

COMU Journal of Marine Sciences and Fisheries

Journal Home-Page: <http://jmsf.dergi.comu.edu.tr> Online Submission: <http://dergipark.org.tr/jmsf>



RESEARCH ARTICLE

Effect of Different LED Light Sources on Growth and Pigment Composition of *Dunaliella salina* Teodoresco (Chlorophyceae)

Koray Benas¹, İlknur Ak^{2*}

¹Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Su Ürünleri Yetiştiriciliği A.B.D., Terzioğlu Kampüsü, 17100, Çanakkale/Türkiye
²Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Fakültesi, Yetiştiricilik Bölümü, Terzioğlu Kampüsü, 17100, Çanakkale/Türkiye

<https://orcid.org/0000-0002-7626-5596>
<https://orcid.org/0000-0002-0233-0025>

Received: 15.11.2021 / Accepted: 22.02.2022 / Published online: 20.07.2022

Key words:

Dunaliella salina,
Aquaculture
LED Light Sources
Growth,
Biochemical composition

Abstract: In this study, the effects of red, blue, and yellow LED lights on cell number, growth rate, pigment, and crude oil contents of the green algae, *Dunaliella salina* Teodoresco, isolated from Ayvalık (Balıkesir) saltworks, were investigated. The highest cell number and growth rate were found algae grown in the red LED treatment as 335.3×10^4 cell ml^{-1} and 4.30 days $^{-1}$, respectively. The highest chlorophyll *a* and β -carotene contents of *D. salina* cells were determined in the control group as 10.70 and 3.49 mg l^{-1} , respectively. The highest crude oil content was determined as 18% in the yellow LED treatment. Our results showed that LED lamps positively affect the growth and biochemical composition of *D. salina*.

Anahtar kelimeler:

Dunaliella salina
Yetiştiricilik
LED Işık Kaynakları
Büyüme
Biyokimyasal Kompozisyon

Farklı LED Işık Kaynaklarının *Dunaliella salina* Teodoresco (*Chlorophyceae*) Büyüme ve Pigment İçeriğine Etkisi

Öz: Bu çalışmada Ayvalık (Balıkesir) tuz üretim tesisinden izole edilen yeşil alglerden *D. salina* Teodoresco'nun kırmızı, mavi, sarı LED (Light Emitting Diode) ışık kaynakları kullanılarak değiştirilmiş Johnson (DJ) ortamında yetiştiriciliği yapılmıştır. Deneme gruplarının büyüme hızı, pigment ve yağ içeriklerinde meydana gelen değişimler izlenmiştir. Denemeler süresince en yüksek hücre sayısı ve büyüme hızı kırmızı LED lamba altında sırasıyla $335,3 \times 10^4$ hc ml^{-1} ve $4,30$ gün $^{-1}$ olarak elde edilmiştir. *Dunaliella salina* hücrelerinin en yüksek klorofil *a* ve β -karoten içerikleri sırasıyla $10,70$ ve $3,49$ mg l^{-1} olarak kontrol grubunda tespit edilmiştir. En yüksek ham yağ içeriği ise, sarı LED lamba uygulamasında 18% olarak bulunmuştur. Yapılan çalışma sonucunda LED lambaların *D. salina*'nın büyümesi ve biyokimyasal kompozisyonu üzerine olumlu etkilerinin olduğu saptanmıştır.

Giriş

Tek hücreli yeşil alg (*Chlorophyta*) olan *Dunaliella salina* β -karoten, gliserol ve yağ asitleri bakımından zengin, özellikle tuzlalar ve tuz göllerinde dağılım gösteren bir alg türüdür. (Ben-Amotz ve Avron, 1983; Dudu vd., 2001; Ben-Amotz, 2004; Oren, 2006; Ak vd., 2008). *Dunaliella*; flagellatlara sahip, ökaryotik ve hücre çeperi olmayan bir cins olma özelliği ile *Volvocales* ordosunun diğer cinslerinden ayrılmaktadır. Hücrelerinin elastik bir plazma membranı ile çevrili olması *Dunaliella* türlerinin hücre şeklinin değişmesinde ve osmotik değişimlere karşı adaptasyonunda bir avantaj sağlamaktadır. Osmoregülasyon ile hücre dışı osmotik basınca karşı hücre içindeki gliserol konsantrasyonu değişim göstermektedir (Jimenez vd., 1991; Borowitzka ve Borowitzka, 1992). *Dunaliella* türlerinin stres koşulları altında kuru ağırlığının 10% 'u kadar β -karoten sentezlemesi nedeniyle önemli bir antioksidan kaynağı olarak üretimi yapılmaktadır. Ekonomik değere sahip *Dunaliella* türlerinin yetiştiriciliği

sonucu elde edilen β -karoten gıda endüstrisinde, eczacılık, kozmetik, tıp alanlarında ve biyomedikal araştırmalarda kullanılmaktadır (Bosma ve Wijffels, 2003). β -karotenin endüstriyel üretimdeki ihtiyacı büyük oranda laboratuvar koşullarında sentetik yollarla üretilen formundan karşılanmaktadır. Ancak doğal karotenlere olan talebin artması, araştırmacıları farklı doğal kaynaklardan β -karoten üretimine yönlendirmiştir (Vega vd., 1996).

LED; ışık yayan diyotların (light emitting diodes) kısaltılmış tanımıdır. LED'ler, çok dar bir emisyon tepe noktası ile ışık üreten katı hal yarı iletkenlerdir. İleri akım uygulandığında, iki yarı iletken katman arasında fotonlar üretilir. Bu katmanlarda kullanılan malzemeye bağlı olarak fotonlar farklı enerjilere ve dolayısıyla farklı dalga boylarına sahiptir (Glemser vd., 2016). LED lambalar floresan lamba ile karşılaştırıldığında, uyumlu ışık üretmek için uygun bir armatüre sahip floresan lambalar için

*Corresponding author: ilknurak@comu.edu.tr

gereken ekipman mekanik olarak daha karmaşıktır, daha büyük boyut gerektirir ve bu nedenle aydınlatılan alanın ölçeğinin küçültülmesine izin vermemektedir. Ayrıca, floresan lambalarda civa içeriği görülmektedir ve LED kaynaklarının açılıp kapanma esnasında titreşim etkisi göstermediği çeşitli çalışmalar sonucunda saptanmıştır (Oruç, 2011; Glemsler vd., 2016). Kim vd. (2019) LED lambalarının avantajlarını, ısıya duyarlı mikroalglerin maksimum büyümesini kolaylaştırmak için yeterli ışık emisyonu ile düşük enerji tüketimi ve düşük ısı üretimi olarak bildirmişlerdir.

Işık kaynağı olarak LED lambaların dalga boyu, bitkilerin klorofil üretmesini karşılayacak düzeyde olduğu Paudel vd. (2008) tarafından bildirilmiştir. Mikroalglerin büyüme pigment içerikleri üzerine ışık kaynaklarının ve ışık şiddetlerinin etkisi üzerine çalışmalar gerçekleştirilmiştir (Cuaresma vd., 2009; Chen vd., 2015; Wu vd., 2016). Yapılan çalışmalarda optimum büyüme ve pigment birikimi için gerekli olan ışık kaynağının ve ışık şiddetinin mikroalg türüne bağlı olarak değiştiği belirlenmiştir (Li vd., 2020; Xi vd., 2020).

D. salina alg β -karoten birikimi üzerine ışık, sıcaklık, tuzluluk ile ortamda bulunan azot ve fosfat konsantrasyonlarına etki ettiği farklı çalışmalarda bildirilmektedir (Wu vd., 2016; Singh vd., 2016; Durmaz ve Pirinç, 2017; Han vd., 2019). Ayrıca, *D. salina* hücre içi osmotik basıncı sağlamak için fotosentez yoluyla gliserol biriktirmektedir (Ben-Amotz vd., 1982). Üretilen gliserol mikroalglerin depo yağı olarak bilinen triaçilgliseridlerin sentezlenmesinde kullanılmaktadır (Sharma vd., 2012). Yüksek miktarda gliserol biriktirme yeteneğine sahip olan *Dunaliella* türleri o nedenle yağ üretimi için de uygun olabileceği çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir. Jin vd. (2012) aydınlatıcı olarak farklı veya tek LED ışık kaynağının kullanılmasının yüksek yağ içeriğine sahip *D. salina* biyoması üretmek amacıyla kullanabileceğimizi bildirmiştir.

Dunaliella kültürünün kapalı fotobiyoreaktörlerde fizibilitesini araştırmak için yapılan çeşitli çalışmalarda, fotobiyoreaktörlerin *Dunaliella*'nın büyümesi ve β -karoten birikimi aşaması için karotenoidlerin üretiminde önemli bir rol oynamaya başlayacağını bildirilmektedir (Prieto vd., 2011; Xu ve Harvey 2019). Fotobiyoreaktörlerde, yapay ışığın yoğunluğu ve kalitesi, özellikle mikroalglerin ototrofik büyümesi için tasarımcı tarafından dikkate alınması gereken iki kritik faktördür. Blanken vd. (2013) çeşitli spektral niteliklere sahip floresan lambaların en çok tercih edilen ışık kaynağı olduğunu bildirmesine karşın gelişen teknoloji ile birlikte alg kültürlerinde algin büyümesini destekleyen ve enerji gideri floresan lambalara göre daha az olan ışık kaynaklarının kullanımına yönelmiştir. Önemli bir antioksidan kaynağı olan *D. salina*'nın strese girmeden büyüme koşullarının iyileştirilmesi üretim maliyetinin azaltılması açısından önem taşımaktadır. Alg kültürlerinde en önemli maliyet giderlerinden biri besin tuzlarından sonra enerji maliyetidir. Bu maliyeti azaltmak amacıyla, LED teknolojisi alg üretiminde kullanımına yönelik çalışmalar yapılmaktadır (Xi vd., 2020; Öztaşkent ve Ak, 2021). Bu

nedenle, günümüzde ışık yayan diyotlar (LED'ler) en önemli ışık kaynaklarından biri haline gelmiştir. Kırmızı, mavi ve beyaz gibi farklı ışık spektrumlarına sahip LED'lerin alg yetiştiriciliğinde kullanılmasına yönelik çalışmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Çalışma kapsamında Ayvalık tuzlasından izole edilen *D. salina*'nın (*Chlorophyceae*, *Volvocales*) yetiştiriciliğinde farklı renkteki LED lambalar kullanılarak algin büyüme hızı, pigment ve ham yağ içerikleri üzerine olan etkisi araştırılmıştır.

Materyal ve Yöntem

Mikroalg ortamı ve yetiştiriciliği

D. salina algi Ayvalık tuz gölünden izole edilmiştir (Balıkesir, Türkiye). Algin tanımlaması Borowitzka ve Siva (2007)'e göre yapılmıştır.

Deneme kültür koşulları

D. salina'nın büyüme hızı, pigment ve ham yağ içeriklerine LED lambaların etkilerini belirlemek amacıyla; ışık kaynağı olarak kırmızı, mavi, sarı LED lambalar kullanılmıştır. Floresan lambalar ise kontrol grubu olarak tercih edilmiştir. Denemelerde kültür ortamı olarak Değiştirilmiş Johnson (DJ) ortamı kullanılmış ve tuzluluk 2M olacak şekilde ayarlanmıştır. Değiştirilmiş Johnson ortamı (Johnson vd., 1968); ana maddeleri 1,5 g l⁻¹ MgCl₂·6H₂O, 0,035 g l⁻¹ K₂HPO₄, 1,5 g l⁻¹ NaNO₃, 0,2 g l⁻¹ CaCl₂·2H₂O, 0,043 g l⁻¹ NaHCO₃, 0,2 g KCl ile 10 ml l⁻¹ demir solüsyonu (189 mg l⁻¹ Na₂EDTA, 244 mg l⁻¹ FeCl₃·6H₂O) ve 1 ml l⁻¹ iz element solüsyonundan (1,215 g l⁻¹ CoCl₂·6H₂O, 3,426 g l⁻¹ H₃BO₃, 0,432 mg l⁻¹ MnCl₂·4H₂O, 31,19 mg l⁻¹ (NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O), 31,5 mg ZnSO₄·7H₂O oluşmaktadır.

Denemeler steril 1 litrelik cam kaplarda, 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Kültürler 24:0 (A/K) saat fotoperiyotta aydınlatılmıştır. Kullanılan tüm ışık kaynakları için ışık şiddeti 100 μ mol foton m⁻² s⁻¹ olarak ışık ölçer yardımıyla (LiCor, Li-250) ayarlanmıştır. Denemeler 25,00 \pm 1,00 °C sıcaklığına ayarlanmış kültür dolabı içerisinde gerçekleştirilmiş olup gruplar sürekli hava ile karıştırılmıştır.

Analizler

Yapılan çalışma süresince hücre sayısı, büyüme hızı, klorofil *a* ve β karoten değerleri günlük olarak analiz edilmiştir. Kuru ağırlık değerleri Zhu ve Lee (1997)'ye göre hesaplanmıştır. Hücre sayıları 3 tekrarlı olarak Neubauer sayma lamı ile gerçekleştirilmiştir.

Büyüme hızı, pigment ve yağ içeriklerinin belirlenmesi

Spesifik büyüme hızı (μ) logaritmik büyüme fazında aşağıdaki formüller uygulanarak hesaplanmıştır.

$$\mu = \ln X_1 - \ln X_2 / t_1 - t_2$$

Formülde X_1 ve X_2 , sırasıyla t_1 ve t_2 zamanlarındaki kuru ağırlık değerlerini belirtmektedir.

Pigment ve ham yağ içeriklerinin belirlenmesi

Klorofil *a* içeriği % 90'lık aseton kullanılarak Scor-Unesco (1966) yöntemine göre tespit edilmiştir. β -karoten içeriği ise Ben-Amotz ve Avron (1983)'a göre hesaplanmıştır.

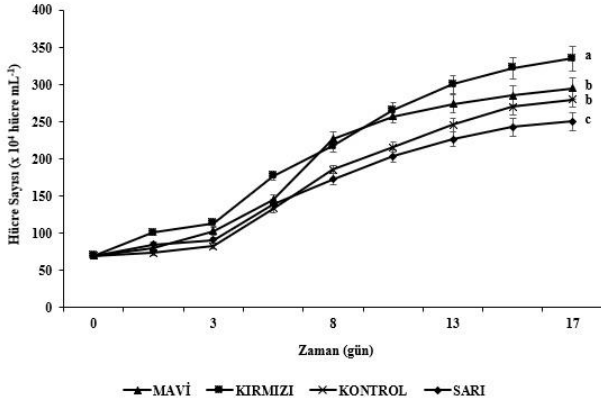
Alglerin toplam yağ içeriği Folch vd. (1957) yöntemi ile belirlenmiştir.

İstatiksel analiz

Elde edilen veriler SPSS paket programı yardımıyla ANOVA kullanılarak değerlendirilmiştir (Özdamar, 1997). Tüm sonuçlar ortalama \pm standart sapma şeklinde ifade edilmiş olup farklar $P \leq 0,05$ olduğunda anlamlı kabul edilmiştir.

Bulgular ve Tartışma

Çalışmalar süresince kültürlerden alınan örneklerin hücre sayıları izlenmiştir (Şekil 1). *D. salina* kültürlerindeki en yüksek hücre sayısı kırmızı LED dalga boyu kullanılan gruplarda $335,3 \times 10^4$ hc ml^{-1} olarak belirlenmiştir. En düşük hücre sayısı ise sarı LED dalga boyu kullanılan gruplarda $250,7 \times 10^4$ hc ml^{-1} olarak tespit edilmiştir. Deneme sonunda grupların ulaştığı hücre sayıları arasında istatistiksel farklılıklar belirlenmiştir ($P < 0,05$).

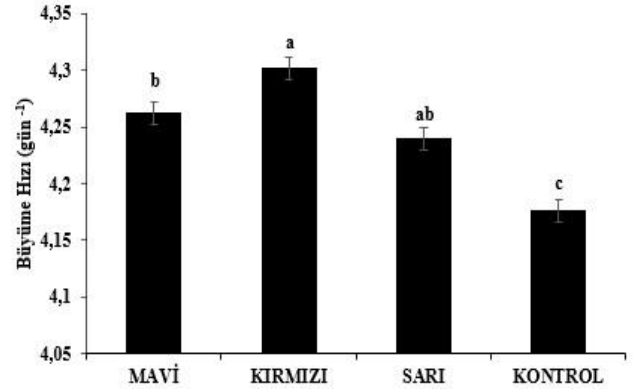


Şekil 1. Farklı LED lambalar kullanılarak yetiştirilen *D. salina* kültürlerinin hücre sayılarında meydana gelen değişimler (Farklı harfler (a-b) istatistiksel yönden farklılığı göstermektedir ($P < 0,05$) (\pm standart hata) (n=3))

LED lambaların *D. salina* kültürlerinin büyüme hızı, pigment ve yağ içeriklerine etkilerinin araştırıldığı çalışmada en yüksek büyüme hızı kırmızı LED dalga boyuna sahip lambaların kullanıldığı grupta $4,30$ gün⁻¹ olarak belirlenmiştir (Şekil 2). En düşük büyüme hızı ise floresan lambanın kullanıldığı kontrol grubunda $4,17$ gün⁻¹ olarak tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda, deneme gruplarının büyüme hızları arasında istatistiksel yönden anlamlı farklılıkların olduğu belirlenmiştir ($P < 0,05$).

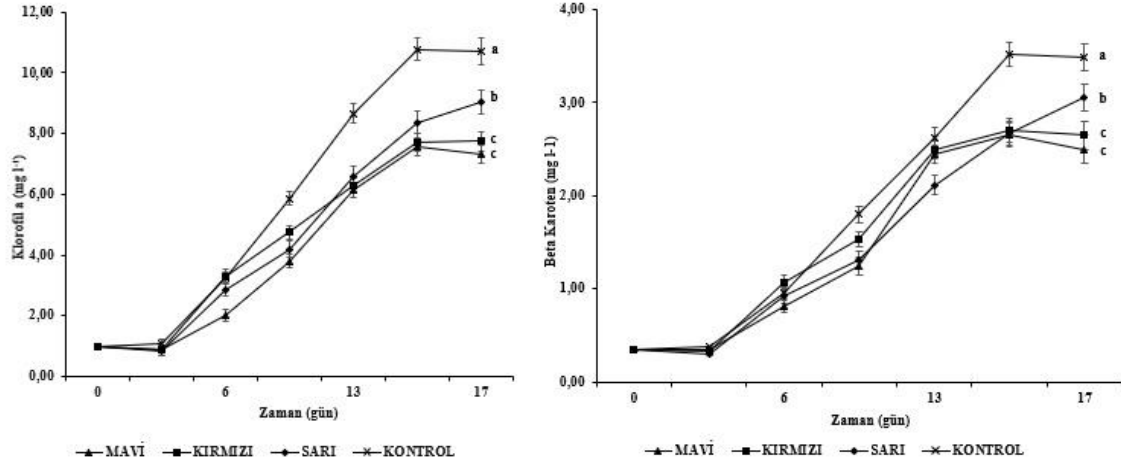
D. salina'nın biyokimyasal içerikleri ve büyüme hızı tuzluluk, sudaki besin tuzu yoğunluğu ve sıcaklık gibi

çevresel faktörlerden etkilenmektedir (Can vd., 2016; Lamers vd., 2012; Singh vd., 2016). Ayrıca, ışığın da alglerin büyüme hızını etkileyen en önemli çevresel faktörlerden biri olduğu bildirilmiştir (Öztaşkent ve Ak, 2021). Yapılan çalışmalarda kültürlerde kullanılan ışığın şiddeti ve cinsinin alglerin büyüme hızını, pigment ve yağ kompozisyonunu değiştirdiği belirlenmiştir (Ben-Amotz ve Shaish, 1992; Ak vd., 2008; Fu vd., 2012). Farklı kültür koşullarında gerçekleştirdikleri denemelerde *D. salina*'nın büyüme hızı değerlerini $0,7-1,0$ bölünme gün⁻¹ olarak bildirmişlerdir (Ben-Amotz vd., 1982; Ginzburg ve Ginzburg, 1981). Denemelerde elde edilen büyüme hızı sonuçlarının yukarıda belirtilen çalışmalardan daha yüksek olduğu gözlenmiştir. *Dunaliella* türlerinin büyüme özellikleri coğrafik bölgelere, türe ve suya göre farklılık gösterebileceği Borowitzka ve Borowitzka (1992) tarafından bildirilmiştir. *D. salina* türünün de dahil olduğu yeşil algler sınıfındaki baskın pigmentler klorofil *a* ve klorofil *b*'dir (Han vd., 2019). Chappelle vd. (1992) bu klorofiller, belirli dalga boylarında ana anten pigmentleri olan klorofil-*a* ve klorofil-*b* tarafından absorbe edilmektedir. Han vd. (2019), kırmızı LED lambaların *D. salina*'nın büyümesi için diğer dalga boylarından daha etkili olduğunu bildirmiştir.



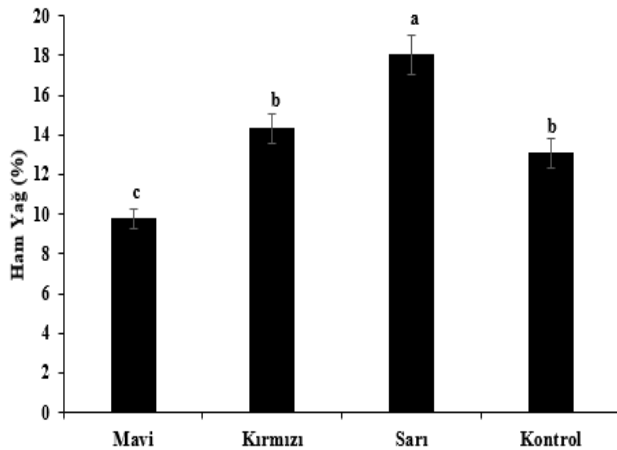
Şekil 2. Farklı LED lambalar kullanılarak yetiştirilen *D. salina* kültürlerinin büyüme hızlarında meydana gelen değişimler (Farklı harfler (a-b) istatistiksel yönden farklılığı göstermektedir ($P < 0,05$) (\pm standart hata) (n=3))

Denemeler süresince kontrol grubu olarak kullanılan floresan lambaların klorofil *a* ve β karoten içerikleri $10,70$ mg l^{-1} ve $3,49$ mg l^{-1} olarak tespit edilmiştir. En düşük klorofil *a* ve β karoten içerikleri ise mavi LED dalga boyu kullanılan grupta sırasıyla $7,31$ mg l^{-1} ve $2,50$ mg l^{-1} olarak belirlenmiştir ($P < 0,05$). Moulton vd. (1987) ve Borowitzka ve Borowitzka (1992) ile benzerlik göstermektedir. Işık şiddeti ile klorofil *a* içerikleri arasında ters bir ilişkinin bulunduğu Falkowski (1983) ve Garcia vd. (2007) tarafından bildirilmiştir. Fu vd. (2013), yüksek yoğunluktaki kırmızı LED (660 nm) ışığın, *D. salina* kloroplastlarına hasar vermesi nedeniyle hücrelerin karotenoid miktarının da buna bağlı olarak yükselmediği düşünülmektedir (Coesel vd., 2008; Lamers vd., 2008; Fu vd., 2013).



Şekil 3. Farklı LED lambalar kullanılarak yetiştirilen deneme gruplarının klorofil *a* ve β -karoten miktarlarında meydana gelen değişimler (Farklı harfler (a-c) istatistiksel yönden farklılığı göstermektedir ($P < 0,05$) (\pm standart hata) ($n=3$))

Denemelerde en yüksek yağ içeriği sarı LED lambaların kullanıldığı deneme grubunda %18 olarak tespit edilmiştir. En düşük yağ içeriği ise mavi LED lambaların kullanıldığı grupta %9,8 olarak saptanmıştır. Deneme gruplarının ham yağ içeriklerinin istatistiksel olarak anlamlı farklılıkların olduğu belirlenmiştir ($P < 0,05$). *D. salina* ile ilgili farklı çalışmalarda ham yağ içeriği %15-45 arasında değiştiği, azotun sınırlandırıldığı durumlarda ise algin yağ içeriğinin %55'lere yükseldiği bildirilmektedir (Weldy ve Huesemann, 2007; Chen vd., 2015). Mikroalgin yağ ve β -karoten içerikleri arasında bir ilişki olduğu Ben-Amotz (2004) tarafından bildirilmiştir. Çalışma sonucunda elde ettiğimiz ham yağ değerlerinin Weldy ve Huesemann (2007) bildirdiği %16 ile %44 değerleri içerisinde olduğu saptanmıştır.



Şekil 4. Deneme gruplarının ham yağ miktarında meydana gelen değişimler (Farklı harfler (a-c) istatistiksel yönden farklılığı göstermektedir ($P < 0,05$) (\pm standart hata) ($n=3$))

Sonuç

Bu çalışmada mavi, kırmızı ve sarı LED lambaların *D. salina*'nın büyümesi, pigmenti ve biyokimyasal kompozisyonuna etkileri değerlendirilmiştir. Florasan lamba ve LED ışık kaynakları enerji tüketimine ve maliyetine göre farklılıklar göstermektedir. Ekonomik öneme sahip olan mikroalglerin yetiştiriciliğinde etkili ışık kaynağının kullanımı algin üretimin maliyetini düşürmesi nedeniyle önem taşımaktadır. Düşük kurulum maliyetleri ve uzun ömürlü özellikleri nedeniyle LED ışık kaynakları tercih edilmelidir. Çalışma sonucunda *D. salina* yetiştiriciliğinde kırmızı LED lamba kullanımının algin büyüme hızını sarı LED'lerin ise ham yağ içeriğini arttırdığı, LED lamba kullanılan deneme gruplarının pigment içeriklerinin floresan lamba kullanılan kontrol grubuna göre daha düşük olduğu belirlenmiştir. Çalışma sonucunda *D. salina* üretiminde alg hücrelerinin büyüme hızını arttırmak ve kültür süresini kısaltarak üretim maliyetlerinin azaltılması amacıyla LED lambaların kullanılabileceği saptanmıştır.

Teşekkür

Bu çalışma, ÇOMU BAP tarafından FYL-2014-419 numaralı proje kapsamında desteklenmiştir. Çalışma, İlknur AK'ın danışmanlığında yürütülen ve Koray BENAS tarafından hazırlanan "Farklı LED Işık Kaynaklarının *Dunaliella salina* Teodoresco (*chlorophyceae*) Büyüme ve Pigment İçeriğine Etkisi" başlıklı yüksek lisans tezi kapsamında gerçekleştirilmiştir.

Çıkar Çatışması

Yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan etmektedir.

Yazar Katkıları

İ. Ak ve K. Benas araştırmayı planladı ve tasarladı. Yazarlar sonuçları tartıştı ve makalenin son şekline katkıda bulundular.

Etik Onay

Bu çalışma için etik kurul iznine gerek yoktur.

Kaynaklar

- Ak, İ., Cirik, S., & Göksan, T. (2008). Effects of Light Intensity, Salinity and Temperature on Growth in Çamaltı Strain of *Dunaliella viridis* Teodoresco from Turkey. *Journal of Biological Sciences*, 8(8), 1356-1359. doi:10.3923/jbs.2008.1356.1359
- Blanken, W., Cuaresma, M., Wijffels René, H., & Janssen, M. (2013). Cultivation of microalgae on artificial light comes at a cost. *Algal Research*, 2, 333-340. doi:10.1016/j.algal.2013.09.004
- Ben-Amotz, A., Sussman, I., & Avron, M. (1982). Glycerol production by *Dunaliella*. *Experientia*, 38, 49-52. doi:10.1007/BF01944527
- Ben-Amotz, A., & Avron, M. (1983). On the Factors Which Determine Massive Beta-Carotene Accumulation in the Halotolerant Alga *Dunaliella bardawil*. *Plant Physiology*, 72 (3), 593-597. doi:10.1104/pp.72.3.593
- Ben-Amotz, A., & Shaish, A. (1992). Carotene biosynthesis. In: Avron, M., Ben-Amotz, A. (Eds.), *Dunaliella: Physiology, Biochemistry and Biotechnology*. Boca Raton, FL: CRC Press, 206-216.
- Ben-Amotz, A. (2004). Industrial Production of Microalgal Cell-mass and Secondary Products-Major Industrial Species: *Dunaliella*. In: Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology A. Richmond (eds.), *Blackwell Synergy*, 120-128.
- Borowitzka, M.A., & Borowitzka, L.J. (1992). Microalgal biotechnology, Cambridge University press, Vol :1, Cambridge, 477.
- Borowitzka, M.A., & Siva, C.J. (2007). The taxonomy of the genus *Dunaliella* (Chlorophyta, 32 *Dunaliellales*) with emphasis on the marine and halophilic species. *Journal of Applied Phycology*, 10017/10811. doi:10.1007/s10811-007-9171-x
- Bosma, R., & Wijffels, R.H. (2003). Marine biotechnology in education; a competitive approach. *Biomolecular Engineering*, 20(4-6), 125-131. doi:10.1016/S1389-0344(03)00035-2
- Can, S.S., Cirik, S., Koru, E., Turan, G., Tekoğul, H., & Subakan, T. (2016). Effects of salinity, light and nitrogen concentration on growth and lipid accumulation of the green algae *Dunaliella bardawil*. *Fresenius Environmental Bulletin*, 25 (5), 1437-1447.
- Chappelle, E.W., Kim, M.S., & McMurtrey, J.E. (1992). Ratio analysis of reflectance spectra (RARS): An algorithm for the remote estimation of the concentrations of chlorophyll A, chlorophyll B, and carotenoids in soybean leaves. *Remote Sensing of Environment*, 39, 239-247. doi: 10.1016/0034-4257(92)90089-3
- Chen, Y., Tang, X., Kapoore, R. V., Xu, C., & Vaidyanathan, S. (2015). Influence of nutrient status on the accumulation of biomass and lipid in *Nannochloropsis salina* and *Dunaliella salina*. *Energy Conversion and Management*, 106, 61-72. doi:10.1016/j.enconman.2015.09.025
- Coesel, S.N., Baumgartner, A.C., Teles, L.M., Ramos, A.A., Henriques, N.M., Cancela, L., & Varela, J.C. (2008). Nutrient limitation is the main regulatory factor for carotenoid accumulation and for *Psy* and *Pds* steady state transcript levels in *Dunaliella salina* (Chlorophyta) exposed to high light and salt stress. *Marine Biotechnology*, 10, 602-611. doi: 10.1007/s10126-008-9100-2
- Cuaresma, M., Janssen, M., Vilchez, C., & Wijffels, R. (2009). Productivity of *Chlorella sorokiniana* in a short light-path (SLP) panel photobioreactor under high irradiance. *Biotechnology and Bioengineering*, 104(2), 352-359. doi:10.1002/bit.22394
- Dudu, E.Ü., Kanlıtepe, Ç., Çıracı, C., & Dönmez, G. (2001). Tuz Gölünden (Konya-Türkiye) İzole Edilen *Dunaliella* Türlerinin Gliserol Üretim Kapasitesinin Belirlenmesi. *Ege Üniversitesi, Su Ürünleri Dergisi I. Algal Teknoloji Sempozyumu*, 225-232.
- Durmaz, Y., & Pirinç, P. (2017). Bazı deniz mikroalgelerinin (*Nannochloropsis oculata*, *Tetraselmis chuii* ve *Dunaliella salina*) kültüründe tuzluluk konsantrasyonunun büyüme ve pigment yapısına etkisinin araştırılması. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 34(1), 75-80. doi:10.12714/egejfas.2017.34.1.11
- Falkowski, P.G. (1983). Light-Shade adaptation and vertical mixing of marine phytoplankton: A comparative field study. *Journal of Marine Research*, 41, 215-237. doi: 10.1357/002224083788520199
- Folch, J., Lees, M., & Sloane-Stanley, G.H.S. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, 226, 497-509.
- Fu, W., Gudmundsson, O., Feist, A.M., Herjólfsson, G., Brynjólfsson, S., & Palsson, B.Ø. (2012). Maximizing biomass productivity and cell density of *Chlorella vulgaris* by using light-emitting diode-based photobioreactor. *Journal of Biotechnology*, 161(3), 242-249. doi:10.1016/j.jbiotec.2012.07.004
- Fu, W., Guðmundsson, Ó., Paglia, G., Herjólfsson, G., Andrésón, Ó. S., Palsson, B. Ø., & Brynjólfsson, S. (2013). Enhancement of carotenoid biosynthesis in the green microalga *Dunaliella salina* with light-emitting diodes and adaptive laboratory evolution. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(6), 2395-2403. doi:10.1007/s00253-012-4502-5

- Garcia, F., Freile-Peegrín, Y., & Robledo, D. (2007). Physiological characterization of *Dunaliella* sp. (Chlorophyta, Volvocales) from Yucatan, Mexico. *Bioresource Technology*, 98 (7), 1359-1365. doi:10.1016/j.biortech.2006.05.051
- Glemser, M., Heining, M., Schmidt, J., Becker, A., Garbe, D., Buchholz, R., & Brück, T. (2016). Application of light-emitting diodes (LEDs) in cultivation of phototrophic microalgae: current state and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(3), 1077-1088. doi:10.1007/s00253-015-7144-6
- Ginzburg, M., & Ginzburg, B.Z. (1981). Interrelationships of light, temperature, sodium chloride and carbon source in growth of halotolerant and halophilic strains of *Dunaliella*. *British Phycological Journal*, 16, 313-324. doi:10.1080/00071618100650331
- Han, S.I., Kim, S., & Lee, C. (2019). Blue-Red LED wavelength shifting strategy for enhancing beta-carotene production from halotolerant microalga, *Dunaliella salina*. *Journal of Microbiology*, 57, 101-106. doi:10.1007/s12275-019-8420-4
- Jimenez, M., Mateo, R., Mateo, J.J., Huerta, T., & Hernandez, E. (1991). Effect of the incubation conditions on the production of patulin by *Penicillium griseofulvum* isolated from wheat. *Mycopathologia*, 115, 163-168.
- Jin, C., Yu, B., Qian, S., Liu, Q., & Zhou, X. (2021). Impact of combined monochromatic light on the biocomponent productivity of *Dunaliella salina*. *Journal of Renewable and Sustainable Energy*, 13(2), 023101. doi:10.1063/5.0041330
- Johnson, M.K., Johnson, E.J., McElroy, R.D., Speer, H.L., & Bruff, B.S. (1968). Effects of Salts on the Halophilic Alga *Dunaliella viridis*. *Journal of Bacteriology*, 95, 1461-8. doi: 10.1128/jb.95.4.1461-1468.1968
- Kim, S. H., Sunwoo, I. Y., Hong, H. J., Awah, C. C., Jeong, G.T., & Kim, S.K. (2019). Lipid and unsaturated fatty acid productions from three microalgae using nitrate and light-emitting diodes with complementary LED wavelength in a two-phase culture system. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 9, 1517-1526. doi:10.1007/s00449-019-02149-y
- Lamers, P.P., Janssen, M., De Vos, R.C.H., Bino, R.J., & Wijffels, R.H. (2008). Exploring and exploiting carotenoid accumulation in *Dunaliella salina* for cell-factory applications. *Trends Biotechnology*, 26, 631-638. doi:10.1016/j.tibtech.2008.07.002
- Lamers, P.P., Janssen, M., De Vos, R.C.H. Bino, R., & Wijffels, R. (2012). Carotenoid and fatty acid metabolism in nitrogen-starved *Dunaliella salina*, a unicellular green microalga. *Journal of Biotechnology*, 162(1), 21-27. doi:10.1016/j.jbiotec.2012.04.018
- Li, Y., Li, L., & Liu, J. (2020). Light absorption and growth response of *Dunaliella* under different light qualities. *Journal of Applied Phycology*, 32, 1041-1052. doi:10.1007/s10811-020-02057-9
- Moulton, T. P., Sommer, T. R., Burford, M. A., & Borowitzka, L. J. (1987). Competition between *Dunaliella* species at high salinity. *Hydrobiologia*, 151-152(1), 107-116. doi:10.1007/bf00046115
- Oren, A. (2006). Halophilic Microorganisms and their environments. *Kluwer Academic Publishers*, 517-537.
- Oruç, E.A. (2011). Farklı renkteki LED ışık kaynaklarının *Chlorella* sp.'nin büyümesi ve yağ asitleri kompozisyonuna etkisi. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Yetiştiriciliği A.B.D., Bornova, İzmir.
- Özdamar, K. (1997). *Paket programlar ile istatistiksel veri analizi I*. Eskişehir: Kaan Yayın evi.
- Öztaşkent, C., & Ak, İ. (2021). Effect of LED light sources on the growth and chemical composition of rown seaweed *Treptacantha barbata*. *Aquaculture International*, 29, 193-205. doi:0.1007/s10499-020-00619-9
- Paudel, P.R., Kataoka, I., & Mochioka, R. (2008). Effect of red- and blue-light-emitting diodes on growth and morphogenesis of grapes. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 92, 147-153. doi: 10.1007/s11240-007-9317-1
- Prieto, A., Cañavate, J.P., & García-González, M. (2011). Assessment of carotenoid production by *Dunaliella salina* in different culture systems and operation regimes. *Journal of Biotechnology*, 151, 180-185. doi:10.1016/j.jbiotec.2010.11.011
- Scor-Unesco, (1966). *Determination of photosynthetic pigments in seawater*. Monographs on Oceanographic Methodology, UNESCO, Paris, vol. 1, 11-18.
- Sharma, K.K., Schuhmann, H., & Schenk P.M. (2012). High lipid induction in microalgae for biodiesel production. *Energies*, 5, 1532-1553. doi:10.3390/en5051532
- Singh, P., Baranwal, M., & Reddy, S. M. (2016). Antioxidant and cytotoxic activity of carotenes produced by *Dunaliella salina* under stress. *Pharmaceutical Biology*, 1-7. doi:10.3109/13880209.2016.1153660
- Vega, P.J., Balaban, M.O., Sims, C.A., O'keefe, S.F., & Cornell, J.A. (1996). Supercritical Carbon Dioxide Extraction Efficiency for Carotenes from Carrots by Rsm. *Journal of Food Science*, 61 (4), 757- 759. doi:10.1111/j.1365-2621.1996.tb12198.x
- Weldy, C.S., & Huesemann, M. (2007). Lipid production by *Dunaliella salina* in batch culture: Effects of nitrogen limitation and light intensity. *U.S. Department of Energy Journal of Undergraduate Research*, 115-122.

- Wu, Z., Duangmanee, P., Zhao, P., Juntawong, N., & Ma, C. (2016). The effects of light, temperature, and nutrition on growth and pigment accumulation of three *Dunaliella salina* strains from saline soils. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 9(1), e26732. doi: 10.5812/jjm.26732
- Xi, Y., Wang, J., Chu, Y., Chi, Z., & Xue, S. (2020). Effects of different light regimes on *Dunaliella salina* growth and β -carotene accumulation. *Algal Research*, 52, 102111. doi:10.1016/j.algal.2020.102111
- Xu, Y., & Harvey, P.J. (2019). Red Light Control of β -Carotene Isomerisation to 9-cis β -Carotene and Carotenoid Accumulation in *Dunaliella salina*. *Antioxidants*, 8, 148. doi:10.3390/antiox8050148
- Zhu, C.J., & Lee, Y.K. (1997). Determination of biomass dry weight of marine microalgae. *Journal of Applied Phycology*, 9, 189-194. doi:10.1023/A:1007914806640