

**FARKLI FOSFOR DERİŞİMLERİNİN *Pavlova lutheri*,  
*Isochrysis galbana* ve *Chlorella vulgaris*' in BAZI  
BİYOKİMYASAL PARAMETRELERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

**DORUK YILMAZ**

**ME.Ü.  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI**

97716

**TC. YÜKSEKÖĞRETİM KÜLTÜR  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

**MAYIS - 2000**

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Bu çalışma, jürimiz tarafından, Su Ürünleri..... Anabilim Dalında Yüksek Lisans / ~~Doktora Tezi~~ olarak ~~oyçektığı~~ / oybirliği ile kabul edilmiştir.

12/4/2000

Adı – Soyadı

İmza

Başkan: Yrd. Doç. Dr. Mustafa Kalay

.....

Üye : Prof. Dr. Cahit ERDEM

.....

Üye : Yrd. Doç. Dr. Ayşe Everest

Üye : .....

Üye : .....

Bu tezin kabulü Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu' nun 16/5/2000 gün ve 2000/10/6 - sayılı kararıyla onaylanmıştır.

SS  
.....

Prof. Dr. Özden BAŞTÜRK

Mersin Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## ÖZ

Bu araştırmada, farklı fosfor ortam derişimlerinin etkisinde *Pavlova lutheri*, *Isochrysis galbana* ve *Chlorella vulgaris*' in total protein, karbohidrat ve fotosentetik pigment düzeyleri karşılaştırılmıştır.

Ortamdaki fosfor derişimi, türlerin hücre yoğunluğu üzerinde belirgin bir etki göstermemiştir. *P. lutheri* ve *C. vulgaris* türlerinin kültürlerdeki hücre yoğunluğu 15. günde, buna karşın *I. galbana*' nın kültürdeki hücre yoğunluğu ise 7. günde en yüksek değere ulaşmıştır.

*P. lutheri*' nin protein düzeyi, 0.26 ve 0.51 mM fosfor içeren kültürlerde düşüş göstermiştir. Buna karşın *I. galbana*' nın protein düzeyi fosfor içeren kültürlerde artış göstermiş olup, en yüksek protein düzeyi 0.26 mM fosfor içeren kültürde ölçülmüştür. *C. vulgaris* için ise en yüksek protein düzeyi fosfor içermeyen kültürde saptanmıştır.

*I. galbana* ve *C. vulgaris*' in pentoz ve heksoz düzeyleri kültürdeki fosfor derişimine bağlı olarak düşüş göstermiştir. Buna karşın *P. lutheri*' nin pentoz ve heksoz düzeyleri üzerinde ortamdaki fosfor derişiminin etkisi belirgin değildir.

Ortam fosfor derişiminin artması ile türlerin klorofil a ve total klorofil düzeylerinde genel bir düşüş belirlenmiştir. Klorofil b' nin en yüksek değerleri *P. lutheri* için 0.13 mM fosfor derişiminde, *C. vulgaris* için 0.26 mM fosfor derişiminde ve *I. galbana* için ise fosfor içermeyen ortamda ölçülmüştür. En yüksek karetenoid düzeyi *P. lutheri* için 0.13 mM, *I. galbana* için 0.51 mM, *C. vulgaris* için ise 0.26 mM fosfor derişimlerinde belirlenmiştir.

## ABSTRACT

In this study, we compared carbohydrate, protein and photosynthetic pigment levels of *Pavlova lutheri*, *Isochrysis galbana* and *Chlorella vulgaris* in effect of varying phosphorus concentrations.

The cellular density were constant in all phosphorus concentrations. Maximum cellular density of *P. lutheri* and *C. vulgaris* were obtained at days 15. However maximum cellular density of *I. galbana* was obtained at days 7.

Protein content of *P. lutheri* decreased at 0.26 mM and 0.51 mM of phosphorus. However, protein content of *I. galbana* increased at 0.13, 0.26 and 0.51 mM phosphorus concentrations and maximum value of protein content of *I. galbana* was obtained at 0.13 mM phosphorus concentration. Maximum value of protein content of *C. vulgaris* was obtained at cultures without phosphorus.

Pentoz and heksoz levels of *I. galbana* and *C. vulgaris* decreased while phosphorus concentration increased in the culture culture was increasing. However, pentoz and heksoz levels of *P. lutheri* reached maximum value at 0.51 mM phosphorus concentration.

Total chlorophyll and chlorophyll a levels of all species decreased while phosphorus increased. Max value of chlorophyll b was obtained at 0.13 mM phosphorus concentration in *P. lutheri*, at 0 mM P in *I. galbana* and at 0.26 mM phosphorus in *C. vulgaris*. Maximum value of caretenoid was obtained at 0.13 mM phosphorus concentration. at 0.51 mM phosphorus in *I. galbana* and at 0.26 mM phosphorus in *C. vulgaris*.

## TEŞEKKÜR

Yaptığım alışmalar sonunda, özellikle yazım aşamasında yardımlarını gördüğüm danışmanım sayın Yrd. Doç Dr. Mustafa KALAY' a teşekkür ederim.

Ayrıca yaptığım çalışmalar sırasında, yardımlarını gördüğüm sayın Arş. Gör. Ferbal ÖZKAN' a ve sayın Arş. Gör. Sahire KARATAŐ' a teşekkür ederim.



**İÇİNDEKİLER****SAYFA NO**

ÖZ .....	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
ÇİZELGE LİSTESİ.....	vii
ŞEKİL LİSTESİ.....	viii
<b>BÖLÜM</b>	
1.GİRİŞ.....	1
2.MATERYAL VE METOD.....	5
3.ARAŞTIRMA BULGULARI.....	9
4.TARTIŞMA.....	22
ÖZET.....	26
SUMMARY.....	28
KAYNAKLAR.....	29
ÖZGEÇMİŞ.....	33

**ÇİZELGE LİSTESİ****ÇİZELGE****SAYFA NO**

1. Farklı fosfor derişimlerinin protein düzeyi (mg/gr yaş ağr.) üzerine etkileri ..... 10
2. Farklı fosfor derişimlerinin pentoz düzeyi (mg/gr yaş ağr.) üzerine etkileri ..... 11
3. Farklı fosfor derişimlerinin heksoz düzeyi (mg/gr yaş ağr.) üzerine etkileri .....12
4. Farklı fosfor derişimlerinin *P. lutheri*' nin fotosentetik pigment düzeyi (mg/gr yaş ağr.) üzerine etkileri ..... 13
5. Farklı fosfor derişimlerinin *I. galbana*' nın fotosentetik pigment düzeyi (mg/gr yaş ağr.) üzerine etkileri ..... 13
6. Farklı fosfor derişimlerinin *C. vulgaris*' in fotosentetik pigment düzeyi (mg/gr yaş ağr.) üzerine etkileri ..... 14

## ŞEKİL LİSTESİ

### ŞEKİL

### SAYFA NO

1. *P. lutheri*' nin kültürdeki hücre yoğunluğuna farklı fosfor derişimlerinin etkileri.....16
2. *I. galbana* ' nın kültürdeki hücre yoğunluğuna farklı fosfor derişimlerinin etkileri.....16
3. *C. vulgaris* ' in kültürdeki hücre yoğunluğuna farklı fosfor derişimlerinin etkileri.....17
4. Protein derişimi ile absorbans arasındaki doğrusal ilişki.....17
5. Glikoz derişimi ile absorbans arasındaki doğrusal ilişki.....18
6. Farklı fosfor derişimlerinde *P. lutheri*, *I. galbana* ve *C. vulgaris* türlerine ait protein düzeylerinin karşılaştırılması .....18
7. Farklı fosfor derişimlerinde *P. lutheri*, *I. galbana* ve *C. vulgaris* türlerine ait pentoz düzeylerinin karşılaştırılması.....19
8. Farklı fosfor derişimlerinde *P. lutheri*, *I. galbana* ve *C. vulgaris* türlerine ait heksoz düzeylerinin karşılaştırılması .....19
9. Farklı fosfor derişimlerinde *P. lutheri*, *I. galbana* ve *C. vulgaris* türlerine ait klorofil a düzeylerinin karşılaştırılması .....20
10. Farklı fosfor derişimlerinde *P. lutheri*, *I. galbana* ve *C. vulgaris* türlerine ait klorofil b düzeylerinin karşılaştırılması .....20
11. Farklı fosfor derişimlerinde *P. lutheri*, *I. galbana* ve *C. vulgaris* türlerine ait total klorofil düzeylerinin karşılaştırılması.....21
12. Farklı fosfor derişimlerinde *P. lutheri*, *I. galbana* ve *C. vulgaris* türlerine ait karetenoid düzeylerinin karşılaştırılması.....21



## GİRİŞ

Su ortamında organik madde sentezleyen temel üreticiler mikroalglerdir. Çeşitli kaynaklardan gelen basit molekülleri bir ışık kaynağı yardımı ile yaşamları için gerekli olan kompleks moleküllere dönüştürürler (Hoff ve Snell, 1987).

Mikroalgler karbohidrat ve yağ asidi bakımından oldukça zengindirler. Besin değeri yüksek olan bu organizmalar sucul komüniteler için gerekli olan makro besin, vitamin ve iz elementlerin en önemli kaynağıdır. Aynı zamanda balık ve omurgasızlarda renklenmenin gelişmesinde gerekli olan temel pigmentleri sağlarlar (Cirik ve Gökınar, 1993).

Su ortamının verimliliği hakkında bilgi edinmek için öncelikle ortamın plankton kompozisyonu ve bunun üzerinde etkili olan faktörleri saptamak gerekmektedir. Besin zincirinin üst halkalarında üretimin sınırlarını belirleyen en önemli faktör primer produktivitedir (Werner, 1977). Mikroalgler ile ilgili kalitatif ve kantitatif değerler primer üretim düzeyi hakkında bilgi vermektedir.

Fitoplanktonlar su ortamında gerçekleşen besin döngüsünde anahtar bir role sahiptirler. Amonyak, üre, nitrat ve fosfat gibi makro elementleri, iz elementleri ve bazı vitaminleri kullanarak organik maddeyi oluştururlar. Bu hücrelerin ölüp ayrışması ile kimyasal döngü devam etmektedir (Davis, 1977).

Gerek doğal ortamda yaşamlarını sürdüren gerekse laboratuvar koşullarında kültürleri yapılan deniz alglerinin ekonomideki önemi büyüktür. Bu önem alglerin çeşitli alanlarda kullanılmasından ileri gelmektedir. Besin kaynağı olarak değerlendirilmelerinin yanı sıra, günümüzde atık su arıtımı ve güneş enerjisinin biyomasa dönüştürülmesi gibi alanlarda da kullanılmaktadır. Diğer taraftan algal biyomasdan bazı kimyasal maddelerin (metan gazı, antibiyotik, karaginin, agar) üretiminde de yararlanılabilmektedir (Goldman, 1979).

Alglerin içerdığı organik materyalin gerek besin kaynağı olarak gerekse akuakültür amaçları çerçevesinde pek çok denizel larvanın yetiştiriciliğinde kullanılması, yığın kültür (mass culture) çalışmalarını desteklemiş ve daha verimli kültürleri elde etmek amacıyla yapılan araştırmaları hızlandırmıştır (Gökpınar, 1990). Larval üretim yapılan tesislerde kurulan alg kültür ünitelerindeki başarı, zincirin diğer aşamalarına (zooplankton, larva) yansımaktadır.

Akuakültür çalışmalarında ve tek hücre proteini (SCP) elde etme amacına yönelik tüm kültür uygulamalarında temel amaç, fotosentez işleminin organik maddeye dönüşümdeki verimliliğini maksimuma ulaştırmak ve bitkisel organik maddeyi optimum şekilde üretmektir. Böyle bir sonucu yüksek biyomas eldesi amaçlanan büyük ölçekli kültür sistemlerinde başarabilmek için güneş enerjisinden yararlanılmaktadır.

Temel fitoplankton gruplarından alınan örnek türlerin kültürleri yapılarak, büyümeleri üzerine farklı fiziksel ve kimyasal faktörlerin etkilerinin saptanması, bu grupların doğal popülasyonlarının büyümeleri için gerekli olan sıcaklık, CO<sub>2</sub> düzeyi, besin kaynağının kalitesi ve düzeyi, ışığın yoğunluk ve süresi gibi kritik faktörlerin saptanması açısından da önemlidir (Cirik ve Gökpınar, 1993). Bu nedenle belirli koşullar altında bir türün verimliliğini kestirebilmek için belirlenen optimum koşullar altındaki performansını bilmek gerekmektedir. Bu bilgiler, biyokimyasal çalışmaların değerlendirilmesi, kültür sistemlerinin kurulması ve işletilmesi gibi konuların temelini oluşturmaktadır.

Fitoplankton hücreleri organik madde sentezini gerçekleştirmek için azot ve fosfor gibi temel elementlere gereksinim duyarlar. Azot hücrede amino asitlerin dolayısı ile proteinlerin yapısında rol oynamaktadır. Fosfor ise Adenozintrifosfat' ın (ATP), nükleik asitlerin ve fosfolipidlerin yapısına girmesi açısından önem taşır. Genel olarak denizler fitoplankton için azot ve fosfor tuzları bakımından yeterli düzeyde

zengin değillerdir ( Davis, 1977). Bu nedenle alg kültürünün yapılacağı ortamın bu tuzlar bakımından zenginleştirilmesi gerekmektedir (Labeda, 1990).

Planktonik alger fosfordan ortofosfat şeklinde yararlanabilmektedir. Alglerde ortofosfatları yüksek enerjili bileşiklere katabilen üç ana işlem vardır; Substrat fosforilasyonu, oksidatif fosforilasyon, fotofosforilasyon (Holm ve Hansen,1970). Algerin optimal büyümesi için gerekli olan fosfor miktarı, tre bağlı olarak farklılık göstermektedir. Fosfor düzeyi ile büyüme arasındaki ilişkiyi açıklayan temel metabolik reaksiyonlar Ketchum (1939) tarafından çalışılmıştır. Pirson ve ark.(1952) fosfor yetmezliği koşullarında *Ankistrodesmus sp.* ' de kuru ağırlık üretiminin, hücre bölünmesinin ve klorofil sentezinin inhibe edildiğini saptamışlardır. Poul ve Stitt (1993); fosfor yetmezliğinde *Nicotiana tabacum* ' da klorofil düzeyi değişmemesine karşın, karbohidrat düzeyinin arttığını, protein düzeyinin ise düşüş gösterdiğini saptamışlardır. *Gossypium hirsutum* ile yapılan bir çalışmada fosfor yetmezliği olan kültürde hücre nişasta düzeyi artış göstermiştir (Radin ve Eidenbock 1986).

Zooplankton ve balık larvası beslemeye yönelik çalışmalarda kullanılan mikroalglerin biyokimyasal içeriği besin kalitesini etkilemektedir. Beslemeye yönelik bu çalışmalarda hücrelerin biyokimyasal içeriğini etkileyen parametrelerin bilinmesi gerekmektedir. Kullanılan kültür ortamı ve kimyasal kompozisyonu ile birlikte işık yoğunluğu, sıcaklık, pH, tuzluluk ve hasat aşaması gibi çevresel faktörler hücrenin biyokimyasal içeriği üzerinde belirleyici olmaktadır. Fabregas ve ark.(1986); kültüre aldıkları *Isochrysis galbana* ' nın hücre sayısı ile karbohidrat ve klorofil a düzeyinin ortamdaki nitrat derişimine bağlı olarak azaldığını, buna karşın protein düzeyinin ise arttığını belirlemişlerdir. Goldman (1976); farklı deniz fitoplanktonları ile yaptığı bir çalışmada, sıcaklık değişiminin kültürdeki partiküler karbon ve azot oranı ile hücre yoğunluğu üzerinde etkili olduğunu saptamıştır. Kültürdeki işık yoğunluğunun algal biyomas üzerine etkisini alışan Spectorova ve ark. (1982), işık yoğunluğunun artmasına bağlı olarak hücre içi total azot düzeyinin de arttığını belirlemişlerdir. Brown ve ark. (1993), farklı hasat aşamalarının mikroalglerin biyokimyasal içeriği üzerindeki etkileri ile ilgili yaptıkları çalışmada,

logaritmik fazda hasat edilen türlerin karbohidrat ve lipid düzeylerinin düşük, buna karşın protein düzeylerinin ise yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Ancak hasat durağan fazda yapıldığında lipid düzeyleri artış gösterirken, protein düzeyi düşüş göstermiştir. Bazı mikroalg türlerinde tuzluluk büyüme hızını ve protein içeriğini arttırmıştır (Fabregas ve ark. 1984).

Bu çalışmanın amacı; fosfor içeriği farklı olan Conway ortamlarında (Walne, 1956) kültüre alınan *P. lutheri*, *I. galbana* ve *C. vulgaris*' in biyokimyasal parametrelerinin karşılaştırılmasıdır.



## MATERYAL VE YÖNTEM

Araştırma materyali olarak; *Pavlova lutheri*, *Isochrysis galbana* ve *Chlorella vulgaris* kullanılmıştır. Bu türler 15 gün süre ile cam malzemeler içinde kültüre alınmışlardır. Bu süre sonunda kültürlerin maksimum sayıya gelmesi sağlanmıştır. Besin ortamı, tuzluluğu ‰ 35 olan deniz suyu ile hazırlanmıştır. Aydınlatma sistemi  $100 \mu\text{mol} / (\text{m}^2 \times \text{sn})$  in altında olacak şekilde ayarlanmıştır (Labeda, 1990). Kültürlerin bulunduğu laboratuvar sıcaklığı deneyler süresince  $22 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$  de tutulmuştur (Brown ve ark., 1993). Algler, fosfor düzeyi birbirinden farklı olan dört Conway ortamına alınmışlardır (Walne, 1966). Bu ortamlardan biri fosfor içermezken, diğer üçü 3.97 ppm (0.13 mM), 7.95 ppm (0.26 mM) ve 15.90 ppm (0.51 mM) fosfor içermektedirler. Kültüre verilen Conway ortamı aşağıda gösterilmiştir. Bu düzeylerde fosfor içeren kültür ortamlarını hazırlamak için, Conway tarafından önerilen stok çözelti I, stok çözelti II ve iz element çözeltisi hazırlanmıştır. Kültürlerin hacmi az olduğundan vitaminler (B1, B12) içeren stok çözelti 2 Conway ortamına eklenmemiş ve havalandırma yapılmamıştır (Labeda, 1990).

### Stok solusyon I

NaNO <sub>3</sub>	100 gr
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	20 gr
FeCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	1.3 gr
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	33.6 gr
Na EDTA	45 gr
MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	0.36 gr
İz Element Solusyonu	1 ml
Distile Su	1 l

### İz Element Solusyonu

ZnCl <sub>2</sub>	2.1 gr
CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	2.0 gr
(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> .4H <sub>2</sub> O	0.9 gr
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	2.0 gr
Distile Su	100 ml

### Stok Solusyonu II

Vitamin B <sub>1</sub>	20 mg
Vitamin B <sub>12</sub>	1 mg
Distile Su	200 ml

Stok çözelti 1 in sadece fosfat derişimi birbirinden farklı dört çözeltisi hazırlanmıştır. Bu dört çözeltiden biri fosfat içermezken, diğerleri 20, 40 ve 80 gr fosfat ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) içermektedirler. Stok çözeltilerden 1 ml alınıp 1 lt deniz suyu içeren ilgili kaba eklenerek, diğer özellikleri ile aynı olmakla birlikte fosfor içeriği 0.0, 0.13, 0.26 ve 0.51 mM olan Conway ortamları hazırlanmıştır. Her bir fosfor derişimi için deneyler üç tekrarlı olarak yapılmıştır.

Başlangıçta alglerin inokulasyonu 250 ml lik erlenlere yapılmıştır. Daha sonra 4 günlük periyotlarla sırası ile 500 ml lik erlenlerde ve 1000 ml lik balonlarda hacim artırılarak deneyler sürdürülmüştür. Kültürde kullanılacak olan deniz suyu 0.45 µm lik milipor filtreden geçirildikten sonra, otoklavda 120°C sıcaklıkta 2 atmosfer basınç altında 20 dakika süre ile steril edilmiştir (Fabregas ve ark. 1985). Deneyler sırasında alg hücrelerinin dibe çökmesini önlemek ve homojen dağılım sağlamak amacı ile kültürler günde iki kez el ile çalkalanarak karıştırılmışlardır (Labeda, 1990).

Alg türlerinin hücre yoğunluğunu ve biyokimyasal içeriklerini belirlemek amacı ile 15. günün sonunda kültürler hasat edilmiştir. Kültür yoğunluğu Toma lamı yardımı ile ışık mikroskobu altında hücre sayımı yapılarak belirlenmiştir (Fabregas ve ark., 1984).

Hasat edilecek kültürler su trompu yardımı ile 0.45µm lik milipor filtreden geçirilerek süzölmüşlerdir. Daha hızlı bir süzme için hasat işlemlerinde su trompu kullanılmıştır. Süzme işlemi sonunda filtre kağıdı üzerinde toplanan algler yaş ağırlıkları belirlendikten sonra protein, karbohidrat ve fotosentetik pigment analizlerinde kullanılmışlardır.

Total protein düzeyi belirlenecek olan örneklerin üzerine kuartz kumu ve 0,5 ml fosfat tamponu eklenerek ezme ve homojenizasyon işlemi yapıldıktan sonra 4 ml saf

su eklenerek homojenizasyona devam edilmiştir. Homojenat 5000 devirde 5 dk santrifüj (EBA 12, HETTICH) edilerek, (Harrison ve Thomas, 1988) üst fazdaki protein düzeyi spektrofotometre (SHIMADZU, UV 1200) yardımı ile dye-binding metodu uygulanarak belirlenmiştir (Bradford, 1976). Bu amaçla süpernatanttan 0,5 ml alınarak üzerine 0,5 ml Bradfod ayırıcı eklenmiş ve protein absorbans değerleri 595 nm dalga boyuna ayarlı spektrofotometrede ölçülmüştür.

Pentoz ve heksoz düzeyleri belirlenecek olan örneklerin homojenizasyonunda da kuartz kumu ve saf su kullanılmıştır. Homojenat 5000 devirde 5 dk santrifüj edilerek süpernatant kısım ayrılmıştır. Süpernatanttan 0.4 ml alınarak üzerine 0.4 ml fenol ve 2 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> eklenmiştir. Bu karışım 10 dakika oda sıcaklığında, daha sonra 20 dakika kadar 30°C lik su banyosunda tutularak reaksiyonun tamamlanması sağlanmıştır. Bu işlemlerden sonra örneklerdeki total karbohidrat düzeyi 490 nm de spektrofotometrik ölçümler yapılarak belirlenmiştir (Kochert 1978).

Fotosentetik pigment düzeyleri belirlenecek olan örneklerin üzerine kuartz kumu ve 4 ml aseton ilave edilerek homojenizasyon yapılmıştır. Fotosentetik pigmentlerin aseton fazına geçmesi için elde edilen homojenat 1 gece +4 °C de tutulduktan sonra 5000 devirde santrifüj edilmiştir. Süpernatanttaki klorofil a, klorofil b, total klorofil ve total karotenoid düzeyleri spektrofotometre yardımı ile belirlenmiştir (Lichtenhaler ve Wellburn, 1983). Pigment düzeyleri Lichtenhaler ve Wellburn tarafından geliştirilen formüllere göre hesaplanmıştır. Fotosentetik pigment düzeylerini belirlemek amacıyla 470, 645, 652 ve 663 nm de ölçümler yapılmıştır. Çözeltideki bulanıklıktan ileri gelebilecek farkları önlemek için aşağıdaki formüllerden elde edilen değerlerden 750 nm deki absorbans değerleri çıkarılmıştır.

Toplam Klorofil =  $A_{652} \times 27.8 \times 4 / \text{mg örnek ağırlığı}$

CA = Klorofil a =  $( 11.75 \times A_{663} - 2.35 \times A_{645} ) \times 4 / \text{mg örnek ağırlığı}$

CB = Klorofil b =  $( 18.61 \times A_{645} - 3.96 \times A_{663} ) \times 4 / \text{mg örnek ağırlığı}$

Karotenoidler =  $( ( 1000 \times A_{470} - 2.27 \times CA - 81.4 \times CB ) / 227 ) \times 4 / \text{mg örnek ağırlığı}$

Formüldeki A<sub>652</sub>; 652 nm dalga boyunda ölçülen absorbans değeri,

A<sub>663</sub>; 663 nm dalga boyunda ölçülen absorbans değeri,

A645; 645 nm dalga boyunda ölçülen absorbans değeri,

A470; 470 nm dalga boyunda ölçülen absorbans değeri

Belirlenen verilerin istatistiki değerlendirilmesi “Regresyon analizi” ve “Duncan Test” kullanılarak yapılmıştır .





## ARAŞTIRMA BULGULARI

Fosfor derişimi farklı olan Conway ortamlarının etkisinde *P. kutheri*' nin kültürdeki yoğunluğu süreye bağlı olarak artış göstermiştir. Bu artış özellikle 5. günden başlayarak belirgince gözlenmektedir. 70.95 ppm (0.26 mM) fosfor içeren ortamda hücre yoğunluğu, diğer ortamlardaki hücre yoğunluğuna göre daha düşük bulunmuştur. Hasat döneminde en yüksek hücre yoğunluğu fosfor derişimi 15.90 ppm (0.51 mM) olan ortamda belirlenmiştir (Şekil 1).

*I. galbana*' nın kültürdeki yoğunluğu, tüm fosfor derişimleri için 7 günlük sürede en yüksek değere ulaşmıştır. Bu süreden başlayarak hasat zamanına kadar 15.90 ppm (0.51 mM) fosfor derişiminde hücre yoğunluğu belirgin bir düşüş gösterirken, diğer fosfor derişimlerini içeren kültürlerde hücre sayısı 7 günlük süredeki yoğunluğa yakın bir değerde kalmıştır (Şekil 2).

*C. vulgaris* için çalışılan tüm fosfor derişimlerinde hücre yoğunluğu süreye bağlı olarak artış göstermiştir. Ancak *C. vulgaris*' in kültürdeki hücre yoğunluğu bakımından fosfor derişimleri arasında ayırım bulunmamaktadır (Şekil 3).

*P. kutheri* ve *C. vulgaris* türlerinin kültürdeki yoğunluğu 15. günde, buna karşın *I. galbana*' nın kültürlerdeki yoğunluğu 7. günde en yüksek değere ulaşmıştır (Şekil 1,2 ve 3). *I. galbana*' nın hücre yoğunluğu tüm fosfor derişimleri için 1. günden başlayarak önemli düzeyde artmış olup, bir kaç günde yüksek yoğunluğa ulaşmıştır (Şekil 2).

Kültüre alınan alg türlerinin protein ve karbohidrat düzeylerini belirlemek amacı ile Şekil 4 ve 5 de verilen standartlar ile absorbanslar arasındaki doğrusal ilişkiyi gösteren regresyon doğruları kullanılmıştır. Protein standartları serum albümininden, karbohidrat standartları ise glikozdan hazırlanmıştır.

*P. kutheri*' nin protein düzeyi 7.95 ppm (0.26 mM) ve 15.90 ppm (0.51 mM) fosfor içeren kültürlerde istatistik ayırım gösterecek düzeyde düşüş göstermiştir. *C. vulgaris*

için en yüksek protein düzeyi fosforun eklenmediği kültürde ölçülmüştür. Bu nedenle *C. vulgaris*' in protein düzeyi fosfor içeren tüm kültürlerde istatistik ayırım gösterecek şekilde düşüş göstermiştir. En fazla protein düşüşü, 7.95 ppm (0.26 mM) fosfor içeren kültürde belirlenmiştir. *P. kutheri* ve *C. vulgaris* türlerinden farklı olarak *I. galbana*' nın protein düzeyi fosforun bulunduğu kültürlerde artış göstermiş olup, istatistik ayırım gösterecek düzeyde olan en yüksek artış 7.95 ppm (0.26 mM) fosforun bulunduğu kültürde bulunmuştur (Çizelge 1).

Çizelge 1. Farklı fosfor derişimlerinin protein düzeyi (mg/gr yaş ağırlık) üzerine etkisi.

Fosfor (mM)	Protein(mg/gy.a.)					
	<i>P. kutheri</i>		<i>I. galbana</i>		<i>C. vulgaris</i>	
	X ± sx	*	X ± sx	*	X ± sx	*
0	1.19± 0	a	1.75± 0.31	a	4.7± 0.3	a
0.13	1.26± 0.12	a	2.6± 0.38	ab	1.52± 0.29	c
0.26	0.51± 0.11	b	3.51± 0.39	b	1.02± 0.15	b
0.51	0.7± 0.12	b	2.0± 0.33	a	2.48± 0.44	c

\*=Duncan; a, b ve c derişimler arasındaki ayırımı belirlemek amacı ile kullanılmıştır.

Farklı harfler ile gösterilen veriler arasında p < 0.05 düzeyinde istatistiki ayırım vardır.

X + sx = Aritmetik ortalama + standart hata

Çalışılan üç alg türünün protein düzeyleri Şekil 6 da karşılaştırılmıştır. Fosforun bulunmadığı ortamda *C. vulgaris*' in protein düzeyi diğer türlerin protein düzeylerine göre daha yüksektir. Ancak, özellikle 3.97 ppm (0.13 mM) ve 7.95 ppm (0.26 mM) fosforun bulunduğu kültürlerde *I. galbana*' nın protein düzeyi artar iken *C. vulgaris*' in protein düzeyi belirgince düşüş göstermiştir (Şekil 6).

*P. kutheri* *I. galbana* ve *C vulgaris* alg türleri için belirlenen pentoz düzeyleri Şekil 7 de heksoz düzeyleri ise Şekil 8 de karşılaştırılmıştır. Fosforun bulunmadığı kültürde pentoz ve heksoz düzeyi en yüksek olan tür *C vulgaris* dir. Buna karşın fosforun bulunduğu kültürlerde bu türün pentoz ve heksoz düzeyi *P. kutheri* ve *I. galbana* türlerinin pentoz

ve heksoz düzeylerinden daha düşük bulunmuştur.

*P. kutheri*' de pentoz düzeyi bakımından 3.97 ppm (0.13 mM) fosfor içeren kültür ile 15.90 ppm (0.51mM) fosfor içeren kültür arasında istatistik ayırım saptanmıştır. Bu tür için en yüksek pentoz düzeyi 15.90 ppm (0.51 mM) fosfor içeren ortamda ölçülmüştür. Benzer şekilde en yüksek heksoz düzeyi de 15.90 ppm (0.51 mM) fosfor içeren kültürde saptanmıştır. En düşük heksoz düzeyi ise 3.97 ppm (0.13 mM) fosfor içeren ortamda ölçüldüğünden bu ortam derişimine sahip kültür ile fosfor içermeyen ve 15.90 ppm (0.51 mM) fosfor içeren kültürler arasında istatistik ayırım bulunmaktadır.

*I. galbana* ve *C. vulgaris* türlerinde pentoz ve heksoz düzeyinin fosfor içermeyen kültürlerde daha yüksek olduğu saptanmıştır. Bu iki tür için pentoz ve heksoz düzeyi fosfor içeren kültürlerde istatistik ayırım gösterecek düzeyde düşüş göstermiştir (Çizelge 2, 3).

Çizelge 2. Farklı fosfor derişimlerinin pentoz düzeyi (mg /gr yaş ağırlık) üzerine etkisi

Fosfor (mM)	Pentoz(mg/gy.a.)					
	<i>P. kutheri</i>		<i>I. galbana</i>		<i>C. vulgaris</i>	
	X + sx	*	X + sx	*	X + sx	*
0	1.89±0.19	ab	4.52±0.88	a	8.41±0.2	a
0.13	1.5±0.05	a	2.02±0.31	b	1.14±0	b
0.26	1.87±0.05	ab	2.77±0.37	ac	0.77±0.01	c
0.51	2.00±0.06	b	2.54±0.34	bc	0.55±0.05	c

\*=Duncan; a, b ve c derişimler arasındaki ayırımı belirlemek amacı ile kullanılmıştır.

Farklı harfler ile gösterilen veriler arasında p < 0.05 düzeyinde istatistiki ayırım vardır.

X + sx = Aritmetik ortalama + standart hata.

Çizelge 3. Farklı fosfor derişimlerinin heksoz düzeyi (mg /gr yaş ağırlık) üzerine etkisi.

Fosfor (mM)	Heksoz(mg/gy.a)		
	<i>P. kutheri</i>	<i>I. galbana</i>	<i>C. vulgaris</i>
	X + sx *	X + sx *	X + sx *
0	2.19± 0.13 a	4.98± 0.95 a	8.84± 0.17 a
0.13	1.67± 0.11 b	2.14± 0.31 b	1.2± 0.01 b
0.26	2.05± 0.05 ab	2.99± 0.38 ab	0.82± 0.01 c
0.51	2.24± 0.06 a	2.68± 0.27 b	0.62± 0.05 d

\*=Duncan; a, b ve c derişimler arasındaki ayrımı belirlemek amacı ile kullanılmıştır.

Farklı harfler ile gösterilen veriler arasında  $p < 0.05$  düzeyinde istatistiki ayrım vardır.

X + sx = Aritmetik ortalama + standart hata.

Bütün kültürlerde klorofil a düzeyi en düşük olan alg türü *P. kutheri* dir. Fosfor içermeyen ve 15.90 ppm (0.51 mM) fosfor içeren kültürlerde *I. galbana*'nın fosfor düzeyinin diğer türlerin fosfor düzeyine göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. *C. vulgaris*'in klorofil a düzeyi fosforsuz ve 7.95 ppm (0.26 mM) fosfor içeren kültürlerde çalışılan diğer fosfor kültürlerine göre, daha yüksek bulunmuştur. Genel anlamda karbohidrat düzeyi tüm türlerde fosfor etkisinde düşüş göstermiştir (Şekil 7 ve 8).

*P. kutheri*'nin klorofil a ve total klorofil düzeyi fosfor içeren kültürlerde daha düşük çıkmıştır. Buna karşın klorofil b düzeyi özellikle 3.97 ppm (0.13 mM) ve 15.90 ppm (0.51 mM) fosfor içeren kültürlerde istatistik ayrım gösterecek düzeyde artış gözlenmiştir. Total karetenoid düzeyi ise ortamdaki fosfor düzeyine bağlı olarak istatistik ayrım gösterecek düzeyde değişmemiştir (Çizelge 4).

*I. galbana* için en yüksek klorofil a düzeyi fosfor içermeyen kültürlerde ölçülmüştür. En düşük klorofil a düzeyi ise 3.97 ppm (0.13 mM) fosfor içeren kültürde belirlenmiş olup, klorofil a düzeyi bakımından tüm kültürler arasında istatistik ayrım bulunmaktadır. Aynı alg türü için klorofil b düzeyi de fosfor içeren kültürlerde daha düşük düzeydedir. *I. galbana* türünün fosfor içeren kültürlerinde klorofil a ve b düzeyi daha düşük

olduğundan, total klorofil düzeyinin de fosfor içermeyen kültüre göre daha düşük olduğu saptanmıştır. Buna karşın karotenoid düzeyi, 3.97 ppm (0.13 mM) fosfor içeren kültürde istatistiki ayırım gösterecek şekilde düşüş gösterirken, 15.90 ppm (0.51 mM) fosfor içeren kültürde bir miktar artış göstermiştir (Çizelge 5).

Çizelge 4. Farklı fosfor derişimlerinin *P. kutheri* 'nin fotosentetik pigment düzeyi (mg /gr yaş ağırlık) üzerine etkisi.

Fosfor (mM)	Klorofil a (mg /g y.a)	Klorofil b (mg /g y.a)	Total Klorofil (mg /g y.a)	Karotenoid (mg /g y.a)
	X + sx *	X + sx *	X + sx *	X + sx *
0	0.605± 0.04 a	0.0097± 0.013 a	0.83± 0.06 a	0.069± 0.01 ab
0.13	0.365± 0.01 b	0.044± 0.019 b	0.59± 0.01 b	0.115± 0.04 a
0.26	0.245± 0.04 b	0.011± 0.003 a	0.36± 0.08 c	0.05± 0.02 b
0.51	0.265± 0.02 b	0.024± 0.003 b	0.36± 0.04 c	0.05± 0.02 b

\* = Duncan; a, b ve c derişimler arasındaki ayırımı belirlemek amacı ile kullanılmıştır.

Farklı harfler ile gösterilen veriler arasında  $p < 0.05$  düzeyinde istatistiki ayırım vardır.

X + sx = Aritmetik ortalama + standart hata.

Çizelge 5. Farklı fosfor derişimlerinin *I. galbana* 'nın fotosentetik pigment düzeyi (mg /gr yaş ağırlık) üzerine etkisi.

Fosfor (mM)	Klorofil a (mg /g y.a)	Klorofil b (mg /g y.a)	Total Klorofil (mg /g y.a)	Karotenoid (mg /g y.a)
	X + sx *	X + sx *	X + sx *	X + sx *
0	1.73± 0.02 a	0.18± 0.01 a	2.5± 0.04 a	0.28± 0.01 ac
0.13	0.4± 0.02 b	0.03± 0.01 b	0.58± 0.03 b	0.11± 0.04 b
0.26	0.65± 0.02 c	0.06± 0.01 c	0.94± 0.02 c	0.22± 0.03 a
0.51	1.01± 0.04 d	0.02± 0.005 b	1.32± 0.05 d	0.34± 0.05 c

\* = Duncan; a, b ve c derişimler arasındaki ayırımı belirlemek amacı ile kullanılmıştır.

Farklı harfler ile gösterilen veriler arasında  $p < 0.05$  düzeyinde istatistiki ayırım vardır.

X + sx = Aritmetik ortalama + standart hata.

*C. vulgaris*' in klorofil a, klorofil b ve total klorofil içeriği 3.97 ppm (0.13 mM) ve 15.90 ppm (0.51 mM) fosfor içeren kültürlerde istatistik ayrım gösterecek düzeyde düşüş göstermiştir. Buna karşın fosfor içermeyen kültüre oranla 7.95 ppm (0.26 mM) fosfor içeren kültürde klorofil a, b ve total klorofil düzeyleri bir miktar artış göstermiş olup ancak bu artış istatistik ayrım gösterecek düzeyde değildir. Benzer şekilde karotenoid düzeyi de 3.97 ppm (0.13 mM) ve 15.90 ppm (0.51 mM) fosfor içeren ortamda istatistik ayrım gösterecek düzeyde düşerken 7.95 ppm (0.26 mM) fosfor içeren ortamda istatistik ayrım gösterecek düzeyde artış göstermiştir (Çizelge 6).

Çizelge 6. Farklı fosfor derişimlerinin *C. vulgaris*' in fotosentetik pigment düzeyi (mg /gr yaş ağırlık) üzerine etkisi.

Fosfor (mM)	Klorofil a (mg /g y.a) X + sx *	Klorofil b (mg /g y.a) X + sx *	Total Klorofil (mg /g y.a) X + sx *	Karotenoid (mg /g y.a) X + sx *
0	0.9±0.0 a		1.125±0.03 a	0.42±0.06 a
0.13	0.53±0.005 b	0.03±0.015 ab	0.71±0.02 b	0.25±0.0125 b
0.26	1.06±0.055 a	0.04±0.017 a	1.37±0.1 a	0.54±0.02 c
0.51	0.39±0.06 b	0.015±0.05 b	0.48±0.08 b	0.22±0.045 b

\* = Duncan; a, b ve c derişimler arasındaki ayrımı belirlemek amacı ile kullanılmıştır. Farklı harfler ile gösterilen veriler arasında  $p < 0.05$  düzeyinde istatistiksel ayrım vardır.

X + sx = Aritmetik ortalama + standart hata.

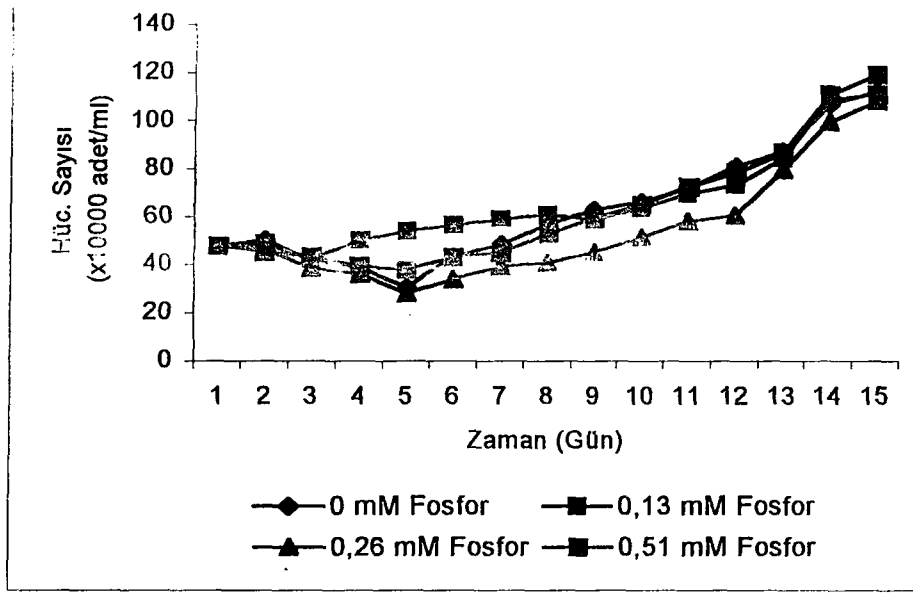
Çalışılan üç alg türüne ait klorofil a, b, total klorofil ve karotenoid düzeyleri sırası ile Şekil 9, 10, 11, ve 12 de karşılaştırılmıştır.

*I. galbana*'nın klorofil düzeyi fosfor içermeyen kültürlerde diğer türlerin klorofil b düzeylerine göre çok yüksek bulunmuştur. Buna karşın fosfor içeren kültürlerde üç türün klorofil b düzeyi birbirine yakın seviyededir (şekil 10).

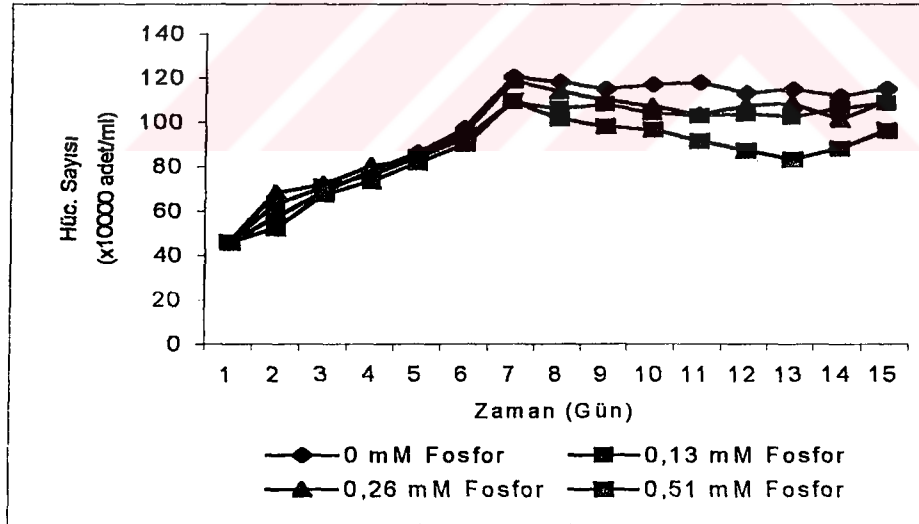
Total klorofil düzeyi içinde fosfor içermeyen kültürde *I. galbana*' ya ait düzeyin çok yüksek olduğu belirlenmiştir 3.97 ppm (0.13 mM) fosfor içeren kültürde üç türün 15.90 ppm (0.51 mM) fosfor içeren kültürde ise *P. Kutheri* ve *C. vulgaris* türlerinin total klorofil düzeyleri birbirine çok yakın seviyededir. Ancak 7.95 ppm (0.26mM) fosfor içeren kültürde en yüksek total klorofil düzeyi *C. vulgaris* de, en düşük değer ise *P. kutheri* de belirlenmiştir (Şekil 11).

*C. vulgaris*' in total karetenoid düzeyi diğer türlere göre 3.97 ppm (0.13 mM) ve 7.95 ppm (0.26 mM) fosfor ile fosfor içermeyen kültürlerde daha yüksektir. *I. galbana* ile *P. kutheri*' nin karetenoid düzeyleri 3.97 ppm (0.13 mM) fosfor içeren kültürde aynı seviyede iken, diğer kültürlerde *I. galbana*' nın karetenoid düzeyi daha yüksektir (Şekil 12).



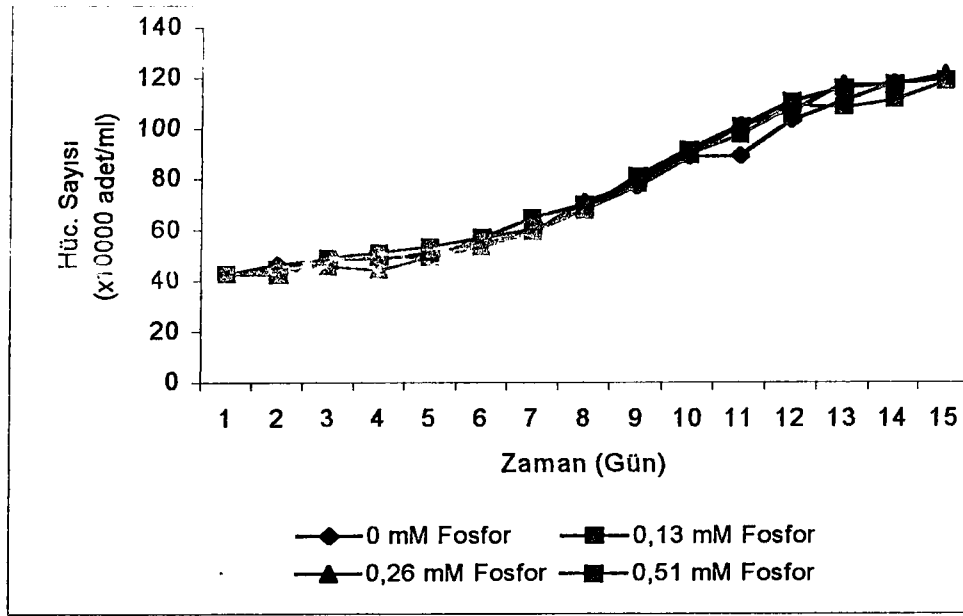


Şekil 1. *P. lutheri*'nin kültürdeki hücre yoğunluğuna farklı fosfor derişimlerinin etkisi.

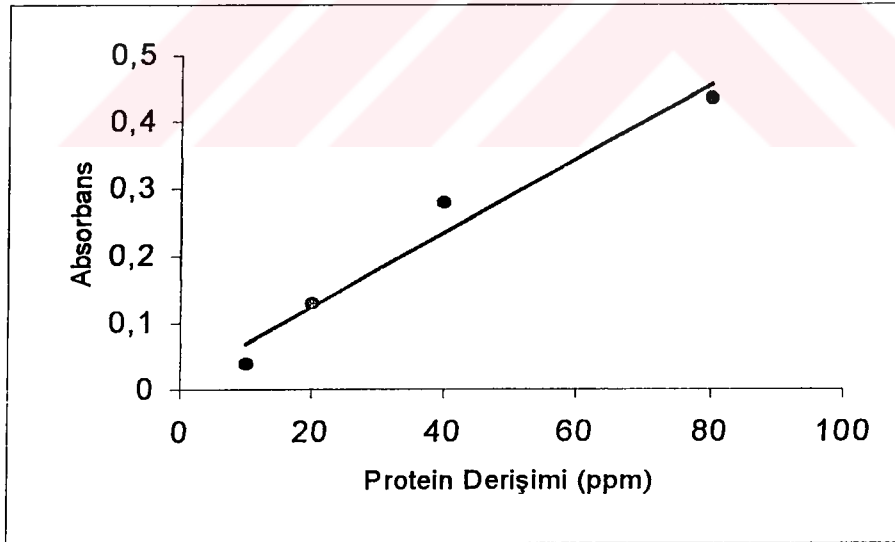


Şekil 2. *I. galbana*'nın kültürdeki hücre yoğunluğuna farklı fosfor derişimlerinin etkisi.

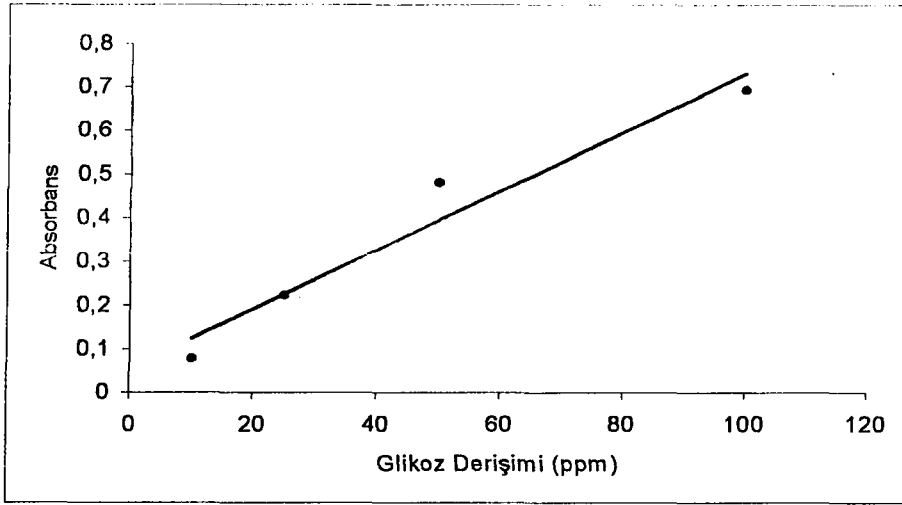




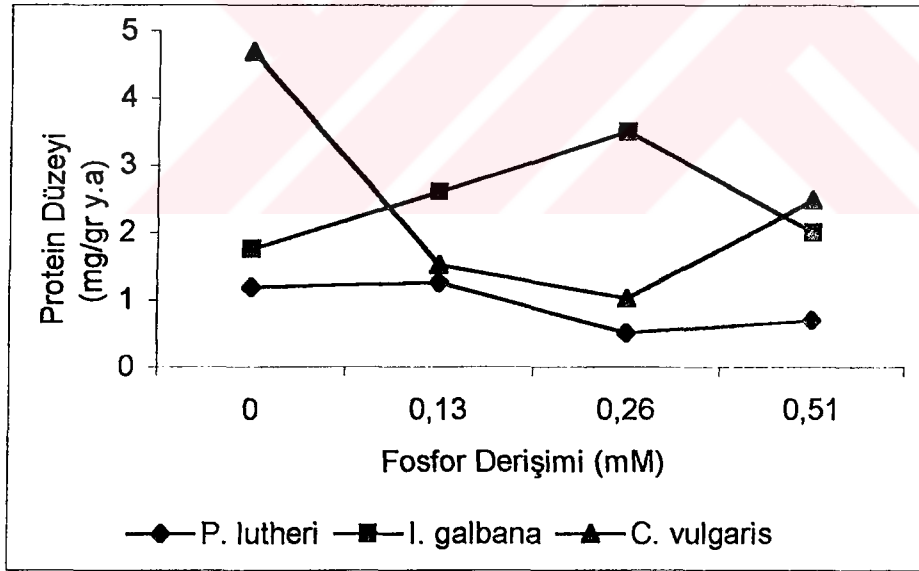
Şekil 3. *C. vulgaris*' in kültürdeki hücre yoğunluğuna farklı fosfor derişimlerinin etkisi.



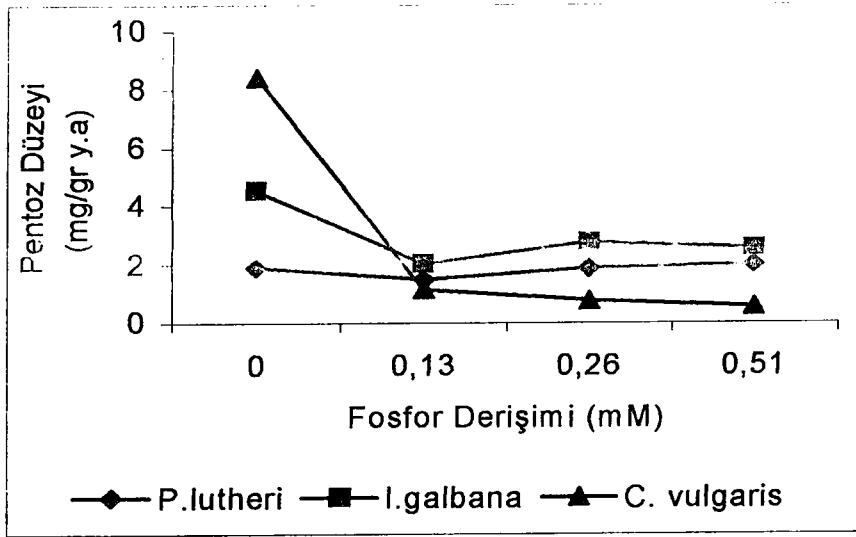
Şekil 4. Protein derişimi ile absorbans arasındaki doğrusal ilişki.



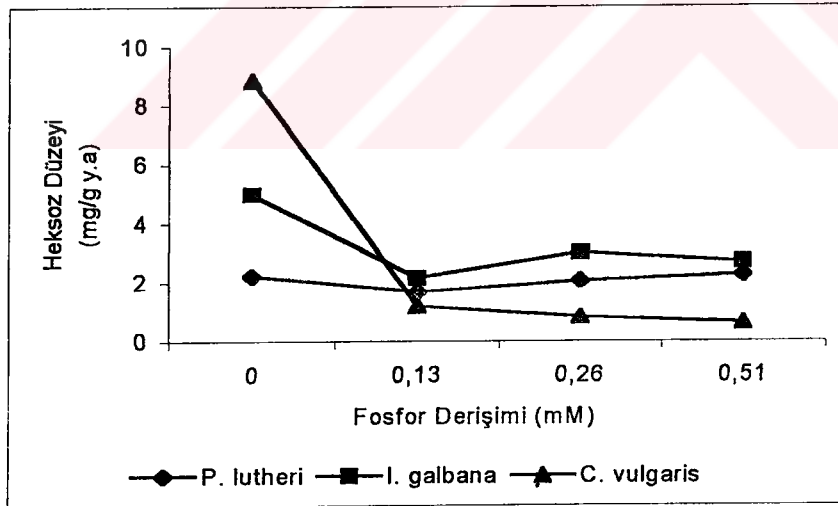
Şekil 5. Glikoz derişimi ile absorbans arasındaki doğrusal ilişki.



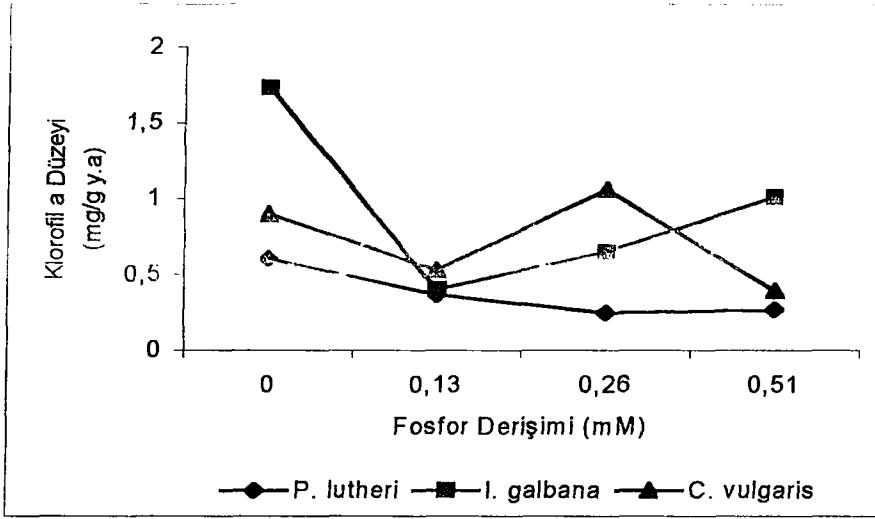
Şekil 6. Farklı fosfor derişimlerinde *P. lutheri*, *I. galbana* ve *C. vulgaris* türlerine ait protein düzeylerinin karşılaştırılması.



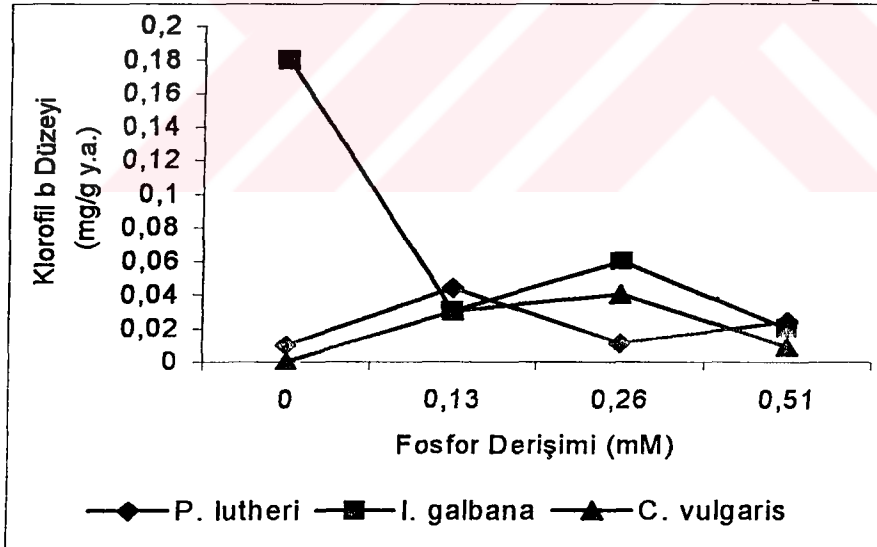
Şekil 7. Farklı fosfor derişimlerinde *P. lutheri*, *I. galbana* ve *C. vulgaris* türlerine ait pentoz düzeylerinin karşılaştırılması.



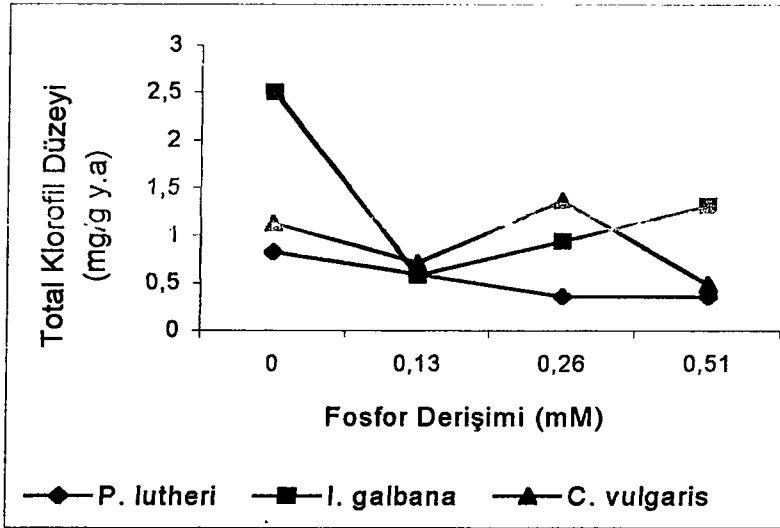
Şekil 8. Farklı fosfor derişimlerinde *P. lutheri*, *I. galbana* ve *C. vulgaris* türlerine ait heksoz düzeylerinin karşılaştırılması



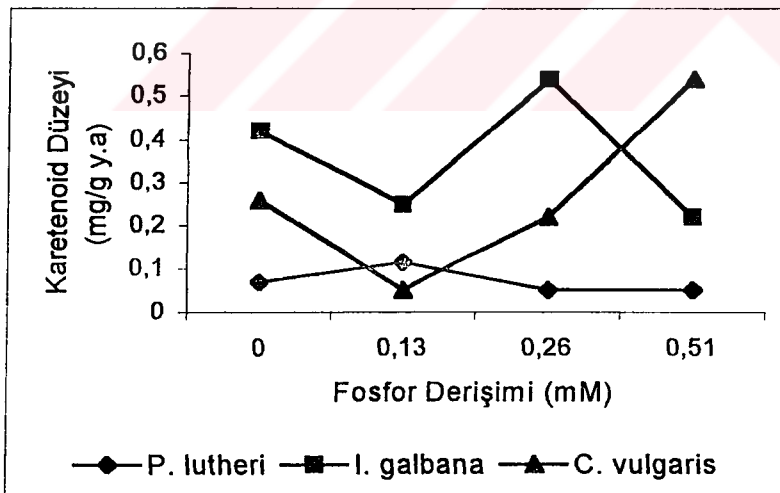
Şekil 9. Farklı fosfor derişimlerinde *P. lutheri*, *I. galbana* ve *C. vulgaris* türlerine ait klorofil a düzeylerinin karşılaştırılması.



Şekil 10. Farklı fosfor derişimlerinde *P. lutheri*, *I. galbana* ve *C. vulgaris* türlerine ait klorofil b düzeylerinin karşılaştırılması



Şekil 11. Farklı fosfor derişimlerinde *P. lutheri*, *I. galbana* ve *C. vulgaris* türlerine ait total klorofil düzeylerinin karşılaştırılması



Şekil 12. Farklı fosfor derişimlerinde *P. lutheri*, *I. galbana* ve *C. vulgaris* türlerine ait karetenoid düzeylerinin karşılaştırılması.

## TARTIŞMA

Akuakültür çalışmalarında bir çok mikroalg türünün kültürü yapılabilmesine karşın, besin kaynağı olarak belirli türler tercih edilmektedir. Seçim işleminde üretimi yapılan mikroalglerin büyüklüğü, sindirilebilirliği ve biyokimyasal içeriği belirleyici olmaktadır. Mikroalglerin besleyiciliği biyokimyasal içeriği oluşturan protein, karbohidrat, lipid ve mineral düzeyine bağlıdır. Ayrıca besin kaynağı olarak kullanılacak alglerin esansiyel amino asitler, yağ asitleri, steroller ve vitaminler bakımından da zengin olması gerekmektedir (Brown ve ark., 1992). Mikroalglerin biyokimyasal kompozisyonu; kültür ortamının yanı sıra, sıcaklık, pH, ışık yoğunluğu, fotoperiyot ve hasat aşaması gibi faktörlerin etkisindedir (Brown ve ark., 1993).

Bu araştırmada fosfor düzeyi bakımından birbirinden farklı ortamlarda kültüre alınan 3 farklı mikroalg türünün hücre yoğunluğu ve biyokimyasal içeriğinin (protein, karbohidrat, klorofil a, klorofil b, total klorofil ve total karetenoid) karşılaştırılması amaçlanmıştır. Ancak mikroalgler arasındaki bu karşılaştırma kültür koşulları, analitik metodlar ve büyüme fazındaki farklılıklar nedeniyle zor olmaktadır (Fernandez-Reiriz, M.J., ve ark. 1989).

*I. galbana*, *P. lutheri* ve *C. vulgaris*' in biyokimyasal içeriklerini karşılaştırmaya yönelik bu çalışma, fosfor düzeyi birbirinden farklı 4 Conway ortamında yapılmıştır. Çalışmada kontrol grubu olarak belirlenen 0.13 mM fosfor içeren ortam kullanılmış olup bu ortam mikroalgler için optimal büyümeyi sağlamaktadır (Walne, 1966). *P. lutheri* ve *C. vulgaris*' in kültürdeki hücre yoğunluğu ilk 7 gün belirgin bir artış göstermemiş ve hücreler adaptasyon sürecine girdiği için sabit fazda kalmıştır. 7. günden sonra hücreler artış göstererek üstel faza girmiştir. *I. galbana* ise bu iki türden farklı bir durum göstererek ilk 7 günde üstel faza, sonraki günlerde ise durağan faza girmiştir. Ortamdaki fosfor düzeyinin çalışılan türlerin hücre sayılarını önemli miktarda değiştirmemesi *Dunaliella tertiolecta* ve *Tetraselmis maculata* ile yapılan çalışmanın sonuçları ile uyum göstermektedir (Wikfors, 1986). *Dunaliella* ve *Tetraselmis* ile yapılan çalışmada 4 farklı fosfor derişiminde (0.036, 0.073, 0.14 ve 0.18 mM) tutulan hücrelerin yoğunluğu belirgin bir farklılık göstermemiştir. Buna karşın uzun süreli fosfor yetmezliği koşullarında kültürdeki hücre yoğunluğu düşüş

göstermiştir. *Chlorella sp.* ile yapılan bir çalışmada hücre içi fosfor düzeyi  $5 \times 10^{-8}$   $\mu\text{g/l}$ ' nin altına düştüğünde hücre bölünmesinin durduğu ifade edilmiştir (Kuhl, A. 1962).

Bu araştırmada çalışılan türlerin toplam karbohidrat düzeyleri karşılaştırıldığında, *I. galbana* ve *C. vulgaris*' in karbohidrat düzeyi artan fosfor miktarına bağlı olarak düşüş göstermiştir. Stewart (1974), *C. vulgaris* ile yaptığı çalışmada fosfor yetmezliğinde, oksidatif asimilasyona katılacak glikoz oranında artış olduğunu belirlemiştir. Paul ve Stitt (1993), *Nicotiana tabacum* ile yaptıkları çalışmada fosfor yetmezliği koşullarında artan fosfor miktarına bağlı olarak karbohidrat düzeyinde düşüş olduğunu belirlemiştir. Buna karşın yaptığımız çalışmada *P. lutheri*' nin karbohidrat içeriği diğer türlere göre farklılık göstermektedir. Bu tür için fosfor içermeyen ortama göre 0.51 mM lık fosfor derişiminde karbohidrat içeriği %3 artış göstermiştir. Wikfors (1986), *Tetraselmis maculata* ve *Dunaliella tertiolecta* ile yaptığı çalışmada artan fosfor derişiminde *T. maculata*' nın karbohidrat içeriğinde % 62 düşüş, *D. tertiolecta*' nın karbohidrat içeriğinde ise % 16 artış saptamıştır.

Kuhl (1968), fosfor yetmezliği olan hücrelerin yüksek karbohidrat içeriğinin, bu hücrelerde endojen solunumun fosfor açısından yeterli olan hücrelerdekinden daha fazla olmasından kaynaklandığını açıklamış ve fosfor yetmezliği koşullarında hücrelerde birikmiş glikoz oranı artarken glikoz solunumunun azaldığını bildirmiştir.

Radin ve Eidenbock (1986), *Gossypium hirsutum* ile yaptıkları çalışmada fosfor yetmezliği olan kültürde hücredeki nişasta düzeyinin arttığını belirlemiştir. Bu durumda, fosfor stresi sükröz sentezini sınırlamakta ve nişasta yayılımını artırmaktadır. Yüksek konsantrasyonlu inorganik fosfor derişimlerinde glikoz-1-fosfat' tan polisakkarit formasyonu baskılanarak, sükrözden polisakkarit sentezi etkin duruma gelmektedir (Hehre, 1960).

Türlerin farklı fosfor derişimlerindeki protein içeriği farklılık göstermektedir. *P. lutheri*' nin protein içeriği fosfor ortam derişiminin artmasına bağlı olarak azalma göstermiştir. Protein içeriğindeki bu azalma 0.26 ve 0.51 mM fosfor derişimlerinde açıkça gözlenmektedir. *P. lutheri*' nin fosfor içermeyen ve 0.13 mM fosfor içeren ortam derişimlerinde ise protein düzeyleri arasında belirgin bir farklılık

gözlenmemiştir. *C. vulgaris*, *P. lutheri* ile benzerlik göstermiş ve bu türün protein içeriği artan fosfor derişimine bağılı olarak azalmıştır. *I. galbana*' ise farklı bir durum göstererek fosfor içermeyen ortama göre 0.26 mM lık fosfor derişiminde protein içeriğinde 2 kat artış olduğu belirlenmiştir.

*Tetraselmis maculata* ve *Dunaliella tertiolecta* ile yapılan çalışmada fosfor derişimindeki azalmaya bağılı olarak protein içeriğinde azalma, karbohidrat içeriğinde artma olduğu belirlenmiştir (Wikfors, 1986). Paul ve Stitt (1993), *Nicotiana tabacum* ile yaptıkları çalışmada fosfor yetmezliğinde protein düzeyinin azaldığını buna karşın karbohidrat düzeyinin arttığını saptamışlardır.

Kültüre alınan hücrelerin fotosentetik pigment derişimleri farklılık göstermektedir. Hücrelerde klorofil üretimini etkileyen bir çok çevresel faktör bulunmaktadır; Işık yoğunluğu, ve diğer faktörler hem klorofil içeriğini hem de klorofil a/ klorofil b oranını etkilemektedir. Mineral besleme alglerin klorofil içeriğini içine alan çok sayıda büyüme ile ilgili metabolik parametreleri etkilemektedir. Protein sentezinin inhibe edilmesi kloroplast gelişimini klorofil molekülünün biyosentezini sınırlandırmaktadır. Hücrelerin kullanacağı ATP için gerekli olan fosforun ortamda yeterli düzeyde olmaması protein sentezinde bir azalmaya neden olmaktadır. Bunun bir sonucu olarak klorofilin üretiminde de bir azalma görülmektedir. Fosfor özellikle klorofilin biyosentezinde, glisin ve süksinil Co-A dan ALA (  $\delta$ -Aminolevulinik asit) ' yı sentezleyen ALA sentetaz enziminin kofaktörü olan pridoksal fosfatın yapısına girmektedir (Bogorad, 1967).

Fosforun karetenoid içeriğine etkisi belirgin olmamakla birlikte protein sentezinin inhibe edilmesi ile karetenoid üretimi de azalmaktadır. Bununla birlikte karetenoid biyosentezinde kullanılan IPP (Isopentil pirofosfat) ve dimetilalilpirofosfat gibi bileşiklerin yapısına girmesi açısından önemlidir (Goodvin, 1966). Buna karşın farklı fosfor derişiminde kültüre aldığımız *P. lutheri* ve *I. galbana*' da fosfor yetmezliğinde fotosentetik pigment miktarları daha yüksek olarak belirlenmiştir.

Fosfor yetmezliği konusunda yapılan çalışmalarda, düşük fosfor derişimine sahip ortamda hücrelerin fotosentetik pigment içeriğinin azaldığı belirlenmiştir (Wikfors, 1986). Ancak, yaptığımız bu çalışmada *P. lutheri* ve *I. galbana*' da fosfor



yetmezliğinde fotosentetik pigment düzeyi artış göstermiştir. Paul ve Stitt (1993), düşük fosfor ile sınırlandırılmış büyüme koşullarında, protein miktarında azalma olmamasını fotosentetik enzim-gen regülasyonunun organik azotun dağılımında önemli bir role sahip olmaması ile açıklamaktadır.

Fosfor yetmezliğinde hücrenin ihtiyaç duyduğu enerjiyi sağlamak için kullanılan ATP için gerekli olan fosfor diğer fosforlu bileşiklerden sağlanabilmektedir. Fosfor yetmezliği koşullarında inorganik polifosfatlar enerji ve fosfor ihtiyacı için hücrede depolanmaktadır. Düşük fosfor konsantrasyonlu sürekli ışık verilen *Chlorella sp.* kültüründe karbohidrat sentezi ile birlikte polifosfat miktarı da artmaktadır (Kuhl, 1968). İnorganik polifosfatların dışında algler pirofosfat yada organik fosfat bileşiklerini de kullanabilmektedir. Hücreler Özellikle fosfat kaynağı olarak glukoz-6-fosfatı kullanmaktadır. Bu işlem hücre yüzeyinde bulunan fosfataz enzimi tarafından yapılmaktadır (Bogorad, 1967).

Hücrelerin toplam karbohidrat (pentoz ve heksoz) ve fotosentetik pigment düzeyleri fosforun ortam derişiminin artmasına bağlı olarak düşüş göstermiştir. Buna karşın protein düzeylerinde *P. lutheri* ve *C. vulgaris* için azalma, *I. galbana* için ise artma saptanmıştır. Çalışma sonucuna göre, fosfor bulunmayan ortamda hücrelerin biyokimyasal içeriklerinde genel bir artma belirlenmiştir.

## ÖZET

Bu araştırmada, 15 gün süre ile kültüre alınan *Pavlova lutheri*, *I. galbana* ve *C. vulgaris*' in fosfor içermeyen, 0.13 mM, 0.26 mM ve 0.51 mM fosfor içeren ortam derişiminin etkisinde hücre yoğunluğu, protein, karbohidrat ve fotosentetik pigment düzeyleri karşılaştırılmıştır.

Belirlenen süre sonunda kültürlerdeki hücre yoğunluğu, Thoma Lamı yardımı ile hücreler mikroskop altında sayılarak belirlenmiştir. Fosforun farklı ortam derişimleri türlerin hücre yoğunluğu üzerinde belirgin bir etki göstermemiştir.

Biyokimyasal içeriği belirlenecek olan hücreler yaş ağırlıkları saptandıktan sonra homojenize edilmişlerdir. Hücre homojenatındaki total protein derişimi dye – binding yöntemi, karbohidrat derişimi fenol – sülfirik asit yöntemi, fotosentetik pigment derişimi ise % 100' lk aseton yöntemi uygulanarak, spektrofotometre yardımı ile belirlenmiştir.

*P. lutheri*' nin protein düzeyi 0.51 mM fosfor içeren kültür ortamında en yüksek değere ulaşmıştır. En yüksek protein derişimi *I. galbana*' da 0.26 mM, *C. vulgaris*' de ise fosfor içermeyen kültür ortamında gözlenmiştir. *P. lutheri* ve *I. galbana*' nın protein düzeyinde optimum fosfor derişimini içeren 0.13 mM lık fosfor ortamında, fosfor içermeyen ortama göre bir artma olduğu belirlenmiş ve 0.26 ve 0.51 mM fosfor derişimlerinde ise diğer ortamlara göre protein düzeyinde azalma olduğu belirlenmiştir.

*I. galbana* ve *C. vulgaris*' in pentoz ve heksoz düzeylerinde ortam fosfor derişiminin artmasına bağlı olarak azalma belirlenmiştir. Anılan bu türlerin en yüksek pentoz ve heksoz düzeyleri fosfor içermeyen kültürlerde elde edilmiştir Buna karşın *P. lutheri*' nin pentoz ve heksoz derişimi 0.51 mM fosfor derişiminde en yüksek düzeye ulaşmıştır.

Ortam fosfor derişiminin artması ile türlerin klorofil a ve total klorofil düzeylerinde genel bir düşüş belirlenmiştir. Klorofil b değeri türlere göre farklılık göstererek *P.*

*lutheri* ' de 0.13 mM, *I. galbana* ' da fosfor içermeyen ve *C. vulgaris* ' de ise 0.26 mM fosfor derişiminde en yüksek değere ulaşmıştır. En yüksek karetenoid düzeyi *P. lutheri* ' de 0.13 mM, *I. galbana* ' da 0.51 mM, *C. vulgaris* ' de 0.26 mM fosfor derişimlerinde belirlenmiştir.

## SUMMARY

In this study, mass cultures of *P. lutheri*, *I. galbana* and *C. vulgaris* were carried out during 15 days. We compared cellular density, protein, carbohydrate and photosynthetic pigment levels of this 3 species in effect of 4 phosphorus concentrations.

At the end of this time, the cellular density was measured under microscope by Thoma chamber. The cellular density of this 3 species were constant in all phosphorus concentrations.

After fresh weight were determined cells were homogenized. Total protein content in crude extract was measured by dye – binding method, carbohydrate was measured by phenol – sulfuric acid method and photosynthetic pigments were measured by % 100 acetone method.

Protein content of *P. lutheri* reached maximum value at 0.51 mM P concentration. For *I. galbana* was measured at 0.26 mM P concentration and for *C. vulgaris* was measured at 0 mM P concentration. Protein content of *P. lutheri* and *I. galbana* decreased while P concentration was increasing. However, protein content of *C. vulgaris* increased while P concentration was increasing.

Pentose and hexose levels of *I. galbana* and *C. vulgaris* decreased while P concentration was increasing. However carbohydrate level of *P. lutheri* reached maximum value at 0.51 mM P concentration.

Chlorophyll a and total chlorophyll levels of species decreased while P concentration was increasing. Chlorophyll b level of *P. lutheri* reached maximum value at 0.13 mM P concentration, at 0 mM P in *I. galbana* and at 0.26 mM P in *C. vulgaris*. Carotenoid level of *P. lutheri* reached maximum value at 0.13 mM P concentration, at 0.51 mM P in *I. galbana* and at 0.26 mM P in *C. vulgaris*.

## KAYNAKLAR

- Bogorad, L., 1967.** The Biosynthesis of Chlorophylls. The University of Chicago, Illinois. 25 pp..
- Bradford, M., 1976.** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye-binding. Anal. Biochem., 72: 248-254.
- Brown, M.R., Jeffrey, S.W., Garland, C.D., 1993.** Nutritional Aspect of Microalgae Used in Mariculture; a Literature Review. CSIRO Marine Laboratories Report, 205, 44 pp. .
- Cirik, S., Gökpinar, Ş., 1993.** Plankton Bilgisi ve Kültürü , Ders kitabı. 208 sayfa.
- Davis, A. R., 1977.** Principles of Oceanography, Univ of south Florida Aquafarms, Inc., Florida, 126 pp..
- Fabregas, J., Herrero, C., Cabezas, B., Abalde, J., 1985.** Mass Culture of The Marine Microalgae *Tetraselmis suecica* Kylin (Butch) with High Nutrient Concentrations. Aquaculture, 49: 231 – 244.
- Fabregas, J., Abalde, J., Herrero, C., Cabezas, B., Veiga M., 1984.** Growth of The Marine Microalgae *Tetraselmis suecica* in Batch Cultures with Different Salinities and Nutrient Concentrations. Aquaculture, 42: 207 - 215.
- Fabregas, J., Herrero, C., Cabezas, B., Abalde, J., 1986.** Biomass Production and Biochemical Composition in Mass Cultures of The Marine Microalga *Isochrysis galbana* Parke at Varying Nutrient Concentrations. Aquaculture, 53: 101 –113.
- Fernandez-Reiriz, M.J., Perez-Camacho, A., Ferreiro, M.J., Blaco, J., Planos, M., Campos, M.J., Labarta, U. 1989.** Biomass Production and Variation in the

Biochemical Profile (Total Protein, Carbohydrate, RNA, Lipid and Fatty Acids) of Seven Species of Marine Microalgae. *Aquaculture* 83: 17-37.

**Gest, H., Kamen, M.D., 1948.** Studies on The Phosphorus Metabolism of Green Algae and Purple Bacteria In Relation to Photosynthesis. *J. Biol. Chem.* 176:299 – 318.

**Goldman, J.C., 1979.** Outdoor Algal Mass Cultures. I. Applications. *Water Research*, 13: 1 - 19.

**Goldman, J.C. and Ryther, J.H.,1976.** Temperature Influenced Species Competition in Mass. Cultures of Marine Phytoplankton. *Biotechnology and Engineering*, 18: 1125 – 1144.

**Goodwin, T.W., 1966.** The biosynthesis of Carotenoids. The University College of Wales, Aberystwyth, Wales. 27 pp..

**Gökpınar, Ş., 1990.** Mikroalg Kùltürleri I. Uygulama ve Kullanım Alanları. *E.U. Jour. of Fisheries*, 7: 25/28, 46-56.

**Hehre, E.J.** Phosphorus Metabolism. Cornell University Medical College, New York. pp. 40 .

**Hoff, F.H., Snell, T.W., 1987.** Plankton Culture Manual Florida Aquafarms, Inc., Florida, pp. 126.

**James, C.M., Al – Hinty, S., Salman, A.E., 1989.** Growth and  $\omega$  3 Fatty Acid and Aminoacid Composition of Microalgae Under Different Temperature Regimes. *Aquaculture*, 77: 337 – 357.

**Ketchum, B.H. 1939.** The Development and Restoration in the Deficiencies in the Phosphorus and nitrogen compositions of unicellular plants. *J. Cell.comp. Physiol.* 13: 373-381

- Kochert, G., 1978.** Carbohydrate Determination by The Phenol – Sulfuric Method. In: J. A. Hellebust and J.S. Craigie (Editors), Handbook of Phycological Methods. Physiological and Biochemical Methods. Cambridge University Press, London, pp. 189 – 195.
- Kuhl, A., 1962.** Inorganic Phosphorus Uptake and Metabolism. In Physiology and Biochemistry of Algae, ed. Lewin, R.A. 229 pp.. Academic press, New York.
- Kuhl, A., 1968.** Phosphate Metabolism of Green Algae. In Algae, Man and The Environment, ed. Jackson, D.F., pp. 37 – 52. Syracuse Univ. Press, Syracuse.
- Labeda, D.P., 1990.** Environmental Biotechnology . Isolation of Biotechnological Organisms From Nature. Mc Grow – Hill Press, New York, 322 pp..
- Lichtenhaler, H.K ve Wellburn A.R., 1983.** Determinations of Total Carotenoids and Chlorophylls a and b of Leaf Extracts in Different Solvents. Biochemical Soc. Transactions, 11: 591.
- Paul, M.J., Stitt, M., 1993.** Effect of Nitrogen and Phosphorus Deficiency on Levels of Carbohydrates, Respiratory Enzymes and Metabolites In Seedlings of Tobacco and Their Response to Exogenous Sucrose. Plant, Cell and Environment, 16: 1047 – 1057.
- Radin, J.W. ve Eidenbock, M.P., 1986.** Carbon Accumulation during Photosynthesis in Leaves of Nitrogen – and Phosphorus – Stressed Cotton. Plant Physiology, 82: 869 – 871.
- Redalje, D.G., Laws, E.A., 1983.** The Effects of Environmental Factors on Growth and The Chemical and Biochemical Composition of Marine Diatoms. I. Light and Temperature Effects. J. Exp. Mar. Biol. Ecol.68: 59 – 79.
- Spectorova, L.V., Goronkova, O.I., Nosova, L.P., and Albitskaya, O.N., 1982.** High Density Culture of Marine Microalgae – Promising Items for Mariculture. Aquaculture, 26: 289 – 302.

**Stewart, W.D.P., 1974.** Algal Physiology and Biochemistry. Botanical Monographs. 10: 162 – 166.

**Thompson, P.A., Harrison, P.J., Whyte, J.N.C., 1990.** Influence of Irradiance on The Fatty Acid Composition of Phytoplankton. J. Phycol. 26: 278 – 288.

**Walne, P.R., 1966.** Experiments In The Large Scale of The Larvae of *Ostrea edulis*. Fishery Invest. Lond. Ser. II, 25 (4), 53 pp..

**Werner, D., 1977.** The Biology of Diatom. Blackwell Scientific Publ., Oxford, 410 pp..

**Wikfors, G.H., Twarog, J.W., Ukales, R., 1984.** Influence of Chemical Composition Algal Food Sources on Growth of Juvenile Oysters, *Crassostrea virginica*. Biol. Bull., 167: 251 – 263.

**Wikfors, G.H., 1986.** Altering Growth and Gross Chemical Composition of Two Microalgal Molluscan Food Species by Varying Nitrate and Phosphate. Aquaculture, 59: 1 – 14.



## ÖZGEÇMİŞ

1976 yılında Ankara’ da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Samsun’ da tamamladım. 1993 yılında “Su Ürünleri Mühendisi” ünvanı ile mezun oldum. Aynı yıl ME.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilin Dalında Yüksek Lisans öğrenimime başladım. Halen ME.Ü. Su Ürünleri Fakültesinde araştırma görevlisi olarak görev yapmaktayım.

