerinde tekrardan aynı sonuçları elde etmişlerdir. SL'nin sadece kök ve kök hücre uzamasına değil aynı zamanda kök tüylerine karşı da etkili olduğu gözlenmiştir. Hem birlikte hem de ayrı ayrı uygulanan IAA, NAA, 2,4-D, GR24 hormonlarının ve NPA'nın (oksin akış inhibitörü) kök tüylerine olan etkisi incelenmiş ve sonuç olarak oksin hormonunun kök tüyü gelişimini teşvik ettiği fakat GR24'ün bu durumu azalttığı gözlenmiştir (Şekil 2.12). SL'nin aynı zamanda kök yapısının düzenlenmesinde de etkili olduğu saptanmıştır (Koltai ve diğ., 2010).



Şekil 2.11 *Solanum lycopersicon* bitkisine uygulanan 10^{-8} M IAA ve belli konsantrasyonlardaki GR24'ün bitki kök ve kök hücre uzunluğuna olan etkileri (Koltai ve diğ., 2010).



Şekil 2.12: Eksojen olarak uygulanan IAA, NAA, 2,4-D, GR24 hormonlarının ve NPA'nın (oksin akış inhibitörü) kök tüylerine olan etkisi (Koltai ve diğ., 2010).

Song ve diğ. (2019) *Monoraphidium* sp. QLY-1 yeşil mikroalgin biyokütlesi, lipid içeriği ve biyokimyasal özelliği üzerinde SL'nin etkisini araştırmışlardır. Hücre büyümesinin ve lipid akümülayonunun düzenlenmesinde kalsiyum (Ca^{+2}) ve NO (nitrik oksit) arasındaki ilişki SL etkisi atında incelenmiştir. Ca^{+2} ve NO, mikroalglerde hücresel büyümeyi, metabolit akümülayonunu ve oksidatif stresi düzenleyen endojen ikincil mesajcılardır. SL, *Monoraphidium* sp. QLY-1'deki NO ve Ca^{+2} ile lipid biyosentez gen transkripsiyonun seviyesini arttırdığı saptanmıştır Ca^{+2} ve NO sinyali arasındaki SL kaynaklı hücresel crosstalk, bu algde lipid üretimini arttırmıştır. Analiz sonuçlarına göre, SL'nin çok düşük konsantrasyonda (0,2 μM) uygulanması kontrol grubuna göre en yüksek biyokütleyi oluşturmuş, ve kuru ağırlıktaki lipid içeriği tüm konsantrasyonlarda yaklaşık 1,5 kat artmıştır (Tablo 2.4). Lipid artışına ek olarak klorofil, karbonhidrat ve protein içeriği artışı da gerçekleşmiştir. Bunların yanı sıra 1 μM konsantrasyondaki SL, lipid biyosentezi ile ilişkili, *rbcL* (Ribuloz 1,5-bifosfat karboksilaz), *pepc* (Fosfatenolpirüvat karboksilaz), *me* (Malik enzim) ve *accD* (Acetil-CoA karboksilaz beta subunit) genlerinde artışa sebep olmuştur. Sonuç olarak eksojen uygulanan SL hem Ca^{+2} ve NO hem de lipid biyosentez genlerine etki ederek *Monoraphidium* sp. QLY-1 suşunda biyokütle ve lipid içeriği artışına neden olmuştur.

Tablo 2.4: SL'nin *Monoraphidium* sp. QLY-1 alg biyokütlesi ve lipid içeriği üzerine etkisi (Song ve diğ., 2019)

Uygulamalar	Biyokütle konsantrasyonu (g/L)	Biyokütle verimliliği (mg/L/d)	Lipid içeriği (%DW)	Lipid verimliliği (mg/L/d)
Control	0.89 ± 0.04	127.51 ± 2.89	38.12 ± 0.85	48.61 ± 2.64
0.2 µM SL	0.95 ± 0.05	135.64 ± 3.12	37.96 ± 2.18	51.49 ± 2.78
1 µM SL	0.91 ± 0.01	130.54 ± 2.51	48.76 ± 1.12 ^{***}	63.65 ± 2.65 ^{***}
5 µM SL	0.89 ± 0.11	126.88 ± 1.99	40.07 ± 3.01	50.84 ± 1.98

Monoraphidium sp. QLY-1 suşu ile SL uygulaması ile azot eksikliği (ND) parametreleri altında lipid biyosentezi ile jasmonik asidin (JA) hücre büyüme düzenlenmesindeki rolü araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında biyokütledeki lipid içeriği, SL uygulaması ile kombine olan ND'de 1,29 kat attığı saptanmıştır. Buna ek olarak SL ile ND kombinasyonu altında eksojen uygulanan JA en yüksek lipid içeriğine ve verimliliğine neden olmuştur (Song ve diğ., 2020).

C. vulgaris ile yapılan çalışmada farklı konsantrasyonlarda GR24 kullanılarak büyüme ve gelişim incelenmiştir. 10^{-7} M GR24 uygulanan kültürde maksimum büyüme oranı ve algler için ortalama günlük verimlilik incelenmiştir. Ayrıca aşırı derecede olmayan GR24 konsantrasyonlarında mikroalglerin fotosentetik performanslarını arttırabildiği gözlemlenmiştir. Ayrıca, GR24 klorofil-*a* içeriğini ve hücre içi karbonik anhidraz aktivitesini etkilemiştir. En yüksek kimyasal oksijen gereksinimi, total CO₂ ve azot uzaklaştırma yeteneği 10^{-7} M GR24 uygulanan kültürde gerçekleşmiştir. Bunun dışında en yüksek total fosfor uzaklaştırma 10^{-9} M GR24 uygulamasında görülmüştür. CO₂ ve nutrient uzaklaştırma yeteneği ele alındığında 10^{-9} M ile 10^{-7} M GR24'ün optimal konsantrasyon olduğu belirlenmiştir (Shen ve diğ., 2020).

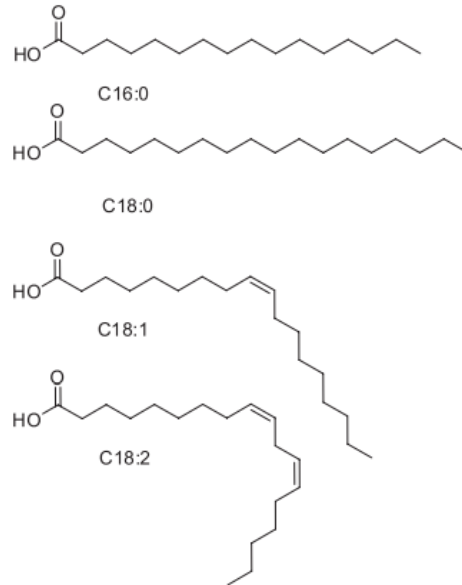
C. vulgaris ile aktif çamur simbiyont kültüründe farklı konsantrasyonlardaki GR24'ün etkileri incelenmiştir. 10^{-9} M GR 24 konsantrasyonu mikroalgde optimum büyüme sağlamıştır. Bunun yanı sıra fotosentetik performansına da katkı sağladığı belirlenmiştir (Zhang ve diğ., 2021b)

SL'nin yüksek bitkiler ve mikroalgler üzerindeki etkileri hakkında çeşitli çalışmalar yapılmaktadır (Yoneyama ve diğ., 2007b; Gök, 2018; Aflaki, 2019; Önay, 2019; Özbilen, 2019).

2.3 LİPİDLER

Lipidler, hücre duvarını oluşturan, insan sağlığı ve hayvancılıkta önemli görevleri olan biyolojik moleküllerdir. Lipidler suda hiç çözünmez ya da çok az miktarda çözünür (Reece ve diğ., 2011). Yağ asitleri, hidrokarbon zinciri ve tekli karboksil grubu taşıyan bir bileşik grubudur ve lipidlerin başlıca yapı taşlarındandır (Şekil 2.13). Yağ asitlerinin başlıca üç önemli görevi vardır: (1) bazı yağ asitleri ve bunların türevleri, çeşitli etki ve işlevleri olan sinyal molekülü işlevi görürler, (2) hücre zarının akışkanlığını düzenleyerek hücre zarının yapı taşlarını oluşturur, (3) polar olmayan veya nötr lipidlerdeki yağ asitleri enerji ve karbon kaynağı olarak kullanılabilir (Lippmeier, 2007).

Yağ asitleri doymuş ve doymamış olmak üzere iki gruba ayrılır. Doymuş yağ asitlerinin karbon atomları arasında tek bağ bulunurken, doymamış yağ asitleri en az bir çift bağ içerirler. Böylece doymamış yağ asitleri kimyasal reaksiyonlarda daha yüksek reaktivite gösterir. Palmitik asit (C16:0) ve stearik asit (C18:0) doymuş yağ asitlerine örnektir. Doymamış yağ asitlerinden oleik asit (C18:1) tek bir çift bağ içerdiğinden tekli doymamış yağ asidi (MUFA), linoleik asit (C18:2) ve α -linoleik asit (C18:3) birden fazla çift bağ içerdiğinden çoklu doymamış yağ asidi (PUFA), araşidonik asit (C20:4) ve dokosaheksaenoik asit (C22:6) ise uzun zincirli çoklu doymamış yağ asidi (LC-PUFA) adını alır (Pairohakul, 2013).



Şekil 2.13: Bazı yağ asitlerinin moleküler yapısı (Braun ve diğ., 2017).

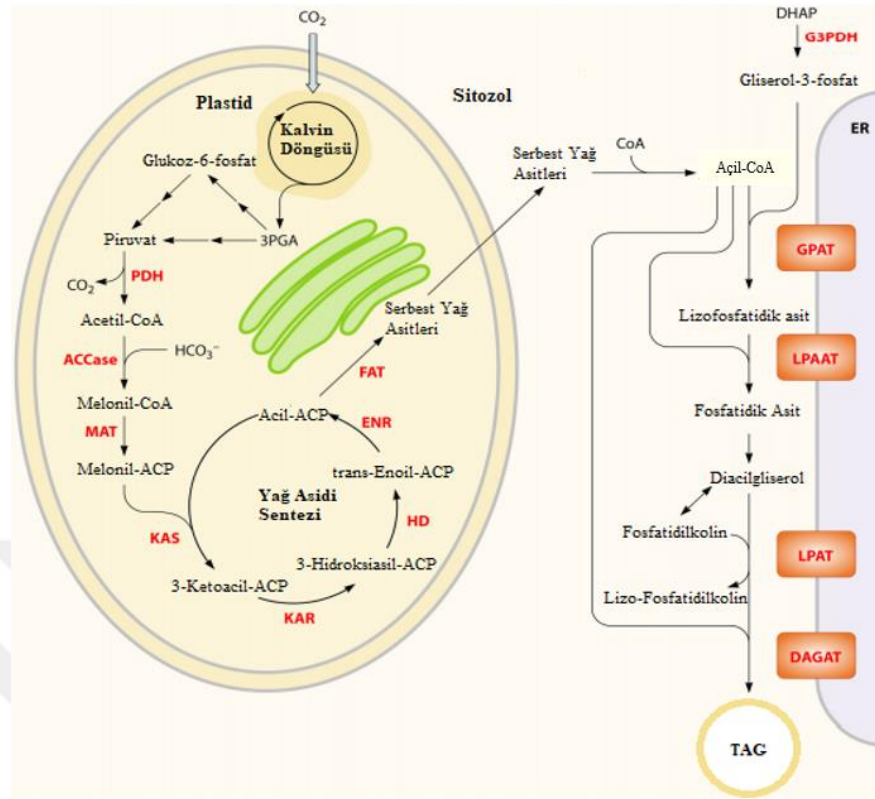
Lipidler, endüstriyel alanlarda da önemli yer tutarlar. Bu alanlardan biri biyodizeldir ve biyodizel üretiminde hayvan, bitki ve mikroalglerin içerdiği lipidler kaynak olarak kullanılır (Vasudeyan ve Briggs, 2008). Bu tür alanlarda mikroalglerin daha fazla tercih edilmesinin nedenleri yüksek büyüme hızları ve biyokütle üretimidir (Widjaja, Chien ve Ju, 2009; Lee ve diğ., 2010).

Mikroalglerin yağ asidi kaynağı olarak kullanımının yaygınlaşması, stres koşullarına bağlı olarak bazı alglerin biyokütlelerinin %60'ının lipidlerden oluşması ve tüm biyokütlelerinin kullanılabilmesidir. Bu nedenle, biyodizel üretiminde mikroalglerin önemli bir yeri vardır ve kültür bitkilerine kıyasla daha verimli oldukları için yenilenebilir enerji kaynağı olarak görülmektedir (Chisti, 2007; Blatti, Michaud ve Burkart, 2013). Mikroalglerde lipid içeriği ve üretimi azot eksikliği, fosfat kullanılabilirliği, demir içeriği, ışık şiddeti ve artan tuzluluk oranı gibi stres koşulları ile düzenlenir (Salama ve diğ., 2013). Ancak, abiyotik stres altında yetişen kültürlerde hücre büyümesi ve biyokütle verimliliği azalabilir. Bitki büyüme ve düzenleme metabolitlerinden olan bitki hormonları kullanılarak yapılan çalışmalarda, stres koşulları altında yetiştirilen kültürlerin lipid içeriğinin arttığı ve hücre büyümesi, biyokütle verimliliği ile fotosentez performansının düzenlendiği gözlenmiştir (Zhao ve diğ., 2019).

2.3.1 Lipid Biyosentezi

Yağ asidi biyosentezi günümüze kadar hayvanlar ve bitkilerle nitelendirilmiştir. Algal biyosentez yolağı, bu sistemlerle teorik olarak benzeştirilerek çıkarım yapılmıştır (Blatti, Michaud ve Burkart, 2013). Yağ asidi sentezinde birçok yağ asidi sentaz enzimi (FAS) kullanılmaktadır. Kloroplastlarda yağ asitleri, tip II yağ asidi sentaz (FAS) enzimleriyle sentezlenir. Bu enzimler, tekrarlı yolda büyüyen bir yağ asidini iki karbon birimiyle katalitik olarak uzatır. Bu işlem Asetil-CoA karboksilaz (ACCCase) enziminin, Asetil-CoA'yı malonil-CoA'ya dönüştürmesiyle başlar. Ardından malonil-CoA:ACP transakılaz (MAT) enzimiyle malonil-ACP; 3-ketoaçıl-ACP sentaz (KAS) enzimi ile 3-ketoaçıl-ACP'ye dönüşerek yağ asidi sentez döngüsü başlar (Şekil 2.14) (Ohlrogge ve Browse, 1995; Radakovits ve diğ., 2010; Blatti, Michaud ve Burkart, 2013).

Tiyoesteraz enzimi (FAT) açıl-ACP hidrolizini katalizleyerek kloroplastın dışında tekrar aktive olabilen serbest yağ asitleri üretilir (Cagliari ve diğ., 2011).



Şekil 2.14: Mikroalgler lipid biyosentezi (ACCCase: asetil-CoA karboksilaz; ACP: asetil taşıyıcı protein; CoA: koenzim A; DAGAT: diacylglicerol aciltransferaz; DHAP: dihidroksiaseton fosfat; ENR: enil-ACP reduktaz; ER: Endoplazmik Retikulum; FAT: yağ asil-ACP tioesteraz; G3PDH: gliserol-3-fosfat dehidrogeniz; GPAT: gliserol-3-fosfat aciltransferaz; HD: 3-hidroksiacyl-ACP dehidrataz; KAR: 3-ketoacyl-ACP reduktaz; KAS: 3-ketoacyl-ACP sentaz; LPAAT: lizo-fosfatidik asit asiltransferaz; LPAT: lizo-fosfatidilkolin asiltransferaz; MAT; melonil-CoA:ACP transacylaz; PDH: pirüvat dehidrogenaz kompleks; TAG: triacylglicerol)(Radakovits ve diğ., 2010).

2.3.2 Lipid ile Yapılan Bazı Çalışmalar

Yeşil alglerin biyokütlelerindeki lipid içeriğini arttırmak için yukarıda bahsedilen bazı stres koşulları ve eksojen uygulanan hormonlar ile çalışmalar yapılmıştır.

S. quadricauda ile yapılan araştırmada 1, 5, 10, 50, 100 ve 1000 nM konsantrasyonlarında IAA kullanılmıştır. 10 nM IAA konsantrasyonunda, kontrol grubuna göre, C16:0 (2,4 kat), C16:1 (3,4 kat), C18:1n9c (1,9 kat) ve C18:3n6 (2,5 kat) ve major FA (108,99 mg/g) ile total FA (130,18 mg/g) değerleri artmıştır (Kozlova, Hardy ve Levin, 2017).

Mandal ve Mallick (2009) yaptığı çalışmada *S. obliquus* mikroalgindeki lipid birikimini çeşitli kültür koşullarında incelemiştir. Kontrol grubunda yetişen mikroalglerin kuru ağırlığındaki total lipid oranı %12,7 iken, azot eksikliği olan kültürlerdeki mikroalglerin kuru ağırlığındaki lipid oranının %43'e çıktığı gözlenmiştir. Ayrıca fosfor (P) eksikliği olan kültürün, etiyosülfat takviyesiyle kuru ağırlığındaki lipid değeri %30'a ulaşmıştır. *S. obliquus* mikroalg, içerdiği palmitat ve oleat lipidlerinden dolayı biyodizel için uygun bir biyokütle sahiptir.

Yapılan bir başka araştırmada *D. tertiolecta* mikroalg model organizma olarak kullanılmış ve besinsel ihtiyaçları belirlenmiştir. Alglerde optimum büyüme için gerekli olan esansiyel elementler kobalt (Co^{2+}), demir (Fe^{3+}), Molibdenum (Mo^{2+}), mangan (Mn^{2+}) ile inorganik fosfat PO_4^{3-} şeklinde belirlenmiştir. NO_3 formundaki inorganik azot, maksimum biyokütle üretimi için gereklidir. *D. tertiolecta* mikroalginin kültür ortamındaki elementlerin tüketim konsantrasyonları günlük olarak ölçüldüğünde elde edilen sonuçlara göre besi ortamındaki fosfat konsantrasyonu %84 azalmıştır. Bunun dışında fosfat gibi bir çok metabolik süreçte yer alan demir ve molibdenumun da kültür ortamındaki konsantrasyonları azalmıştır. Bunlara ek olarak NO_3 ve amonyumun *D. tertiolecta* alg üzerine büyüme etkisine bakıldığında bu alg için ideal büyümede NO_3 'ın daha etkili olduğu belirlenmiştir. Azot eksikliğinde C16:0 ve C18:3 içerikleri artmıştır. Sonuç olarak yüksek konsantrasyonlu nitrat hücre yoğunluğunu artırır ve azot eksikliği nötral lipidlerin hızlıca birikimine neden olur (Chen ve diğ., 2011).

Renuka ve diğ. (2018), yaptıkları bir çalışmada zeatin (Z), IAA ve GA fitohormonlarının azot eksikliğinde yetiştirilen *Acutodesmus obliquus* mikroalginde lipid üretimi ve biyokütle etkisi incelenmiştir. Kayda değer biyokütle ve lipid verimliliği, azot eksikliğinde ve Z (0.5 mg L^{-1}), IAA (1.0 mg L^{-1}), GA (5.0 mg L^{-1}) kombinasyonu ile yetişen kültürde gözlenmiştir ve sırasıyla %49.07 ve % 77.20 artmıştır. Azot eksikliğinde mikroalgal biyoyakıt üretimi için, biyokütle ve lipid verimliliğinin artmasında eksojen uygulanan fitohormonların sinerjistik etkisi olduğu belirlenmiştir.

Azot eksikliği, mikroalglerin lipid içeriğini arttırmada etkili bir yöntem olsa da düşük biyokütleye neden olduğundan geniş kapsamlı uygulamadan uzaktır. Bu nedenle, başka bir çalışmada azot eksikliğinde yetişen *Scenedesmus* SDEC-8 ve *Chlorella sorokiniana* SDEC-18 mikroalglerine eksojen IBA ve NAA bitkisel hormonlarının kombinasyonu uygulanmıştır. Azot

eksikliğine rağmen alglerin yeterli bir biyokütle ile lipid verimliliğine ulaşabilmeleri açısından yardımcı olabileceği düşünülmüştür. Azot eksikliğinde yetiştirilen mikroalgere uygulanan hormon kombinasyonu ile alglerde belirlenen lipid verimliliği, sadece BG11 besi yerinde yetiştirilen grupta kontrole göre 3 kat artmıştır (Yu ve diğ., 2018). Son dönemlerde SL ile yapılan çalışmalarda total lipid ve yağ asidi içeriklerinin arttığı belirlenmiştir (Song ve diğ., 2019; Song ve diğ., 2020).



3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1 MALZEME

3.1.1 Mikroalg Suşu

Bu çalışmada *Scenedesmus obliquus* (Turpin) Kützing 276-3b suşu kullanılmıştır ve Goettingen Üniversitesi alg kültürü koleksiyonu (SAG)'ndan temin edilmiştir.

3.1.2 Bitkisel Hormon

Sentetik olarak üretilen (-)-Strigolakton GR24 (Toronto Research Chemicals, S687610) kullanılmıştır. Toz halinde bulunan hormonun çözücüsü olarak aseton-su kullanılmıştır.

3.1.3 Kültür Ortamı

Mikroalglerin yetiştirilmesinde blue-green (BG11) (HIMEDIA, M1958) besi ortamı kullanılmıştır. Bu besi ortamı farklı mikro ve makro besinler içerir ve *Scenedesmus obliquus* gibi bazı yeşil algleri yetiştirmek için uygundur (Ansari ve diğ., 2019). Pudra halinde bulunan besi ortamının içeriği Tablo 3.1'deki gibidir.

Besi ortamı, pudra halindeki 1,642 g besi maddesini, 1 L distile suda çözerek hazırlanmıştır. Elde edilen L'lik çözelti sterilize edilmeden önce 1 N NaOH ile son pH 7,1'e ayarlanmıştır (Hanna Instruments/HI2002). Hazırlanan besi ortamının sterilizasyonu, 121 °C'de 1,5 atm basınç altında 15 dakika süresince otoklavlanarak (APL) gerçekleştirilmiştir. Steril besi ortamına, oda sıcaklığına soğutulduktan sonra daha önce hazırlanan steril B12 vitamininden (HIMEDIA, PCT0204) 5 ml eklenmiştir.

Tablo 3.1: BG11 besi ortamının içeriği.

İÇERİK	GRAM/LİTRE
Sodyum nitrat (NaNO_3)	1,5
Dipotasyum hidrojen fosfat ($\text{K}_2\text{HO}_4\text{P} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$)	0,04
Magnezyum sülfat, heptahidrat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0,075
Kalsiyum klorid dihidrat	0,036
Sodyum karbonat (Na_2CO_3)	0,02
Disodyum magnezyum EDTA	0,001
Sitrik asit	0,006
Amonyum ferrik sitrat	0,006
İz element karışımı	1 ml
İz Elementler	
Borik asit (H_3BO_3)	2,86
Manganez klorid, tetrahidrat ($\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)	1,81
Çinko sülfat, heptahidrat ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0,222
Sodyum molibdat, dihidrat ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	0,39
Bakır sülfat, pentahidrat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	0,079
Kobalt nitrat, heksahidrat ($(\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O})$)	0,0494

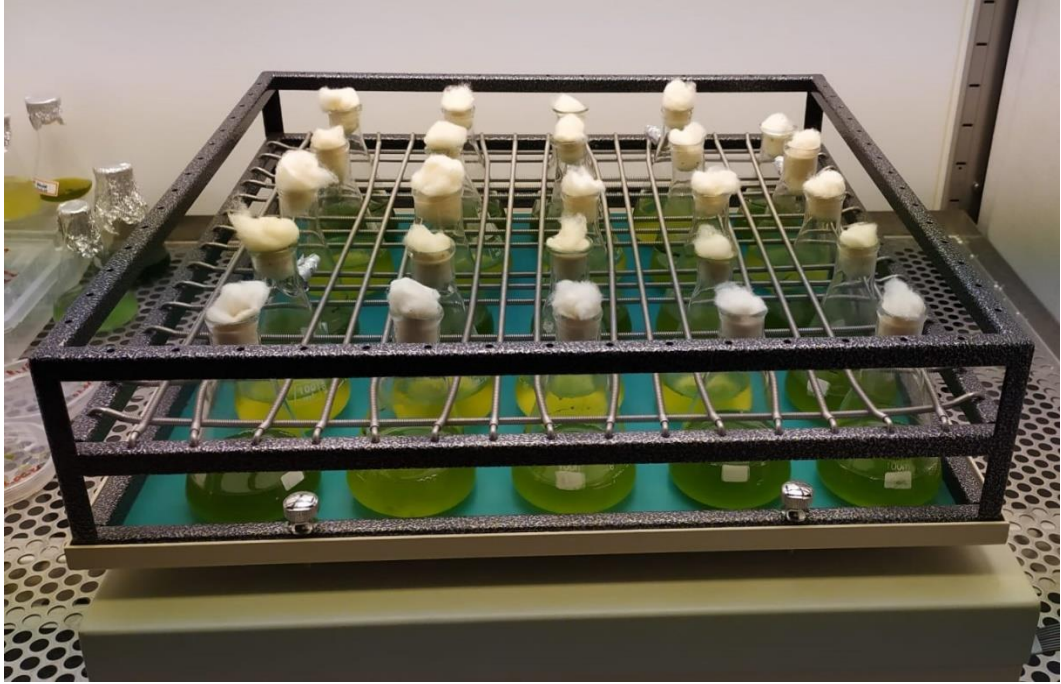
Hazırlanan besi yeri 250 ml steril balon jojelere aktarılmıştır ve son konsantrasyonları 10^{-8} M, 10^{-6} M ile 10^{-4} M GR24 olacak şekilde strigolakton hormonu uygulanmıştır. Kontrol grubuna strigolakton hormonunun çözücüsü aseton uygulanmıştır.

Her uygulama üç kez tekrar edilmiştir.

3.2 YÖNTEM

3.2.1 Yetiştirme Ortamı

GR24 ve B12 vitamini içeren steril besi ortamı 24 adet steril erlenmayere, her birinde 30 ml besi yeri olacak şekilde uygulanmıştır. Mikroalgler, kültürün OD₆₈₀'i 0,1 olacak şekilde besi yerine eklenmiştir. Vöstch marka bitki yetiştirme kabini kullanılarak erlenler dış üniteli çalkalayıcıda (N-Biotek) 160 rpm hızda, sıcaklık 25 °C, nem oranı %65 ve ışık şiddeti 16.000 lux'da yetiştirilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1: *S. obliquus* suşunun yetiştirme ortamı.

3.2.2 Gelişim Analizi

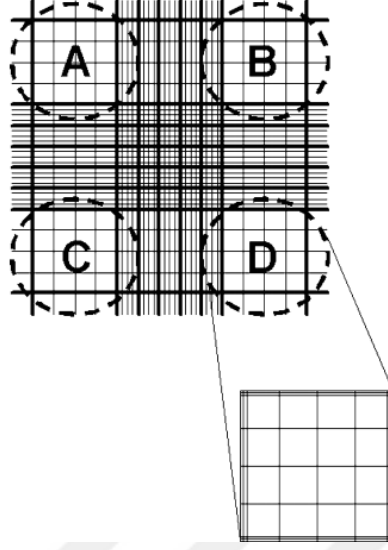
Deney boyunca kültürlerden alınan örneklerin, hücre sayısı, hücre yoğunluğu, biyokütlesi ve büyüme hızı hesaplanarak gelişim analizi yapılmıştır.

3.2.2.1 Hücre Büyümesinin Hesaplanması

Hücre büyümesi spektrofotometrede (Elisa Microplate Reader, Biotek/Epoch) OD₆₈₀ dalga boyunda her gün ölçülerek hesaplanmıştır.

3.2.2.1 Hücre Sayısının Hesaplanması

Bu çalışmada hücre sayımı için manuel hemositometri yöntemi uygulanmıştır (Şekil 3.2). Ölçümler 2 günde bir yapılmıştır. Hemositometri lamı (Isolab) 0,1 mm derinliğindedir ve 4 köşe bölgesi genel olarak canlı hücre sayımında kullanılan özel bir lamdır. Bu köşe bölgelerin her biri 1 mm x 1 mm boyutunda ve dörde dört düzeninde, 16 küçük kareye bölünmüştür. Bu 4 köşenin her birinin hacmi böylece 0,1 mm³ veya 1x10⁻⁴ ml'dir (Louis ve Siegel, 2011).



Şekil 3.2: 10x objektif ile odaklanmış hemositometre lamı (Louis ve Siegel, 2011).

Deney süresince ml'deki hücre sayısı (3.1) formülü ile hesaplanmıştır.

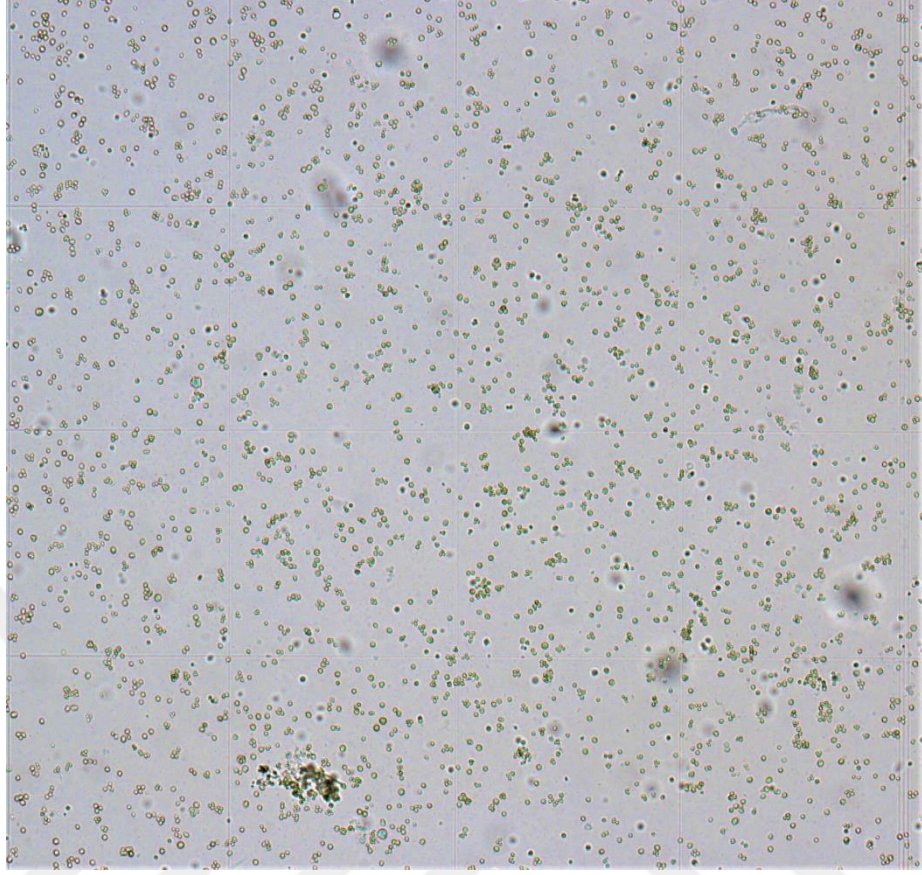
$$\text{Hücre sayısı (hücre/ml)} = (A / 4) \times 10^4 \times D \quad (3.1)$$

A = 16 küçük kare içeren 4 karedeki toplam hücre sayısı.

D = Seyreltme faktörü. (Bu çalışmada kültür süspansiyonunu seyreltmek için hiçbir şey kullanılmadığı için seyreltme faktörü 1 olarak hesaplanır.)

10^4 ml = 4 köşeli karenin hacmi.

Hücre sayım programı (MATLAB R2018A) kullanılarak ışık mikroskopundan (Zeiss Axioscope A1) alınan görüntülerde hücre sayısı hesaplanmıştır (Şekil 3.3).



Şekil 3.3: Hücre sayımı için kullanılan *S. obliquus* hücreleri görüntüsü

3.2.2.2 Biyokütlenin Hesaplanması

Her bir erlenden alınan 1 ml alg kültürü 70 °C'lik etüvde (Heraeus) 48 saat bekletilerek kuru ağırlıkları hassas terazide (Sartorius) tartılmıştır. Ölçümler 2 günde bir tekrarlanmıştır.

3.2.3 Total Karotenoid ve Klorofil a/b Analizi

Her bir erlenden 1,25 ml alg kültürü alınarak 15 ml'lik eppendorflara konulmuştur. 5000 rpm'de ve 4 °C'de 10 dakika santrifüj (Beckman Coulter) edildikten sonra süspansiyon uzaklaştırılarak pelletlere 2,5 ml %100 metanol uygulanmıştır. Elde edilen ekstratlar ultrasonik su banyosunda (Kudos / HP_heating) 5 dakika süreyle tutulmuştur. Alg solüsyonu -20 °C'de bir gece bekletilip oda sıcaklığına getirildikten sonra spektrofotometre ile klorofil a/b (OD_{652} ve OD_{669} ve total karotenoidler (OD_{470}) ölçülmüştür. Alg solüsyonundaki klorofil a/b ve total karotenoid konsantrasyonları aşağıdaki formüller ile hesaplanmıştır (Lichtenthale ve Buschmann, 2001). Ölçümler 2 günde bir yapılmıştır.

$$c_a(\mu\text{g/ml}) = 16,72 OD_{665} - 9,16 OD_{652} \quad (3.2)$$

$$c_b(\mu\text{g/ml}) = 34,09 OD_{652} - 15,28 OD_{665} \quad (3.3)$$

$$c_{(x+c)}(\mu\text{g/ml}) = (1000 OD_{470} - 1,63* c_a - 104,96*c_b)/221 \quad (3.4)$$

c_a : Klorofil-a

c_b : Klorofil-b

$c_{(x+c)}$: Total karotenoid

3.2.4 Total Lipid Analizi

Kuru mikroalgal hücrelerden total lipid elde etmek için Bligh and Dyer metodu modifiye edilerek uygulanmıştır (Bligh ve Dyer, 1959; Salama ve diğ., 2014). 40 mg kuru alg, 2,5 ml kloroform ve 5 ml metil alkol (1:2 v/v) ile karıştırılarak 20 dakika ultrasonikasyon (Bandelin) uygulanmıştır. Daha sonra örneğe 2,5 ml kloroform ve 2,5 ml distile su eklenmiştir. Faz ayrımı için önce 2 dakika vorteks, ardından 3900 rpm ve 4 °C’de 10 dakika süreyle santrifüj yapılmıştır. Faz ayrımı oluşan falkondan kloroform fazı alınarak tüpe aktarılmıştır. Geriye kalan ekstrakta tekrardan 1,25 ml kloroform ve 2,5 ml metanol (1:2 v/v) ve faz ayrımı için 3,75 ml distile su uygulanmıştır. Yukarıda belirtilen adımlar tekrardan uygulanarak kloroform fazları birleştirilmiştir. Kloroform fazı şırınga yardımı ile 0,20 µm’lik membrandan geçirilerek temiz bir tüpe aktarılmış ve kloroform tamamen uçana kadar 104 °C’lik etüvde bekletilmiştir. Kloroform tamamen uçtuktan sonra tüplere 3 ml hekzan eklenerek 1 dakika süreyle sonikatörde (Bandelin) total yağ hekzan içinde çözündürülmüştür. Önceden darası alınmış tüplere tekrardan 0,20 µm’lik membrandan şırınga yardımı ile geçirilerek hekzan ekstraksiyonu tamamen uçana kadar 104 °C’lik etüvde bekletilmiştir.

Hekzan tamamen uçtuktan sonra tüpler hassas terazide tartılarak total lipid miktarı aşağıdaki formül ile yüzdelik değer olarak hesaplanmıştır (3.5):

$$\% \text{ Lipid Miktarı} = [(M - M_0) / m] \times 100 \quad (3.5)$$

M: Ekstraksiyon sonrası kabın ağırlığı (mg)

M₀: Kabın darası (mg)

m: Örnek ağırlığı (mg)

3.2.5 Yağ Asidi Metil Esterlerinin Hazırlanması

Bligh ve Dyer (1959) ile Salama ve diğ. (2014) 'a göre izole edilen total lipid örneklerine metil alkol içerisinde % 3,5 H_2SO_4 içerecek şekilde hazırlanan çözücünden 5 ml eklendi. Bandelin marka MS72 model ultrasonik homejenizatör kullanılarak 20 dakika homojenize edildi. Homojenizasyon sonrası manyetik karıştırıcı kullanılarak 65 °C'de 2,5 saat süre ile balık yardımı ile metil esterifikasyon yapıldı. Daha sonra faz ayrımı ve izolasyon için 2 ml hekzan ve 5 ml ultra saf su eklenerek vorteks edildi. Santrifüj yapılarak hekzan fazı alındı ve GC-MS analizine kadar +4 °C'de bekletildi.

3.2.6 GC-MS Analizi

GC-MS analizi için Agilent 7890 GC-5975C MSD (Agilent Technologies, Wilmington, DE, ABD) sistemi kullanıldı. HP-88 (100 m x 0,2 mm x 0,2 μm , Agilent Technologies) kapiler kolonunda 38 adet yağ asidi standart karışımının ayrılması sağlandı. Enjeksiyon hacmi, 20:1'lik bir split oranı ile 1 μl olarak kullanıldı. İnlet sıcaklığı 250 °C belirlenerek elektron iyonizasyonu (EI) kullanıldı. Analizler, MS source 230 °C 'de ve MS quadrapole 150°C'de tutularak m/z oranı 40–440 amu (atomik kütle birimi) aralığında tarama modunda gerçekleştirilmiştir. Fırın sıcaklık programı, HP-88 kolonu için 120 °C /dk 1 dakika tutuldu, 10 °C artışlar ile 175 °C'de 10 dakika beklendi, 5 °C artışlar ile 210 °C'de 5 dk tutuldu ve yine 5 °C artışlar ile 240 °C'de 3 dakika tutuldu. Başınç akışı 300 kPa olarak uygulandı. Helyum, 2 mL/dk'lık bir akışla (sabit akış modu) taşıyıcı gaz olarak kullanıldı. Veriler, MSD ChemStation sürüm G1701EA (Agilent teknolojileri) tarafından işlendi.

3.2.7 Yağ Asitleri Standart Karışımı ve Kalibrasyon Değeri

GS-MS analizi için kullanılan yağ asitleri standart karışımı (Supelco 37 FAME mix ve xx Stearidonik Asit Standartı), yağ asitlerinin tutunma süreleri hesaplanabilmesi için kapiler kolonunda ayrılmıştır. Kullanılan 38 adet yağ asidi listesi, tutunma süreleri ve kalibrasyon ağırlıkları aşağıdaki tabloda gösterilmiştir (Tablo 3.2).

Tablo 3.2: GC metodunda kullanılan yağ asidi standart listesi.

Yağ Asidi Adı	Formülü	Tutunma Süresi	Kalibrasyon Ağırlığı (ppm)
Bütirik Asit	C4:0	6,154	1-40
Kaproik Asit	C6:0	6,572	1-40
Kaprilik Asit	C8:0	7,298	1-40
Kaprik Asit	C10:0	8,432	1-40
Undekanoik Asit	C11:0	9,164	1-20
Laurik Asit	C12:0	10,019	1-40
Tridekanoik Asit	C13:0	11,014	1-20
Miristik Asit	C14:0	12,192	1-40
Miristoleik Asit	C14:1	13,273	1-20
Pentadekanoik Asit	C15:0	13,613	1-20
Cis-10-Pentadekanoik Asit	C15:1	14,95	1-20
Palmitik Asit	C16:0	15,361	1-60
Palmitoleik Asit	C16:1	16,734	1-20
Margarik Asit	C17:0	17,498	1-20
Heptadekanoik Asit	C17:1	18,91	1-20
Stearik Asit	C18:0	19,648	1-40
Elaidik Asit	C18:1n9t	20,445	1-20
Oleik Asit	C18:1n9c	20,823	1-40
Linolelaidik Asit	C18:2n6t	21,707	1-20
Linoleik Asit	C18:2n6c	22,514	1-20
Arakidik Asit	C20:0	23,567	1-40
γ -Linolenik Asit	C18:3n6 (GLA)	23,656	1-20
α -Linolenik Asit	C18:3n3	24,372	1-20
Cis-11-Eikosanoik Asit	C20:1n9	24,628	1-20
Heneikosilik Asit	C21:0	25,441	1-20
Stearidonik Asit	C18:4n3 (SDA)	25,655	0,5-50
Eikosadienoik Asit	C20:2	26,347	1-20
Behenik Asit	C22:0	27,463	1-40
Dihomo- γ -Linolenik Asit	C20:3n6	27,649	1-20
Cis-11,14,17-Eikosatrienoik Asit	C20:3n3	28,677	1-20
Araşidonik Asit	C20:4n6 (ARA)	28,677	1-20
Erusik Asit	C22:1n9	28,674	1-20
Trikosanoik Asit	C23:0	29,622	1-20
Cis-13,16-Dokosadienoik Asit	C22:2n6	30,620	1-20
Eikosapentaenoik Asit	C20:5n3 (EPA)	30,887	1-20
Lignoserik Asit	C24:0	31,587	1-40
Nervonik Asit	C24:1	32,678	1-20
Dokosaheksaenoik Asit	C22:6n3 (DHA)	35,389	1-20

3.2.8 İstatistiksel Hesaplamalar

Tez çalışmasında elde edilen veriler değerlendirilirken, istatistiksel analiz için GraphPad Prism 8.4.3 ve Microsoft Excel 2016 programları kullanılmıştır.



4. BULGULAR

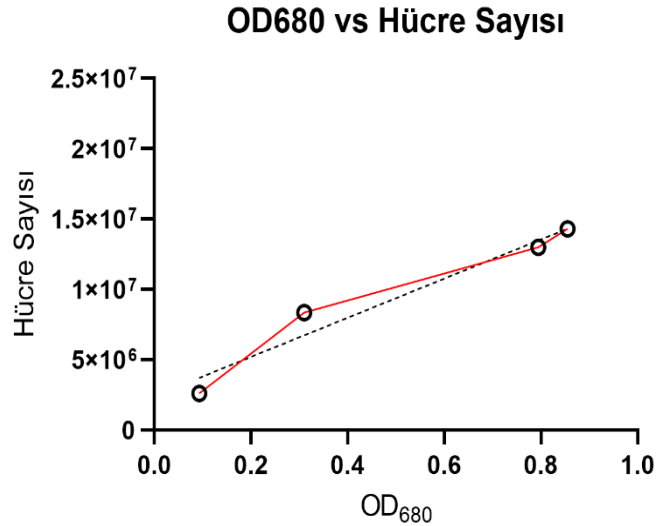
BG11 besi yerine farklı konsantrasyonlarda GR24 (10^{-8} M, 10^{-6} M ve 10^{-4} M) uygulanarak 10 gün süreyle yetiştirilen *S. obliquus* mikroalginde klorofil, total karotenoid, total yağ, total protein, total karbonhidrat analizleri yapılmış ve bulgular aşağıda gösterilmiştir:

4.1. GR24'ÜN ALGAL BÜYÜME VE GELİŞİME ETKİSİ

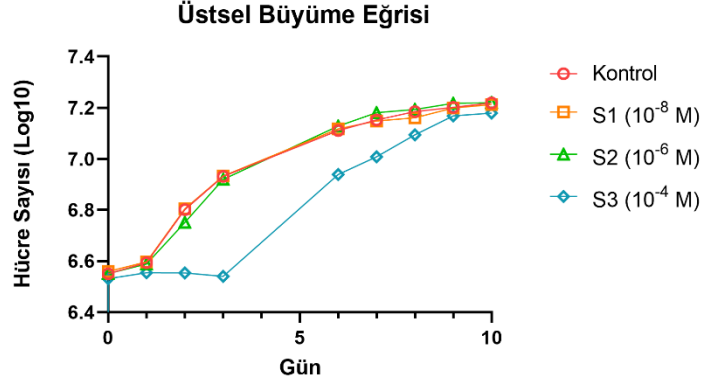
4.1.1. GR24'ün Algal Büyümeye Etkisi

GR24'ün *S. obliquus* mikroalg biyokütlesi üzerine olan etkisi günlük spektrofotometrik ölçüm ile hücre sayımı ve yetiştirme ortamından alınan taze örneklerin kurutulması ile hesaplanmıştır. Aşağıdaki grafiklerde 10 günlük deney sürecindeki büyüme istatistiksel olarak hesaplanıp gösterilmiştir (GraphPad Prism 8.4.3).

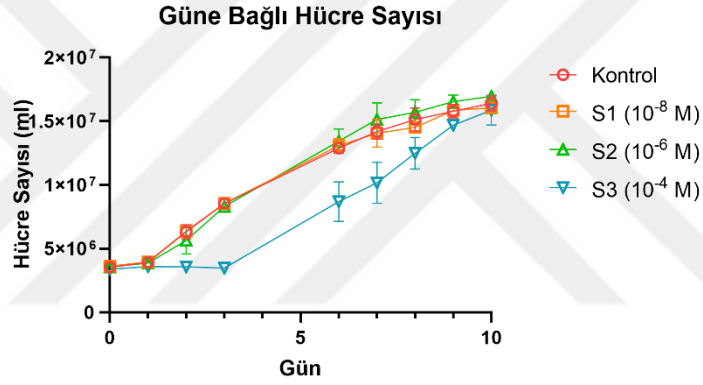
Günlük hücre sayısının dağılım grafiği formül ile hesaplanarak görselleştirilmiştir (Şekil 4.1). ($Y = 13921958 \cdot OD_{680} + 2406441$, $R^2=0,9518$)



Şekil 4.1: Hücre sayısının dağılım grafiği ile hesaplanması.



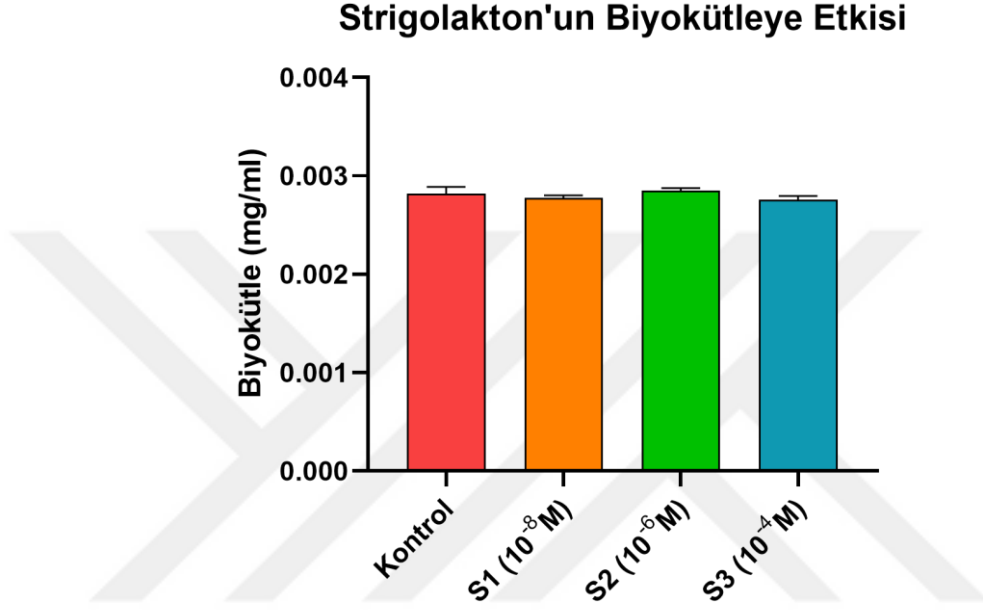
Şekil 4.2: Hücre sayısının güne bağlı üstsel büyüme eğrisi (GraphPad Prism 8.4.3).



Şekil 4.3: GR24'ün güne bağlı hücre sayısına etkisi (GraphPad Prism 8.4.3).

Yapılan ölçümlerin sonucu olarak kontrol grubu ve S1 ile S2 gruplarındaki hücre sayısı S3 grubuna göre fazlalık göstermektedir. Hemen hemen tüm gruplar 8. günden sonra durağan faza girmiştir. En çok hücre sayısı S2 grubunda gözlenmiştir ($1,659 \times 10^7$). 10. günde S1 ve S3 gruplarının hücre sayısı kontrol grubuna göre sırasıyla 0,97 ve 1,04 kat azalmıştır. Elde edilen verilere göre hücre sayısı bakımından en iyi sonuç 10^{-6} M GR24 konsantrasyonundaki kültürde gözlenmiştir (Şekil 4.2 ve Şekil 4.3).

Deney sırasında kontrol ve deney gruplarından alınan 1 ml'lik yaş örnekler etüvde kurutularak biyokütle miktarlarındaki değişim hesaplanmıştır. Biyokütle üzerine standart eğriler hesaplanarak aşağıdaki grafik oluşturulmuştur (Şekil 4.4).



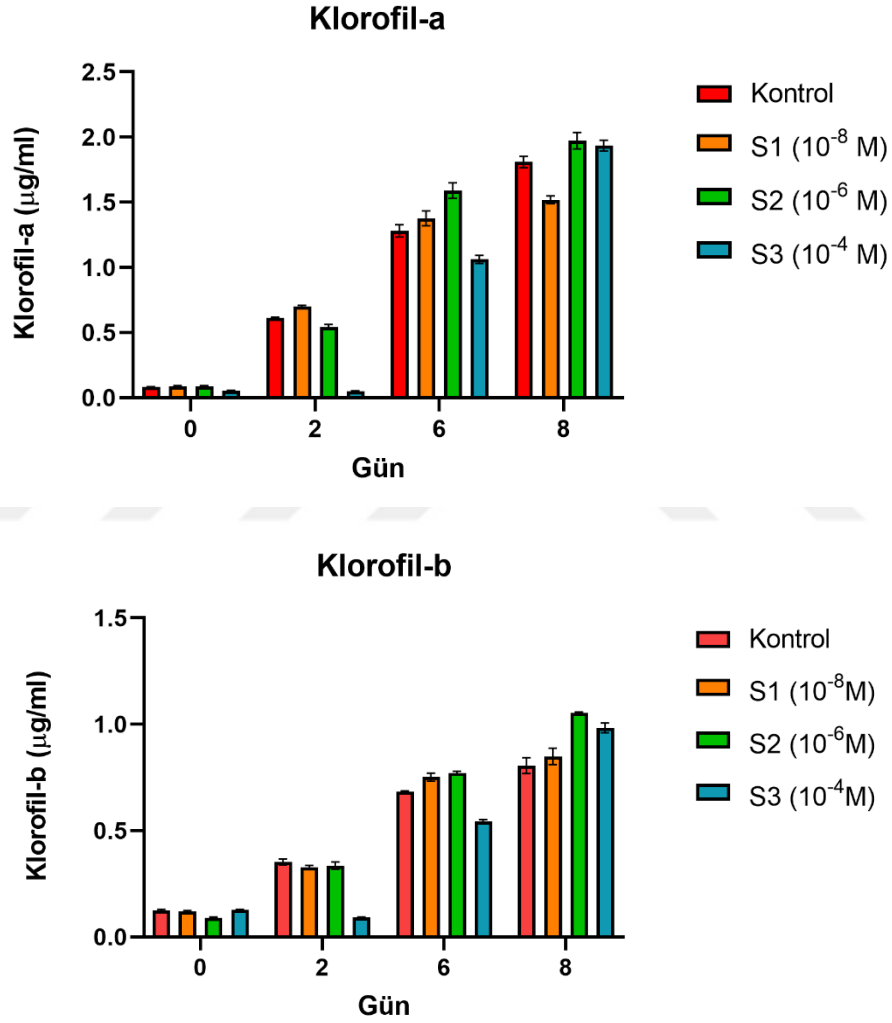
Şekil 4.4: GR24'ün 10. günde biyokütle etkisi (GraphPad Prism 8.4.3).

Elde edilen istatistiksel sonuçlara göre kontrol grubu ve GR24 uygulanan gruplar arasında anlamlı bir farklılık yoktur. En yüksek biyokütle içeriğine 10^{-6} M GR24 ($2,65 \times 10^{-3}$ mg/ml) ile ulaşılmıştır.

4.1.2 GR24'ün Klorofil-*a*, Klorofil-*b* ve Total Karotenoid Üzerine Etkisi

GR24'ün *S. obliquus* mikroalginin klorofil-*a*, klorofil-*b* ve total karotenoid miktarları spektrofotometrik ölçümler ile hesaplanarak belirlenmiştir.

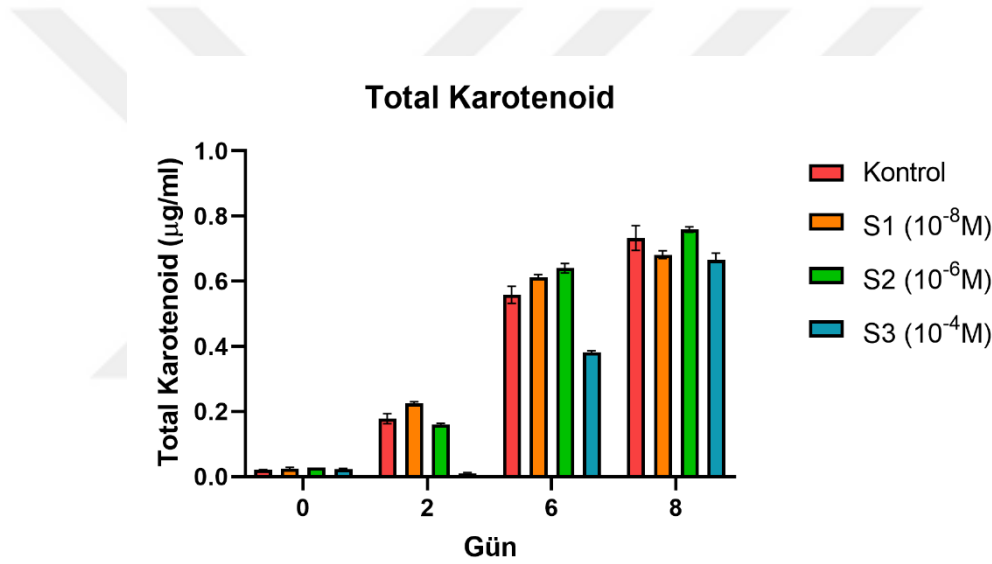
Klorofil-*a* ve klorofil-*b* içerikleri metotlarındaki formüller kullanılarak belirlenmiş ve aşağıdaki grafikler oluşturulmuştur (Şekil 4.5).



Şekil 4.5: GR24'ün güne bağlı klorofil-*a* ve klorofil-*b* konsantrasyonlarına etkisi (GraphPad Prism 8.4.3).

Elde edilen sonuçlara göre hem klorofil-*a* hem de klorofil-*b* içeriği bakımından kontrol grubu ile karşılaştırıldığında en iyi sonucu veren S2 grubu olmuştur. Klorofil-*a* ve klorofil-*b* içeriği bakımından 6. güne kadar artış göstermeyen S3 grubu 6. günden sonra artmaya başlamıştır. Bütün gruplar kontrol grubuna göre yüksek klorofil-*a* konsantrasyonuna sahiptir. Klorofil-*b* içeriği bakımından kontrol grubu ile karşılaştırıldığında en düşük konsantrasyon S1 grubunda gözlemlenmiştir.

Total karotenoid içeriği metodundaki formül kullanılarak belirlenmiş ve aşağıdaki grafik oluşturulmuştur (Şekil 4.6).



Şekil 4.6: GR24'ün güne bağlı total karotenoid konsantrasyonuna etkisi (GraphPad Prism 8.4.3).

Deneyin kurulduğu günden (0. gün) hasat gününe kadar total karotenoid artışı tüm gruplarda gözlenmiştir. Sonuçlara göre total karotenoid içeriği bakımından kontrol grubu ile karşılaştırıldığında en iyi sonuç S2 grubunda gözlemlenmiştir. Bütün gruplar kontrol grubuna göre yüksek total karotenoid konsantrasyonuna sahiptir.

4.1.3 GR24'ün Total Lipid İçeriği Üzerine Etkisi

GR24'ün *S. obliquus* mikroalginin total lipid içeriğine etkisi modifiye edilmiş Bligh ve Dyer metodu kullanılarak hesaplanmış ve değerler aşağıdaki tabloda gösterilmiştir:

Tablo 4.1: GR24 hormonunun farklı konsantrasyonlarında yetiştirilen *S. obliquus* mikroalgindeki total lipid içerikleri

	Kontrol	GR24 (M)		
		S1 (10^{-8})	S2 (10^{-6})	S3 (10^{-4})
Total Lipid Miktarı (mg)	12,45	10,6	11,95	12,7
Total Lipid Miktarı (%)	31,12	26,5	29,87	31,75

Not: Her bir veri üç tekrarın ortalamasını temsil eder.

Elde edilen sonuçlara göre, GR24 hormonu uygulanan *S. obliquus* alginin total lipid miktarları hesaplandığında, sadece S3 (10^{-4}) uygulamasında %2'lik önemsiz bir artış görülmüştür.

4.1.4 GR24'ün Yağ Asidi İçeriği Üzerine Etkisi

GR24'ün *S. obliquus* mikroalginin yağ asidi içeriği üzerine etkisi GC kullanılarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar aşağıdaki tabloda gösterilmiştir:

Tablo 4.2: GR24 hormonunun farklı konsantrasyonlarında yetiştirilen *S. obliquus* mikroalgindeki yağ asidi içerikleri

FAME (mg/kg)	GR24 (M)			
	Kontrol	S1 (10 ⁻⁸)	S2 (10 ⁻⁶)	S3 (10 ⁻⁴)
C4:0	6,19±0,65	8,06±0,97	3,13±0,44	7,64±0,27
C6:0	0,41±0,03	N.D.	0,09	0,07±0,05
C8:0	0,17±0,03	0,21±0,01	0,17±0,01	0,19±0,02
C10:0	0,37±0,02	0,42±0,01	0,39±0,01	0,43±0,02
C12:0	0,89±0,02	1,05±0,01	0,98±0,04	1,09±0,01
C14:0	2,66±0,09	2,95±0,07	2,91±0,09	3,31±0,12
C15:0	2,40±0,13	2,42±0,06	2,43±0,07	2,80±0,03
C16:0	87,14±1,26	82,98±1,44	110,65±0,17	97,58±1,06
C16:1	10,65±0,46	5,59±1,91	9,55±7,44	5,79±0,25
C17:0	3,28±0,06	3,41±0,18	4,13±0,27	3,68±0,09
C17:1	7,84±1,37	4,47±0,7	19,02±10,69	8,11±0,76
C18:0	106,88±0,98	136,91±0,91	136,93±0,76	151,28±0,88
C18:1n9c +	84,33±3,15	107,2±2,55	146,78±0,68	126,34±6,31
C18:1n9t				
C18:2n6t	27,55±1,82	26,54±0,12	8,04±0,56	14,08±0,23
C18:2n6c	107,7±4,74	116,16±0,83	250,75±1,86	171,90±0,66
C18:3n3 +	221,82±1,88	112,33±4,04	249,82±1,84	197,34±3,34
C20:1n9				
C18:3n6	5,30±0,85	5,78±1,61	6,57±1,17	9,06±1,05
C18:4n3	0,82±0,18	0,90±0,05	1,48±0,02	1,95±0,18
C20:0	2,27±0,07	2,69±0,03	2,76±0,12	2,77±0,04
C21:0	N.D.	N.D.	1,37±0,13	1,60±0,05
C22:0	1,74±0,14	1,71±0,04	1,83±0,03	1,71±0,03
C22:1n9	9,87±0,92	7,99±1,88	3,78±1,38	4,72±2,07
C22:2n6	4,41±0,18	2,07±0,51	N.D.	N.D.
C23:0	1,79±0,13	1,78±1,01	2,19±0,05	2,02±0,07
C24:0	2,22±0,12	1,72±0,14	2,51±0,15	2,06±0,05
C24:1	9,71±5,5	10,23±0,78	6,12±0,72	6,74±2,24
SFA	218,40	246,31	272,45	278,23
MUFA	189,15	210,69	260,81	237,23
PUFA	300,82	229,22	441,10	334,46
Total FAME	708,37	686,22	974,36	849,91

Not: Her bir veri üç tekrarın ortalamasını temsil eder.

N.D.: Veri yok

Verilere göre, S2 grubunun toplam yağ asidi içeriği kontrol grubuna göre 1,38 kat fazladır. Buna ek olarak MUFA ve PUFA içeriği bakımından S2 grubu diğer gruplara göre en yüksek değerlere sahiptir. S2 grubunda önemli olan yağ asitlerinden palmitik asit (C16:0), oleik asit (C18:1n9c), elaidik asit (C18:1n9t), linoleik asit (C18:2n6c) ve α -linoleik asit (C18:3n3) ile eikosanoik asit (C20:1n9), kontrol grubuna göre sırasıyla 1,27, 1,74, 2,33 ve 1,13 kat fazladır. S3 grubunda ise stearik asit (C18:0) ve γ -linolenik asit (C18:3n6) kontrol grubuna göre sırasıyla 1,28 ve 1,24 kat fazladır.



5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Karasal bitkilerin, 450 milyon yıldan daha uzun bir süre önce, tatlı su alglerinden evrimleştikleri bilinmektedir. Dolayısıyla mikroalglerin ve yüksek bitkilerin içerdiği fitohormonların biyolojik rolleri büyük ölçüde benzerdir. Çeşitli fizyolojik ve biyokimyasal süreçler fitohormonlarla düzenlenmektedir. Fitohormonların mikroalgler üzerindeki etkileriyle ilgili (biyokütle, lipid gibi) farklı çalışmalar bulunmaktadır (Pancha ve diğ.,2014; Zhao ve diğ., 2019).

Son zamanlarda önemi artan SL fitohormonunun yüksek bitki ve mikroalglerin büyüme ve gelişimine etkisiyle ilgili araştırmalar yapılmaktadır. Yüksek bitkilerle yapılan çalışmalarda, SL'nin bitki kök ve sürgün yapısını koruma, çimlenmeyi teşvik etme, sürgün dallanmasını baskılama ve senesens gibi görevleri olduğu belirlenmiştir (Rameau ve diğ., 2019). Mikroalgler ile yapılan çalışmalarda da SL'nin fitohormon gibi davranarak büyüme ve gelişmede etkili olduğu ve azot eksikliği gibi abiyotik stres koşullarına karşı direnç sağladığı bildirilmiştir. Strigolakton yani SL'nin sentetik bir formu olan GR24 ile yapılan çalışmalarda, GR24'ün fotosentez üzerinde ve metabolit üretiminde etkili olduğu ifade edilmiştir (Song ve diğ., 2020; Shen ve diğ., 2020; Zhang ve diğ. 2021a; Zhang ve diğ., 2021b).

Bu tez çalışmasında, ototrofik şartlarda yetiştirilen *Scenedesmus obliquus* 276-3b suşunun besi yerine farklı konsantrasyonlarda eksojen GR24 hormonu uygulanmış ve çeşitli etkileri araştırılmıştır. Hücre büyümesine, biyokütle üretimine, pigment ve yağ asidi sentezine pozitif etki ettiği saptanmıştır.

Elde edilen sonuçlara göre en yüksek biyokütle miktarına ve hücre sayısına 10^{-6} M GR24 ile ulaşılmıştır (Şekil 4.3; Şekil 4.4). Deneyin 10. gününde, 10^{-6} M GR24 uygulanan grupta hücre sayısı ($1,7 \times 10^7$ /ml) ve biyokütle miktarı ($2,85 \times 10^{-3}$ mg/ml) kontrol grubuna ($1,6 \times 10^7$ /ml ve $2,82 \times 10^{-3}$ mg/ml) göre en yüksek değere ulaşmıştır.

Song ve diğ. (2019) yaptıkları araştırmada *Monoraphidium* sp. QLY-1 suşunda maksimum biyokütle konsantrasyonuna $0,2 \mu\text{M}$ SL konsantrasyonu ile ulaşıldığını ancak bu değer kontrol grubundan daha yüksek olmadığını belirtmişlerdir. Stres koşulu bulunmadığında, SL'nin hücre büyümesine doğrudan etki gösteremediği bildirilmiştir. Azot eksikliğinde yetiştirilen *Monoraphidium* sp. QLY-1 suşuna uygulanan GR24 etkisi ile biyokütle konsantrasyonu ($0,93 \text{ g/L}$), kontrol grubu ve sadece azot eksikliğindeki kültüre ($0,89 \text{ mg/L}$, $0,88 \text{ mg/L}$) oranla artmıştır (Song ve diğ., 2020). Shen ve diğ., (2020) ise, başka bir stres koşulu olmadan, *C. vulgaris* mikroalgine uyguladıkları 10^{-7} M GR24'nin, kontrol grubuna ($0,128 \text{ d}^{-1}$ ve $0,041 \text{ g/L/d}$) göre büyüme hızı ($0,187 \text{ d}^{-1}$) ve günlük ortalama verimliliği ($0,097 \text{ g/L/d}$) arttırdığını belirtmişlerdir.

Araştırmalar arasında meydana gelen farklılıkların, mikroalg türü, yetiştirme ortamı, uygulanan SL konsantrasyonları ve uygulama süresi gibi farklı deneysel koşullardan kaynaklanabileceği düşünülmektedir (Shen ve diğ., 2020). Zhang ve diğ. (2021a), *C. vulgaris* mikroalgi ve *Ganoderma lucidum* mantarından oluşan simbiyotik kültürü farklı LED ışık dalga boylarında ve strigolakton (GR24) ekleyerek yetiştirmişlerdir. En yüksek büyüme hızına ($0,351 \text{ d}^{-1}$) ve günlük ortalama verimliliğe ($0,163 \text{ g/L/d}$), 10^{-9} M GR24 eklendiğinde ve uygulanan optimum ışık yoğunluğu 5:5 kırmızı ve mavi oranında olduğunda ulaşılmıştır. Zhang ve diğ. (2021b)'nin yaptığı bir diğer çalışmada ise *C. vulgaris*, *C. vulgaris-G. lucidum* ve *C.vulgaris*-aktif çamur simbiyont kültürlerine uygulanan 10^{-9} M GR24 ile en yüksek büyüme hızına ve günlük ortalama verimliliğine ulaşılmıştır. 10^{-9} M GR24'ün büyüme hızına etkisi, kontrol grupları ($0,229$, $0,321$ ve $0,349 \text{ d}^{-1}$) ile karşılaştırıldığında, sırasıyla $0,287$, $0,384$, $0,419 \text{ d}^{-1}$ şeklindedir. Günlük ortalama verimlilik ise kontrol gruplarına göre ($0,138$, $0,209$ ve $0,342 \text{ g/L/d}$) sırasıyla $0,162$, $0,299$ ve $0,342 \text{ g/L/d}$ 'dir.

Çalışmamızda, GR24'ün *S. obliquus* mikroalginin hücre sayısı ve biyokütle içeriğine doğrudan veya dolaylı etkisinin olabileceği düşünülmektedir.

Klorofil-*a* ve klorofil-*b* için elde edilen sonuçlara göre, uygulanan tüm konsantrasyonlar *S. obliquus* mikroalginin klorofil içeriğine etki etmiştir (Şekil 4.5). Klorofil-*a* ve klorofil-*b* içeriği, kontrol grubu (1,81 ve 0,8 µg/ml) ile karşılaştırıldığında en yüksek değere S2 (10^{-6} M) grubunda (1,97 ve 1,93 µg/ml) ulaşılmıştır (Şekil 4.5). S3 (10^{-4} M) grubunda ise klorofil-*a* miktarı 1,93 µg/ml olarak belirlenmiştir. Buna ek olarak, klorofil-*b* içeriği tüm konsantrasyonlarda kontrol grubuna göre artış göstermiştir.

Farklı LED ışık dalga boylarında yetiştirilen *C. vulgaris* mikroalgi ve *G. lucidum* mantarı simbiyotik kültürünün klorofil-*a* içeriği deney boyunca 10^{-9} M GR24 konsantrasyonunda en yüksek seviyeye ulaşmıştır. 10 günlük deney boyunca en yüksek klorofil-*a* içeriğine 7. günde gelinmiştir. Işığın da etkisi ile GR24'ün simbiyont fotosentez performansında etkili olduğu saptanmıştır (Zhang ve diğ., 2021a). Zhang ve diğ. (2021b)'nin yürüttükleri bir diğer araştırmada, *C. vulgaris*, *C. vulgaris*-*G. lucidum* ve *C.vulgaris*-aktif çamur simbiyont kültürlerine farklı konsantrasyonlarda GR24 uygulandığında, en yüksek klorofil-*a* içeriğine 10^{-9} M GR24 uygulanan *C. vulgaris* kültüründe ulaşılmıştır.

Song ve diğ., (2019)'nin yaptıkları çalışmada ise, *Monoraphidium* sp. QLY-1 mikroalgine uygulanan 1 µM GR24 etkisi ile klorofil-*a* içeriğinin deneyin ilk üç günü boyunca artış gösterdiği ve daha sonra azaldığı belirlenmiştir. Ancak klorofil-*a* içeriği GR24 uygulanan gruplarda deney süresince kontrol grubundan fazla olmamıştır. Daha önceki bazı çalışmalarda, abiyotik stres koşullarında yetişen kültürlerde SL hormonunun etkisi ile fotosentez performansının arttığı saptanmıştır (Ling ve diğ., 2020).

Shen ve diğ. (2020), araştırmalarında stres koşulu uygulamadan yetiştirdikleri *C. vulgaris* mikroalginin klorofil-*a* içeriğini farklı GR24 konsantrasyonları altında incelemişlerdir. Hızlı büyüme oranı düşene kadar kontrol grubu dahil tüm konsantrasyonlarda klorofil-*a* içeriği artmıştır ve kontrol grubuna (102,68 µg/L) kıyasla en fazla klorofil-*a* içeriğine 10^{-7} M GR24 uygulanan grupta (154,03 µg/L) ulaşılmıştır. Bizim çalışmamızda ise, GR24 uygulaması ile kontrol grubuna göre en fazla klorofil-*a* içeriği S2 (10^{-6} M) grubunda saptanmıştır (1,97 µg/ml). GR24'ün *S. obliquus* klorofil içeriğine doğrudan etkisi olabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızdaki klorofil-*b* ve total karotenoid içerikleri incelendiğinde, her iki pigmentte de en yüksek miktara 10^{-6} M GR24 ile ulaşıldığı görülmektedir (Şekil 4.5; Şekil 4.6). Kontrol grubu ile (0,81 µg/ml ve 0,73 µg/ml) kıyaslandığında, 10^{-6} M GR24 uygulaması klorofil-*b* içeriğini 1,05 µg/ml, total karotenoid içeriğini ise 0,75 µg/ml şeklinde arttırmıştır (10. Gün).

Mansouri ve Nezhad (2020), farklı konsantrasyonlarda GA3 ve salisilik asit (SA) uygulanan *S. obliquus* mikroalginin klorofil ve total karotenoid içeriklerini incelemiştir. Kontrol grubuna kıyasla (1,1 mg/ml) en yüksek klorofil-*b* içeriğine 50 ve 100 mM GA3 (1,7 mg/ml) ile 100 mM SA (2,2 mg/ml) konsantrasyonunda ulaşılmıştır. GA3 varlığında klorofil-*b* miktarı yaklaşık %15,4 artarken, SA varlığında ise %93 artmıştır. 100 mM GA3 ve SA total karotenoid içeriğini sırasıyla %22 ve %44 arttırmıştır. Sulochana ve Arumugam (2016)'a göre, azot eksikliğinde yetişen *S. quadricauda* mikroalgine uygulanan ABA hormonu ile klorofil ve total karotenoid içeriğinde bir artış saptanmamıştır.

Bu çalışmada, stres koşulu uygulanmadan yetiştirilen *S. obliquus* mikroalginin klorofil-*b* içeriği GR24 uygulaması ile artmıştır. 10^{-4} M GR24 konsantrasyonundaki kültürde ise klorofil-*b* içeriği 0,98 µg/ml'dir. Elde edilen veriler, GR24'ün *S. obliquus* mikroalginin pigment içeriğine doğrudan veya dolaylı olarak etkisi olabileceğini düşündürmektedir.

Toplam lipid içeriğine bakıldığında kontrol grubuna göre (12,45 mg) sadece 10^{-4} M GR24 (12,7 mg) uygulanan grupta artış olduğu saptanmıştır (Tablo 4.1). 10^{-6} M GR 24 uygulanan grupta ise total lipid miktarı (11,95 mg) kontrol grubuna yakındır. *Monoraphidium* sp. QLY-1 suşunun total lipid içeriği kontrol grubu (% 41,57) ile karşılaştırıldığında, azot eksikliği (%46,18) ve SL uygulamasında (%53,71) artışlar görülmüştür. (Song ve diğ.,2020). *Acutodesmus obliquus* mikroalg kültürüne, azot sınırlaması ile birlikte farklı konsantrasyonlarda uygulanan Z (0,5 mg/L), IAA (1 mg/L) ve GA (5 mg/L) hormon kombinasyonunun kontrol gruplarına (BG11: %27,62 ve modifiye edilmiş BG11: %39,14) göre total lipid artışına (%46,57) neden olduğu belirtilmiştir (Renuka ve diğ., 2018). *S. quadricauda* mikroalg kültürüne farklı konsantrasyonlarda ayrı ayrı uygulanan dört farklı oksin (IAA, IPA, IBA ve NAA) türevi ile yapılan çalışmada kontrol grubuna (0,0939 g/g) kıyasla lipid içeriğindeki en fazla artış 60 mg/L konsantrasyonda IBA60 grubunda (0,01328 g/g) gözlenmiştir. Daha önceki çalışmalar ile karşılaştırıldığında oksin hormonunun algal lipid artışına katkıda bulunduğu belirlenmiştir (Liu ve diğ., 2016).

Çalışmamızda, toplam 38 adet yağ asidinin varlığı araştırılmış ve 21 adet yağ asidi saptanmıştır. Hormon uygulanan gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında (708,37 mg/kg) en fazla total yağ asidi içeriği S2 (10^{-6} M) grubunda gözlenmiştir (974,36 mg/kg) (Tablo 4.2). *S. obliquus*'da major yağ asitlerinden olan C16:0, C18:0, C18:1n9c, C18:1n9t, C18:2n6c, C18:3n3 ve C20:1n9 miktarları GR24 uygulaması ile artmıştır. Kontrol grubundaki C16:0 (87,14 mg/kg), C18:1n9 ile C18:1n9t (84,33 mg/kg), C18:2n6c (107,7 mg/kg) ve C18:3n3 ile C20:1n9 (221,82 mg/kg) miktarları S2 grubuyla karşılaştırıldığında, yağ asidi miktarları sırasıyla 110,65 mg/kg, 146,78 mg/kg, 250,75 mg/kg ve 249,82 mg/kg şeklinde belirlenmiştir.

C18:0 yağ asidi miktarı S3 (10^{-4} M) grubunda (151,28 mg/kg) kontrol grubuna göre (106,88 mg/kg) artmıştır. MUFA ve PUFA miktarlarına bakıldığında S2 grubunun en fazla doymamış yağ asidi içeriğine sahip olduğu gözlenirken S3 grubunda ise doymuş yağ asidinin (SFA) daha fazla olduğu saptanmıştır. MUFA ve PUFA miktarlarındaki artışın en çok 10^{-6} M GR24 uygulamasıyla meydana geldiği belirlenmiştir (260,81 ve 441,10 mg/kg).

Monoraphidium sp. QLY-1 mikroalginin lipid içeriği deneyin ilk gününde 0,2, 1 ve 5 μ M SL konsantrasyonu uygulamasıyla kontrol grubuna göre 1,25, 1,61 ve 1,32 kat artmıştır. En yüksek lipid içeriğine 1 μ M SL ile ulaşılmıştır. MUFA yağ asidi içeriğinde artış gözlenirken, PUFA yağ asidi içeriğinde düşüş gözlenmiştir (Song ve diğ., 2019). Salama ve diğ. (2014), *S. obliquus* ile yaptıkları çalışmada, kültür ortamına uygulanan IAA ve DAH hormonlarının yağ asidi içeriğine etkilerini incelemişlerdir. Her iki hormonun da doymamış yağ asidi (MUFA ve PUFA) miktarlarını artırırken doymuş yağ asidi (SFA) miktarını düşürdüğü tespit edilmiştir. 10^{-5} M konsantrasyonda uygulanan IAA ve DAH hormonunun C18:3n6 ve C18:3n3 miktarına etkisi karşılaştırıldığında, kontrole göre sırasıyla 1,24 ve 1,31 kat ile 2,29 ve 1,91 kat artış olduğu, bununla beraber C16:0 ve C18:1n9c yağ asidi miktarlarında ise azalmaların bulunduğu belirtilmiştir.

Acutodesmus obliquus mikroalgine uygulanan oksin ve sitokinin türevlerinin mikroalg yağ asidi içeriğine olan etkisi incelendiğinde, uygulanan tüm konsantrasyonların major yağ asitlerinin (C16:0, C17:0, C18:0, C18:3n3, C18:1n9c ve C18:2n6c) miktarını arttırdığı tespit edilmiştir. En fazla yağ asidi birikimine IAA ve Z hormonları sebep olmuştur (Piotrowska-Niczyporuk ve diğ., 2018a). Uygulanan tüm konsantrasyonlarda major yağ asitleri dışındaki C8:0, C10:0, C12:0, C14:0, C15:0, C17:0, C18:3n6, C18:4n3, C20:0 ve C23:0 yağ asiti miktarları kontrol grubuna göre çok az artış göstermiştir. *S. quadricauda* ile yapılan başka bir çalışmada kültür ortamına farklı konsantrasyonlarda ayrı ayrı 4 farklı hormon uygulanmıştır (IAA, ABA, EBL, BL). Tüm hormonlar arasında en yüksek total yağ asidi içeriğine (130,2 mg/g) 10 nM IAA konsantrasyonu ile ulaşılmıştır. Çalışmada majör yağ asitlerinden olan C16:0, C16:1, C18:1n9c ve C18:3n6 miktarları EBL ve IAA uygulamasında kontrol grubuna göre farklılık göstermiştir. 100 nM EBL konsantrasyonunda C16:0, C18:1n9c ve C18:3n6 miktarları sırasıyla 2,8, 2,6 ve 2 kat artarken, 10 nM ve 100 nM IAA uygulaması ile C16:0, C16:1, C18:3n6 ve C18:1n9c yağ asit miktarları sırasıyla 3,4, 2,4, 2,5 ve 1,9 kat artmıştır (Kozlova ve diğ., 2017).

S. obliquus, *C. vulgaris* ve *Ourococcus multispurus* ile yapılan araştırmada, kültür ortamlarına uygulanan IAA ve DAH hormonlarının konsantrasyonları arttıkça C16:0, C16:1, C18:0, C18:1n9c, C18:2n6c ve C18:3n6 yağ asidi miktarlarında da artış olduğu saptanmıştır. *S. obliquus* mikroalgine uygulanan farklı konsantrasyonlardaki IAA ve DAH hormonları, 10^{-5} M konsantrasyonda C16:0; 10^{-6} M konsantrasyonda C18:0 ve 10^{-8} M konsantrasyonda C18:3n6 yağ asidi miktarlarının maksimum değere ulaşmasını sağlamıştır. Buna ek olarak, IAA ve DAH konsantrasyonu arttıkça başlıca PUFA ve MUFA yağ asitlerinin miktarı artmıştır (Salama ve diğ., 2017). Azot eksikliğindeki koşullarda yetiştirilen *Monoraphidium* sp. QLY-1 suşunun SFA, MUFA ve PUFA içerikleri kontrol grubu ve SL uygulanan grup ile karşılaştırıldığında, azot eksikliğinde *Monoraphidium* sp. QLY-1 suşunun yağ asidi içeriğinin azaldığı ve SL uygulaması ile de kayda değer bir değişikliğin olmadığı saptanmıştır (Song ve diğ., 2020).

Araştırmamızda, *S. obliquus*'un büyüme ve gelişiminde 10^{-6} M GR24 uygulamasının etkili olduğu belirlenmiştir. Klorofil ve total karotenoid artışları fotosentez mekanizmasına doğrudan veya dolaylı olarak etki ettiğini düşündürmektedir. Biyodizel ve diğer endüstri alanları için önemli yağ asitlerinden olan C16:0, C18:0, C18:1n9c; C18:1n9t, C18:2n6 ve C18:3n3 yağ asitlerinin biyosentezinde etkili olduğu belirlenmiştir. Kültür ortamına uygulanan GR24'ün

S. obliquus mikroalgi üzerinde stres koşulu oluşturmadağı ve bundan dolayı yağ asidi biyosentezine doğrudan etki ettiğı düşünölmektedir.

Mikroalglerin laboratuvar ölçeğı dışında daha geniş alanlarda üretimi ile küresel ısınma ve enerji krizini hafifletme potansiyeli bulunmaktadır. Bu anlamda bilim insanları tarafından Yeşil Devrim'in bir ayağı olarak düşünölmektedirler. Mikroalg fizyolojisi ve biyokimyasının daha derinlemesine anlaşılması ile ticari uygulamalar için büyük ölçekli mikroalgleri başarılı bir şekilde yetiştirmenin yolunun açılacağı tahmin edilmektedir. Mikroalg üretim maliyetlerinin çevre dostu yaklaşım ile azaltılması ve fitohormonların büyük ölçekli alg kültürlerinde kullanılacak düzeye gelebilmesi için daha fazla çaba göstermek gerekmektedir.



KAYNAKLAR

- Aflaki, F., 2019, *Investigation of physiological roles of strigolactones in sugar beet (Beta vulgaris L.) under in vitro tissue culture and ex vitro abiotic stress conditions*, Doktora, Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi
- Aishvarya, V., Jena, J., Pradhan, N., Panda, P. K., ve Sukla, L. B., 2015, Microalgae: cultivation and application, *Environmental Microbial Biotechnology*, 289–311.
- Akiyama, K., Matsuzaki, K. I. Ve Hayashi, H., 2005, Plant sesquiterpenes induce hyphal branching in arbuscular mycorrhizal fungi, *Nature*, 435, 824-827
- Alder, A., Jamil, M., Marzorati, M., Bruno, M., Vermathen, M., Bigler, P., Ghisla, S., Bouwmeester, H., Beyer, P. ve Al-Babili, S., 2012, The path from β -carotenoid to carlactone, a strigolactone-like plant hormone. *Science*, 335(6074), 1348-1351.
- Allaf, M. M., 2013, *Effect of plant hormones on the production of biomass and lipid in microalgae*, Thesis (PhD), The University of Western Ontario.
- An, S. S., Friedl, T., ve Hegewald, E., 1999, Phylogenetic relationships of *Scenedesmus* and *Scenedesmus*-like coccoid green algae as inferred from ITS-2 rDNA sequence comparisons. *Plant Biology*, 1(4), 418-428.
- Ansari, F.A., Ravindran, B., Gupta, S.K., Nasr, M., Rawat, I. ve Bux, F., 2019, Techno-economic estimation of wastewater phycoremediation and environmental benefits using *Scenedesmus obliquus* microalgae, *Journal of environmental management*, 240, 293-302.
- Arite, T., Umehara, M., Ishikawa, S., Hanada, A., Maekawa, M., Yamaguchi, S., ve Kyojuka, J., 2009, d14, a strigolactone-insensitive mutant of rice, shows an accelerated outgrowth of tillers. *Plant and Cell Physiology*, 50(8), 1416-1424.
- Batista, A. P., Gouveia, L., Bandarra, N. M., Franco, J. M., ve Raymundo, A., 2013, Comparison of microalgal biomass profiles as novel functional ingredient for food products, *Algal Research*, 2(2), 164–173
- Becker, E. W., 2007, Micro-algae as a source of protein, *Biotechnology advances*, 25(2), 207-210.
- Becker, E. W. 2013, Microalgae in human and animal nutrition, *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology*, In: Richmond, A. ve Hu, Q. (eds), 25, Wiley-Blackwell, Hindistan, ISBN 978-0-470-67389-8, 461-503
- Blatti, J. L., Michaud, J. Ve Burkart, M. D., 2013, Engineering fatty acid biosynthesis in microalgae for sustainable biodiesel, *Current Opinion in Chemical Biology*, 17(3), 496–505
- Bligh, E. G., ve Dyer, W. J., 1959, A rapid method of total lipid extraction and purification, *Canadian journal of biochemistry and physiology*, 37(8), 911-917.

- Braun, J. V., dos Santos, V. O., Fontoura, L. A., Pereira, E., Napp, A., Seferin, M., Lima, J., Ligabue, R. ve Vainstein, M. H., 2017, GC-FID methodology validation for the fatty esters content determination in biodiesel with hexadecyl acetate as the internal standard, *Química Nova*, 40(9), 1111-1116.
- Breuer, G., Lamers, P.P., Martens, D.E., Draaisma, R.B. ve Wijffels, R.H., 2013. Effect of light intensity, pH, and temperature on triacylglycerol (TAG) accumulation induced by nitrogen starvation in *Scenedesmus obliquus*, *Bioresource technology*, 143, 1-9.
- Butler, L. G., 1994, Chemical Communication Between the Parasitic Weed Striga and Its Crop Host, 158–168.
- Cagliari, A., Margis, R., dos Santos Maraschin, F., Turchetto-Zolet, A. C., Loss, G., ve Margis-Pinheiro, M., 2011, Biosynthesis of triacylglycerols (TAGs) in plants and algae, *International Journal of Plant Biology*, 2(1), e10-e10.
- Chan, M.C., Ho, S.H., Lee, D.J., Chen, C.Y., Huang, C.C. ve Chang, J.S., 2013, Characterization, extraction and purification of lutein produced by an indigenous microalga *Scenedesmus obliquus* CNW-N, *Biochemical engineering journal*, 78, 24-31.
- Chang, H. X., Huang, Y., Fu, Q., Liao, Q., ve Zhu, X., 2016, Kinetic characteristics and modeling of microalgae *Chlorella vulgaris* growth and CO₂ biofixation considering the coupled effects of light intensity and dissolved inorganic carbon, *Bioresource technology*, 206, 231-238.
- Chen, F., ve Johns, M. R., 1991, Effect of C/N ratio and aeration on the fatty acid composition of heterotrophic *Chlorella sorokiniana*, *Journal of Applied Phycology*, 3(3), 203–209.
- Chen, M., Tang, H., Ma, H., Holland, T. C., Ng, K. S., ve Salley, S. O., 2011, Effect of nutrients on growth and lipid accumulation in the green algae *Dunaliella tertiolecta*, *Bioresource technology*, 102(2), 1649-1655.
- Chisti, Y. ,2007,Biodiesel from microalgae, *Biotechnology Advances*, 25(3), 294-306.
- Chu, F. F., Chu, P. N., Shen, X. F., Lam, P. K., ve Zeng, R. J., 2014, Effect of phosphorus on biodiesel production from *Scenedesmus obliquus* unde rnitrogen-deficiency stress, *Bioresource technology*, 152, 241-246.
- Cook, C. E., Whichard, L. P., Turner, B., Wall, M. E., ve Egley, G. H., 1966, Germination of witchweed (*Strigalutea*Lour.): isolation and properties of a potent stimulant. *Science*, 154(3753), 1189-1190
- Czarnecki, O., Yang, J., Weston, D. J., Tuskan, G. A., ve Chen, J. G., 2013, A dual role of strigolactones in phosphate acquisition and utilization in plants. *International journal of molecular sciences*, 14(4), 7681-7701
- Dao, G. H., Wu, G. X., Wang, X. X., Zhuang, L. L., Zhang, T. Y., ve Hu, H. Y., 2018, Enhanced growth and fatty acid accumulation of microalgae *Scenedesmus* sp. LX1 by two types of auxin, *Bioresource technology*, 247, 561-567.

- Darienko, T., 2019, SAG 276-3b *Acutodesmus obliquus*, http://sagdb.uni-goettingen.de/detailedList.php?str_number=276-3b, [22/06/2021].
- De Saint Germain, A., Ligerot, Y., Dun, E. A., Pillot, J. P., Ross, J. J., Beveridge, C. A., ve Rameau, C., 2013, Strigolactones stimulate internode elongation independently of gibberellins, *Plant physiology*, 163(2), 1012-1025.
- Delaux, P. M., Xie, X., Timme, R. E., Puech-Pages, V., Dunand, C., Lecompte, E., Delwiche, C. F., Yoneyama K., Becard, G. ve Séjalon-Delmas, N., 2012, Origin of strigolactones in the green lineage, *New Phytologist*, 195(4), 857-871.
- Felemban, A., Braguy, J., Zurbriggen, M. D., ve Al-Babili, S., 2019, Apocarotenoids involved in plant development and stress response, *Frontiers in plant science*, 10.
- Gomez-Roldan, V., Fermas, S., Brewer, P. B., Puech-Pagès, V., Dun, E. A., Pillot, J. P., Letisse, F., Matusova, R., Danoun, S., Portais, J. C., Bouwmeester, H., Bécard, G., Beveridge, C. A., Rameau C. ve Rochange, S. F., 2008, Strigolactone inhibition of shoot branching. *Nature*, 455(7210), 189-194
- Gouveia, L., Marques, A. E., Sousa, J. M., Moura, P., ve Bandarra, N. M., 2010, Microalgae—source of natural bioactive molecules as functional ingredients, *Food Sci Technol Bull Funct Foods*, 7(2), 21-37
- Gök Özel, Ş., 2018, *Strigolakton uygulamasıyla tuz stresine karşı kum zambağı bitkisinin toleransının artırılmasında antioksidan enzimlerin işlevi*, Yüksek Lisans, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi
- Guedes, A. C., Gião, M. S., Matias, A. A., Nunes, A. V., Pintado, M. E., Duarte, C. M., ve Malcata, F. X., 2013, Supercritical fluid extraction of carotenoids and chlorophylls a, b and c, from a wild strain of *Scenedesmus obliquus* for use in food processing, *Journal of Food Engineering*, 116(2), 478-482
- Guedes, A.C., Amaro, H.M., Pereira, R.D. ve Malcata, F.X., 2011. Effects of temperature and pH on growth and antioxidant content of the microalga *Scenedesmus obliquus*, *Biotechnology progress*, 27(5), pp.1218-1224.
- Gupta, S. K., Ansari, F. A., Shriwastav, A., Sahoo, N. K., Rawat, I., ve Bux, F., 2016, Dual role of *Chlorella sorokiniana* and *Scenedesmus obliquus* for comprehensive wastewater treatment and biomass production for bio-fuels, *Journal of Cleaner Production*, 115, 255-264.
- Hauck, C., Müller, S. ve Schildknecht, H., 1992, A Germination Stimulant for Parasitic Flowering Plants from *Sorghum bicolor*, a Genuine Host Plant, *Journal of Plant Physiology*, 139(4), 474–478
- Hayward, A., Stirnberg, P., Beveridge, C., ve Leyser, O., 2009, Interactions between Auxin and Strigolactone in Shoot Branching Control, *Plant Physiology*, 151(1), 400–412

- Helliwell, K. E., Lawrence, A. D., Holzer, A., Kudahl, U. J., Sasso, S., Kräutler, B., Scanlan, D. J., Warren, M. J ve Smith, A. G., 2016, Cyanobacteria and eukaryotic algae use different chemical variants of vitamin B12, *Current Biology*, 26(8), 999-1008.
- Ho, S. H., Chen, W. M., ve Chang, J. S., 2010, *Scenedesmus obliquus* CNW-N as a potential candidate for CO₂ mitigation and biodiesel production, *Bioresource technology*, 101(22), 8725-8730.
- Ho, S.-H., Chen, C.-Y., ve Chang, J.-S., 2012, Effect of light intensity and nitrogen starvation on CO₂ fixation and lipid/carbohydrate production of an indigenous microalga *Scenedesmus obliquus* CNW-N, *Bioresource Technology*, 113, 244–252.
- Hodaifa, G., Martínez, M. E., ve Sánchez, S., 2010, Influence of temperature on growth of *Scenedesmus obliquus* in diluted olive mill wastewater as culture medium, *Engineering in Life Sciences*, 10(3), 257-264.
- Jia, K. P., Li, C., Bouwmeester, H. J., ve Al-Babili, S., 2019, *Strigolactone Biosynthesis and Signal Transduction*, Strigolactones-Biology and Applications, In: Koltai, H. ve Prandi, C. (eds), Chapter 1, Springer, Switzerland, ISBN: 978-3-030-12152-5, 1-45
- Khan, M. I., Shin, J. H. ve Kim, J. D., 2018, The promising future of microalgae: Current status, challenges, and optimization of a sustainable and renewable industry for biofuels, feed, and other products, *Microbial Cell Factories*, 17(1), 1–21
- Koltai, H., Dor, E., Hershenhorn, J., Joel, D. M., Weininger, S., Lekalla, S., Shealtiel, H., Bhattacharya C., Eliahu, E., Resnick, N., Barg, R. ve Kapulnik, Y., 2010, Strigolactones' effect on root growth and root-hair elongation may be mediated by auxin-efflux carriers, *Journal of Plant Growth Regulation*, 29(2), 129-136.
- Kozlova, T. A., Hardy, B. P., Krishna, P. ve Levin, D. B., 2017, Effect of phytohormones on growth and accumulation of pigments and fatty acids in the microalgae *Scenedesmus quadricauda*, *Algal research*, 27, 325-334
- Kumar, K., Dasgupta, C. N., Nayak, B., Lindblad, P., ve Das, D., 2011, Development of suitable photobioreactors for CO₂ sequestration addressing global warming using green algae and cyanobacteria. *Bioresource technology*, 102(8), 4945-4953.
- Kurano, N., Ikemoto, H., Miyashita, H., Hasegawa, T., Hata, H., ve Miyachi, S., 1995, Fixation and utilization of carbon dioxide by microalgal photosynthesis, *Energy Conversion and Management*, 36(6-9), 689-692.
- Lee, J. Y., Yoo, C., Jun, S. Y., Ahn, C. Y., ve Oh, H. M., 2010, Comparison of several methods for effective lipid extraction from microalgae, *Bioresource technology*, 101(1), S75-S77.
- Leliaert, F., Smith, D. R., Moreau, H., Herron, M. D., Verbruggen, H., Delwiche, C. F., ve De Clerck, O., 2012, Phylogeny and molecular evolution of the green algae, *Critical Reviews in Plant Sciences*, 31(1), 1–46
- Lewis, L. A. ve McCourt, R. M., 2004, Green algae and the origin of land plants, *American Journal of Botany*, 91(10), 1535–1556

- Lichtenthaler, H. K. ve Buschmann, C., 2001, Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy, *Current protocols in food analytical chemistry*, 1(1), F4-3.
- Ling, F., Su, Q., Jiang, H., Cui, J., He, X., Wu, Z., Zhang, Z., Liu, J. and Zhao, Y., 2020, Effects of strigolactone on photosynthetic and physiological characteristics in salt-stressed rice seedlings, *Scientific reports*, 10(1), 1-8.
- Lippmeier, J. C., 2007, *Fatty Acid Metabolism of Marine Microalgae*, Doktora, Biological Sciences, in the University of Hull
- Liu, J., Qiu, W., ve Song, Y., 2016, *Stimulatory effect of auxins on the growth and lipid productivity of Chlorella pyrenoidosa and Scenedesmus quadricauda*, *Algal research*, 18, 273-280.
- Louis, K. S ve Siegel, A. C, 2011, *Cell Viability Analysis Using Trypan Blue: Manual and Automated Methods*, Mammalian Cell Viability, In: Stoddart, M. J (ed.), Chapter 2, Humana Press, Switzerland, ISBN: 978-1-61779-107-9, 7-12.
- Mandal, S. ve Mallick, N., 2009, Microalga *Scenedesmus obliquus* as a potential source for biodiesel production, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 84(2), 281–291
- Mansouri, H. ve Nezhad, S.E., 2020, Improvement in biochemical parameters and changes in lipid profile of *Scenedesmus obliquus* by plant growth regulators under mixotrophic condition, *Biomass and Bioenergy*, 140, 105708.
- Marrez, D. A., Naguib, M. M., Sultan, Y. Y., ve Higazy, A. M., 2019, Antimicrobial and anticancer activities of *Scenedesmus obliquus* metabolites, *Heliyon*, 5(3), e01404.
- Martinez, M.E., Sánchez, S., Jimenez, J.M., El Yousfi, F. and Munoz, L., 2000, Nitrogen and phosphorus removal from urban wastewater by the microalga *Scenedesmus obliquus*, *Bioresource technology*, 73(3), 263-272.
- Martínez, M. E., Jiménez, J. M., ve El Yousfi, F., 1999, Influence of phosphorus concentration and temperature on growth and phosphorus uptake by the microalga *Scenedesmus obliquus*, *Bioresource Technology*, 67(3), 233–240.
- Matich, E.K., Ghafari, M., Camgoz, E., Caliskan, E., Pfeifer, B.A., Haznedaroglu, B.Z. and Atilla-Gokcumen, G.E., 2018, Time-series lipidomic analysis of the oleaginous green microalga species *Ettlia oleoabundans* under nutrient stress, *Biotechnology for biofuels*, 11(1), 1-15.
- Müller, S., Hauck, C. ve Schildknecht, H., 1992, Germination stimulants produced by *Vigna unguiculata* Walp cv Saunders Upright, *Journal of Plant Growth Regulation*, 11(2), 77–84.
- Nagi, M., Meilin, H., Li, D., Temesgen, G., Bian, C., ve Wang, C., 2020, Utilization of tannery wastewater for biofuel production : New insights on microalgae growth and biomass production, *Scientific Reports*, 1–14

- Ohlrogge, J. and Browse, J., 1995, Lipid biosynthesis, *The Plant Cell*, 7(7), 957.
- Önay, E., 2019, *Strigolaktonun tuz stresine toleranslı ve duyarlı buğday çeşitlerinde askorbat-glutasyon döngüsü enzim sistemine etkisi*, Yüksek Lisans, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi
- Özbilen, A., 2019, *Zeytinde (Olea europaea L.) strigolakton biyosentezinde rol alan genlerin karakterizasyonu*, Doktora, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi
- Pairohakul, S., 2013, *Evidence for Polyunsaturated Fatty Acid Biosynthesis in the Ragworm (Nereisvirens) and the Lugworm (Arenicola marina)*, Doktora, School of Marine Science and Technology Newcastle University
- Pancha, I., Chokshi, K., George, B., Ghosh, T., Paliwal, C., Maurya, R., ve Mishra, S., 2014, Nitrogen stress triggered biochemical and morphological changes in the microalgae *Scenedesmus* sp. CCNM 1077, *Bioresource technology*, 156, 146-154.
- Pilon, L., Berberoğlu, H., ve Kandilian, R., 2011, Radiation transfer in photobiological carbon dioxide fixation and fuel production by microalgae, *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*, 112(17), 2639-2660.
- Piorreck, M., Baasch, K.-H., ve Pohl, P., 1984, Biomass production, total protein, chlorophylls, lipids and fatty acids of freshwater green and blue-green algae under different nitrogen regimes, *Phytochemistry*, 23(2), 207–216.
- Piotrowska-Niczyporuk, A., Bajguz, A., Kotowska, U., Bralska, M., ve Talarek-Karwel, M., 2018a, Growth, metabolite profile, oxidative status, and Phytohormone levels in the green alga *Acutodesmus obliquus* exposed to exogenous auxins and cytokinins, *Journal of plant growth regulation*, 37(4), 1159-1174.
- Piotrowska-Niczyporuk, A., Bajguz, A., ve Zambrzycka-Szelewa, E., 2017, Response and the detoxification strategies of green alga *Acutodesmus obliquus* (Chlorophyceae) under lead stress, *Environmental and experimental botany*, 144, 25-36
- Piotrowska-Niczyporuk, A., Bajguz, A., Zambrzycka-Szelewa, E., ve Bralska, M., 2018b, Exogenously applied auxins and cytokinins ameliorate lead toxicity by inducing antioxidant defence system in green alga *Acutodesmus obliquus*, *Plant Physiology and Biochemistry*, 132, 535-546.
- Priyadarshani, I. ve Rath, B., 2012, Commercial and industrial applications of micro algae – A review, *Journal of Algal Biomass Utilization*, 3(4), 89–100
- Radakovits, R., Jinkerson, R.E., Darzins, A. and Posewitz, M.C., 2010, Genetic engineering of algae for enhanced biofuel production, *Eukaryotic cell*, 9(4), 486-501.
- Rameau, C., Goormachtig, S., Cardinale, F., Bennett, T. ve Cubas, P., 2019 *Strigolactones as Plant Hormones*, Strigolactones-Biology and Applications, In: Koltai, H. ve Prandi, C. (eds), Chapter 1, Springer, Switzerland, ISBN: 978-3-030-12152-5, 1-45

- Rasala, B. A., ve Mayfield, S. P., 2015, Photosynthetic biomanufacturing in green algae; production of recombinant proteins for industrial, nutritional, and medical uses, *Photosynthesis research*, 123(3), 227-239.
- Reece, J. B., Urry, L. A., Cain, M. L., Wasserman, S. A., Minorsky, P. V. ve Jackson, R. B., 2011, *Büyük Biyolojik Moleküllerin Yapı ve İşlevi, Ninth Edition*, Campbell Biyoloji, In: Gündüz, E ve Türkan, İ. (eds.), 5, Palme Yayıncılık, Ankara, ISBN: 978-605-355-147-8
- Renuka, N., Guldhe, A., Singh, P., ve Bux, F., 2018, Combined effect of exogenous phytohormones on biomass and lipid production in *Acutodesmus obliquus* under nitrogen limitation, *Energy Conversion and Management*, 168, 522-528.
- Ruyter-Spira, C., Kohlen, W., Charnikhova, T., van Zeijl, A., van Bezouwen, L., de Ruijter, N., Cardoso, C., Lopez-Raez, J. A., Matusova, R., Bours, R., Verstappen, F. Ve Bouwmeester, H., 2011, Physiological effects of the synthetic strigolactone analog GR24 on root system architecture in arabidopsis: Another belowground role for strigolactones?, *Plant Physiology*, 155(2), 721–734.
- Salama, E. S., Kabra, A. N., Ji, M. K., Kim, J. R., Min, B., ve Jeon, B. H., 2014, Enhancement of microalgae growth and fatty acid content under the influence of phytohormones, *Bioresource technology*, 172, 97-103.
- Salama, E. S., Kim, H. C., Abou-Shanab, R. A., Ji, M. K., Oh, Y. K., Kim, S. H., ve Jeon, B. H., 2013, Biomass, lipid content, and fatty acid composition of fresh water *Chlamydomon asmexicana* and *Scenedesmus obliquus* grown under salt stress, *Bioprocess and biosystems engineering*, 36(6), 827-833.
- Salama, E.S., Jeon, B.H., Chang, S.W., Lee, S.H., Roh, H.S., Yang, I.S., Kurade, M.B., El-Dalatony, M.M., Kim, D.H., Kim, K.H. and Kim, S., 2017, Interactive effect of indole-3-acetic acid and diethyl aminoethyl hexanoate on the growth and fatty acid content of some microalgae for biodiesel production, *Journal of Cleaner Production*, 168, 1017-1024.
- Scaffidi, A., Waters, M. T., Ghisalberti, E. L., Dixon, K. W., Flematti, G. R., ve Smith, S. M., 2013, Carlactone-independent seedling morphogenesis in Arabidopsis, *The Plant Journal*, 76(1), 1-9
- Shen, X., Xue, Z., Sun, L., Zhao, C., Sun, S., Liu, J., Zhao, Y., ve Liu, J., 2020, Effect of GR24 concentrations on biogas upgrade and nutrient removal by microalgae-based technology, *Bioresource Technology*, 312, 123563.
- Smith, S. M., 2014, Q&A: What are strigolactones and why are they important to plants and soil microbes?, *BMC biology*, 12(1), 19.
- Song, X., Zhao, Y., Li, T., Han, B., Zhao, P., Xu, J. W., ve Yu, X., 2019, Enhancement of lipid accumulation in *Monoraphidium* sp. QLY-1 by induction of strigolactone, *Bioresource technology*, 288, 121607.

- Song, X., Zhao, Y., Han, B., Li, T., Zhao, P., Xu, J. W., ve Yu, X., 2020, Strigolactone mediates jasmonic acid-induced lipid production in microalga *Monoraphidium* sp. QLY-1 under nitrogen deficiency conditions, *Bioresource Technology*, 123107.
- Sulochana, S.B. and Arumugam, M., 2016, Influence of abscisic acid on growth, biomass and lipid yield of *Scenedesmus quadricauda* under nitrogen starved condition, *Bioresource technology*, 213, 198-203.
- Tang, D., Han, W., Li, P., Miao, X., ve Zhong, J., 2011, CO₂ biofixation and fatty acid composition of *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella pyrenoidosa* in response to different CO₂ levels, *Bioresource technology*, 102(3), 3071-3076.
- Vasudevan, P. T., ve Briggs, M., 2008, Biodiesel production—current state of the art and challenges, *Journal of industrial microbiology & biotechnology*, 35(5), 421.
- Wahidin, S., Idris, A., ve Shaleh, S. R. M., 2013, The influence of light intensity and photoperiod on the growth and lipid content of microalgae *Nannochloropsis* sp. *Bioresource Technology*, 129, 7–11.
- Waldie, T., McCulloch, H. ve Leyser, O., 2014, Strigolactones and the control of plant development: Lessons from shoot branching, *Plant Journal*, 79(4), 607-622
- Widjaja, A., Chien, C. C., ve Ju, Y. H., 2009, Study of increasing lipid production from fresh water microalgae *Chlorella vulgaris*, *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 40(1), 13-20.
- Xie, X., Yoneyama, Kaori ve Yoneyama, Koichi, 2010, The Strigolactone Story, *Annual Review of Phytopathology*, 48, 93–117.
- Xin, L., Hong-Ying, H., ve 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.
- Yeesang, C., ve Cheirsilp, B., (2011), Effect of nitrogen, salt, and iron content in the growth medium and light intensity on lipid production by microalgae isolated from freshwater sources in Thailand, *Bioresource technology*, 102(3), 3034-3040.
- Yokota, T., Sakai, H., Okuno, K., Yoneyama, K., ve Takeuchi, Y., 1998, Alectrol and orobanchol, germination stimulants for *Orobancha minor*, from its hostred clover. *Phytochemistry*, 49(7), 1967-1973
- Yoneyama, K., 2007b. Nitrogen deficiency as well as phosphorus deficiency in sorghum promotes the production and exudation of 5-deoxystrigol, the host recognition signal for arbuscular mycorrhizal fungi and root parasites, *Planta*, 227(1), 125-132.
- Yoneyama, K., Yoneyama, K., Takeuchi, Y., ve Sekimoto, H., 2007a, Phosphorus deficiency in red clover promotes exudation of orobanchol, the signal for mycorrhizal symbionts and germination stimulant for root parasites, *Planta*, 225(4), 1031-1038.

- Yu, Z., Pei, H., Jiang, L., Hou, Q., Nie, C., ve Zhang, L., 2018, Phytohormone addition coupled with nitrogen depletion almost tripled the lipid productivities in two algae, *Bioresource technology*, 247, 904-914.
- Zhang, W., Zhao, C., Liu, J., Sun, S., Zhao, Y. ve Wei, J., 2021a, Effects of exogenous GR24 on biogas upgrading and nutrient removal by co-culturing microalgae with fungi under mixed LED light wavelengths, *Chemosphere*, 281, p.130791.
- Zhang, J., Zhao, C., Sun, S., Zhao, Y. ve Liu, J., 2021b, Performance of different microalgae-based technologies in nutrient removal and biogas upgrading in response to various GR24 concentrations, *International Biodeterioration & Biodegradation*, 158, 105166.
- Zhao, Y., Wang, H. P., Han, B., ve Yu, X., 2019, Coupling of abiotic stresses and phytohormones for the production of lipids and high-value by-products by microalgae: A review, *Bioresource technology*, 274, 549-556
- Zwanenburg, B., Pospíšil, T. ve Čavar Zeljković, S., 2016, Strigolactones: new plant hormones in action, *Planta*, 243(6), 1311–1326
- Zwanenburg, B., ve Blanco-Ania, D., 2018, Strigolactones: new plant hormones in the spotlight, *Journal of experimental botany*, 69(9), 2205-2218.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Seran KIRKINCI
Doğum Yeri	Kadıköy
Doğum Tarihi	
Uyruğu	☒ T.C. ☐ Diğer:
Telefon	
E-Posta Adresi	
Web Adresi	

Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Fakülte	Fen Fakültesi
Bölümü	Biyoloji
Mezuniyet Yılı	Tarih girmek için tıklayın veya dokununuz.

Yüksek Lisans	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Biyoloji Anabilim Dalı
Programı	Botanik Programı