

BİYOLOJİ BİLİMLERİNDE ÖZEL GÜNCEL KONULAR



Editör
ALİ BİLGİLİ



BİDGE Yayınları

Biyoloji Bilimlerinde Özel Güncel Konular

Editör: ALİ BİLGİLİ

ISBN: 978-625-372-735-2

1. Baskı

Sayfa Düzeni: Gözde YÜCEL

Yayınlama Tarihi: 2025-06-25

BİDGE Yayınları

Bu eserin bütün hakları saklıdır. Kaynak gösterilerek tanıtım için yapılacak kısa alıntılar dışında yayıncının ve editörün yazılı izni olmaksızın hiçbir yolla çoğaltılamaz.

Sertifika No: 71374

Yayın hakları © BİDGE Yayınları

www.bidgeyayinlari.com.tr - bidgeyayinlari@gmail.com

Krc Bilişim Ticaret ve Organizasyon Ltd. Şti.

Güzeltepe Mahallesi Abidin Daver Sokak Sefer Apartmanı No: 7/9 Çankaya /
Ankara



ÖNSÖZ

Hünnap (*Zizyihus jujuba* Mill.) Rhamnaceae familyasına ait dikenli, yaprak döken 10 metreye kadar uzayabilen ağaç ya da çalı formunda bulunan bir bitki olup, günümüzde meyvesi, özellikle Türkiye'de popülaritesi artan ve üretim talebi yükselen bir meyve haline gelmiştir. Hünnap bitkisinin botanik özellikleri, kimyasal bileşenleri, fitokimyasal ve farmakolojik özellikleri ile dünya ve Türkiye'deki yayılışı kapsamlı şekilde ele alındı.

Briyofitler; tür sayısı, coğrafi yayılım ve habitat seçimi bakımından kapalı tohumlulardan sonraki en başarılı karasal bitki grubudur. Bazı briyofit türleri; kardiyovasküler hastalıklar, akciğer hastalıkları, cilt hastalıkları, enfeksiyonlar ve yaralar dahil olmak üzere farklı hastalıkları tedavi etmek için kullanılırlar. Özellikle ciğerotları ve karayosunlarında antifungal, antibakteriyel ve antiviral ve antioksidan potansiyeli test eden çalışmalar yürütülmüştür. Bu bölümde Artvin ili Karçal Dağları'ndan toplanan *Herzogiella seligeri* ve *Campyliadelphus chrysophyllus* materyallerinin fenolik, flavonoid, askorbik asit, karotenoid içerikleri ile antioksidan gücü, nitrik oksit temizleme, deoksiriboz bozunma ve diğer etkinliklerinin analizleri sonrası elde edilen sonuçlardan özellikle ilaç, kozmetik ve gıda endüstrilerinde kullanılabilecek biyoaktif bileşiklerin daha da fazla araştırılması gerektiği vurgulandı.

Organofosfatlı bir böcek ilacı olan dimetoat, akarlar, yaprak bitleri, sinekler ve bitki zararlıları gibi çeşitli böceklere karşı geniş şekilde kullanım için geliştirilmiştir. Birçok organizmanın dimetoattan zarar gördüğü gözlemlenmiştir. Suda yaşayan omurgalılar, çoğu suda yaşayan omurgasız ve fotosentetik organizmaya göre dimethoat maruziyetine daha duyarlıdır. Dimetoat kalıntıları çok sayıda ülkenin toprak, su ve su ve kara sistemlerinin bazı kısımlarında keşfedilmiştir. Mevcut bulgulara rağmen, dimetoatın çevrede sürekli izlenmesi esastır. bu pestisit nano

formülasyonunun gelecekteki çalışmaların kapsamlı bir alanı olabileceğine dikkat çekildi.

Elazığ İli (Türkiye) Briyofit Kontrol Listesi ve Türlerin Yayılışları başlıklı kitap bölümünde ise: Türkiye’de briyofitler (karayosunları, ciğerotları ve boynuzotları) ile ilgili çalışmalar, yabancı araştırmacılar tarafından başlatıldığı ve yapılan bu çalışmalar ile ülkemize ait briyofit envanterinin belirlenmesi ve güncellenmesi adına ara ara ülkemizin belirli kısımlarını veya tamamını kapsayan kontrol listeleri yayınlanmıştır. Elazığ ilinde 2014 yılından günümüze kadar briyofitler üzerine yapılan taksonomik ve vejetasyon çalışmalarının bir araya getirilmesi sağlanarak; briyofitlerin Alfabetik Listesi ve Listedeki Türlerin Elazığ, Türkiye ve Dünya Genelindeki Yayılışları ile ilgili çalışmaların tümü kolay temin edilebilmeleri bakımından tablolar halinde sunuldu.

Bitkiler yaşamın kaynağıdır ve bitkilerin potansiyellerinden en iyi şekilde yararlanabilmek için araştırmacılar, bitki biyoteknolojisi yöntemlerinden olan bitki doku, organ ve hücre kültürü yöntemleri ile çalışmalara hızla devam etmektedirler. Bitki doku kültürü uygulamalarına güncel bir bakış bölümünde bilimsel kaynaklar ışığında kapsamlı bilgilere yer verildi.

Farklı kültür ortamlarının *Haematococcus pluvialis* mikroalg türlerinin büyümesi, astaxantin, protein ve lipid içeriği üzerine etkileri konusunda son yıllara ait bilimsel kaynaklar yoğun şekilde irdelenerek önemli konulardan bahsedildi. Yapılan çalışmada, farklı kültür ortamlarının *Haematococcus pluvialis*’in gelişimi, astaksantin, protein, lipid, klorofil a, klorofil b ve karotenoid içeriği üzerindeki etkileri araştırıldı. Sonuçlar, kullanılan kültür ortamının mikroalg gelişimi ve metabolik bileşiklerin üretimi üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğunu ortaya koydu. Hücre yoğunluğu tüm ortamlarda kültür süresi boyunca arttığı tespitinde bulunuldu.

Ayrı bir kitap bölümünde ise sunulan yapay zekâ destekli ders planı, biyoloji eğitiminin hem içeriğini hem de pedagojik yaklaşımını yeniden düşünmeye olanak sağladığı vurgusundan hareketle: Sunulan örnek, üniversite öğrencilerine yönelik hayvansal dokular konusunun nasıl farklı YZ araçlarıyla zenginleştirilebileceğini, öğrenme süreçlerinin bireyselleştirilebileceğini ve çok boyutlu öğrenme deneyimlerinin yaratılabileceğini göstermektedir. Ders planları, yalnızca bilgi aktarımına değil, öğrencinin yaratıcı düşünme, araştırma, sorgulama ve dijital araçlarla üretme becerilerini geliştirmeye odaklandığından bahsedildi.

Vertikal veya Dikey Tarım (DT) çok katlı seraya benzer şekilde tesis edilen bir binada rafların veya katların belli aralıklarla üst üste yatay olarak yerleştirilmesiyle üzerinde bitkilerin yetiştirildiği ticari olarak endüstriyel bitki üretimidir. Topraksız tarımın çevresel etki ve sürdürülebilirliğiyle ilgili araştırma-deneme çalışmaları henüz çok başlangıç aşamasında olduğuna değinildi. Çevresel etki değerlendirmeleri ve bitkilerin yapay ortamlarda kültür koşulları bitkiler arasında çok değişken sonuçlar vermektedir. Uygulamaya alınacak lokal bitkilerin biyokimyasal kalitesini korumak veya daha iyileştirmek için bölgesel üretim sistemleri göz önünde bulundurulması ve iş kalitesi, tesis giderleri gibi işletme yönetimine ait faktörlerin optimizasyonu için çalışmalar yapılması konularında önemli bilgiler ise “Entüstriyel Bitki Üretimi: Vertikal Tarım” bölümü içerisinde sunuldu.

Prof. Dr. ALİ BİLGİLİ

ANKARA ÜNİVERSİTESİ

İÇİNDEKİLER

GENEL BİYOLOJİ DERSİ YAPAY ZEKA DESTEKLİ DERS TASARIMI	1
---	---

MİHRİCAN BALABAN ZOR

BİTKİ DOKU KÜLTÜRÜ UYGULAMALARINA GÜNCEL BİR BAKIŞ	21
---	----

BURCU ÇETİN

ENDÜSTRİYEL BİTKİ ÜRETİMİ: VERTİKAL TARIM	36
---	----

BERNA BAŞ

HÜNNAP (ZIZIPHUS JUJUBA MILL.) MEYVESİNİN FARMAKOLOJİK, FİTOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ VE TÜRKİYE'DEKİ YAYILIŞI İLE EKONOMİK ÖNEMİ VE KULLANIM ALANLARI	56
--	----

AHMET BEYATLI

HERZOGİELLA SELİGERİ VE CAMPYLIADELPHUS CHRYSOHYLLUS (BRYOPHYTA) TÜRLERİNİN BİYOAKTİF BİLEŞİKLERİ VE ANTİOKSİDAN KAPASİTELERİ	75
--	----

YELİZ ÇAKIR SAHİLLİ, MEVLÜT ALATAŞ

Elazığ İli (Türkiye) Briyofit Kontrol Listesi ve Türlerin Yayılışları	91
--	----

MEVLÜT ALATAŞ

THE EFFECTS OF DIFFERENT CULTURE MEDIA ON THE GROWTH, ASTAXANTHIN, PROTEIN AND LIPID CONTENT OF HAEMATOCOCCUS PLUVIALIS MICROALGA SPECIES	114
--	-----

GÖKÇE KENDİRLİOĞLU ŞİMŞEK

DİMETHOAT KAYNAKLI TOKSİSİTE	145
------------------------------------	-----

YELİZ ÇAKIR SAHİLLİ

INFLUENCE OF MURASHIGE AND SKOOG MEDIUM (MS MEDIUM) CONCENTRATION ON GROWTH, ASTAXANTHIN AND PROTEIN CONTENT OF MICROALGA HAEMATOCOCCUS PLUVIALIS	176
--	-----

GÖKÇE KENDİRLİOĞLU ŞİMŞEK

INVESTIGATION INTO THE EFFECTS OF DIFFERENT VITAMIN E CONCENTRATIONS ON GROWTH, PROTEIN AND ASTAXANTHIN AMOUNTS IN MICROALGA HAEMATOCOCCUS PLUVIALIS	209
---	-----

GÖKÇE KENDİRLİOĞLU ŞİMŞEK

IMPACT OF KINETIN AND ABSCISIC ACID PHYTOHORMONES ON GROWTH AND BIOCHEMICAL COMPOSITION OF SCENEDESMUS ACUTUS SPECIES	233
---	-----

GÖKÇE KENDİRLİOĞLU ŞİMŞEK

BÖLÜM 1

GENEL BİYOLOJİ DERSİ YAPAY ZEKA DESTEKLİ DERS TASARIMI

Mihrican BALABAN ZOR¹

Giriş

21. yüzyıla girilmesiyle bilgi ve iletişim teknolojilerindeki gelişmelerin hızlandığı görülmektedir ve bu durum eğitimde dijital dönüşüm süreçlerini kaçınılmaz kılmıştır. Yapay zeka (YZ) araçları öğrenme ve öğretme süreçlerinde önemli bir yenilik unsuru olarak sunulmaktadır. Eğitimde YZ kullanımının sadece bilgi aktarmanın ötesine geçerek öğrenme deneyimlerini kişiselleştirme, eleştirel düşünme ve problem çözme becerilerini geliştirme potansiyeline sahip olduğu vurgulanmaktadır (Xu, 2025: 6; Uşak, 2024: 806)

Fen ve biyoloji eğitiminde, özellikle soyut ve karmaşık olan biyolojik kavramların öğrenilmesinde öğrenciler genellikle zorluk yaşamaktadır. Hücresel mekanizmalar, dokular sistemlerdeki iç içe geçmiş kavramlar, genetik süreçler veya protein yapılarına ilişkin konular, görsel ve deneyimsel destek olmadan kavranması güç içeriklerdir. Bu noktada YZ araçları, öğrencilerin öğrenme süreçlerini desteklemek için etkileşimli ve dinamik çözümler

¹Dr. Öğretim Üyesi, Ankara Hacı Bayram Üniversitesi, Polatlı Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Orcid: 0000- 0002-8512-7398

sunmaktadır. Örneğin, ChatGPT gibi büyük dil modelleri öğrencilerin kavramları hızlı bir şekilde sorgulayıp ilgili açıklamalara ulaşmasını almasını sağlarken, AlphaFold gibi biyoinformatik yazılımlar da karmaşık protein yapılarını tahmin etme ve görselleştirme olanağı sunmaktadır (Zha & ark., 2025: 2; Zhou & ark., 2023:1).

Bu kitap bölümü, lisans düzeyinde verilen Genel Biyoloji dersi özelinde, YZ araçlarının ders tasarımına nasıl entegre edilebileceğine yönelik bir öneri sunmayı amaçlamaktadır. Genel Biyoloji I dersi, öğrencilerin canlıların temel yapı taşlarını tanıdığı ve biyolojik sistemleri kavradığı temel bir giriş düzeyidir. Bu bağlamda, hayvansal dokular konusunun öğretiminde teknolojik araçlardan etkin yararlanmak, öğrencilerin konuyu daha kalıcı ve anlamlı öğrenmesini sağlamaktadır. Bölümde öncelikle YZ araçlarının eğitimdeki potansiyel rolü ve biyoloji öğretimine özgü katkıları ele alınmakta, ardından haftalık bir ders planı örnekleri sunulmaktadır. Üniversite düzeyinde haftalık 4 saatlik kuramsal ders süresini kapsayacak biçimde yapılandırılmış, 4 haftalık YZ destekli ders planları yer almaktadır. Ders içeriği yalnızca bilgi aktarımını değil; öğrencinin araştıran, sorgulayan, üreten ve dijital araçları pedagojik amaçla kullanabilen bir birey olarak yetişmesini hedeflemektedir. Her hafta, farklı YZ araçlarıyla zenginleştirilmiş, farklı öğrenme stillerine hitap eden ve 21. yüzyıl becerilerini geliştirmeyi amaçlayan etkinliklerle yapılandırılmıştır. Çalışmanın temel amacı, biyoloji eğitiminin dijitalleşme süreçlerine katkı sunarak öğrenci başarısını ve öğrenme motivasyonunu artıracak yenilikçi bir yol haritası geliştirmektir.

Biyoloji Eğitiminde Yapay Zeka Destekli Araçların Önemi

Biyoloji eğitimi, canlı organizmaların yapısı, işlevi, evrimi ve ekolojik ilişkileri gibi karmaşık ve çok katmanlı kavramları kapsar. Geleneksel öğretim yöntemleri bu zengin içeriği öğrencilere yeterince etkileşimli ve kişiselleştirilmiş bir biçimde

aktaramadığında, yüzeysel öğrenme, kavramsal yanlış anlamalar ve düşük öğrenme motivasyonu gibi sorunlar ortaya çıkabilmektedir (Singh, Vasishta & Singla, 2025: 185). YZ destekli araçlar, bu sorunların oluşmaması için yenilikçi etkinlikler sunmaktadır. Büyük dil modelleri -örneğin ChatGPT, Google Bard- biyolojik kavramların daha anlaşılır hale getirilmesi, sorulara anlık geri bildirim sağlanması ve eleştirel düşünmenin desteklenmesi noktasında öğrencilere önemli katkılar sağlamaktadır (Zha & ark., 2025: 2; Zhou & ark., 2023: 1).

Örneğin, ChatGPT ve Google Bard gibi büyük dil modelleri (LLM), öğretmenlere ders notları, açıklamalı özetler, etkinlik önerileri, sınav soruları ve öğrenci geribildirim metinleri üretme konusunda destek sunmaktadır (Zha & ark., 2025: 2). Kullanıcı, yalnızca bir konu veya öğrenme hedefi tanımlayarak bu modellerden kapsamlı, dilbilgisi açısından doğru ve pedagojik olarak yapılandırılmış içerikler elde edebilmektedir. Perplexity AI ise özellikle bilgi taraması ve literatür araştırması yapma, güncel bilimsel içerikleri hızlıca özetleme gibi işlevleriyle eğitimcilerin zaman tasarrufu sağlamasına katkıda bulunmaktadır (Zhou & ark., 2023: 1).

Görsel içerik üretimi açısından Leonardo AI ve MidJourney AI gibi görsel yapay zekâ araçları, biyoloji, fizik, kimya gibi disiplinlerde karmaşık süreçleri ya da soyut kavramları görselleştirme fırsatı sunmaktadır (Harrison, Bowen & Bowen, 2013: 1; Chen & ark., 2022: 33; Richardson, 2023: 566; Gülaçtı, 2023: 2189). Örneğin, hücre bölünmesi, DNA yapısı veya ekosistem modelleri, bu araçlar sayesinde öğrencilerin anlayabileceği düzeye indirgenmiş, görsel olarak zenginleştirilmiş materyallere dönüştürülebilmektedir. Eğitim teknolojilerinde öne çıkan bir başka alan ise biyoinformatik veya fen eğitimi gibi alanlarda kullanılan özel YZ tabanlı simülasyonlar ve modelleme araçlarıdır. AlphaFold, protein yapı tahmini yaparak biyoloji ve biyoteknoloji derslerinde

soyut moleküler yapıları somut ve üç boyutlu hâle getirirken (Jumper & ark., 2021: 583), DeepMind's AlphaCode, öğrencilerin biyolojik süreçleri programlama diliyle modellemelerine imkan vermekte böylelikle bilişsel ve mantıksal becerilerin gelişimine katkı sunmaktadır (Li & ark., 2022: 1).

Ayrıca, Explainpaper ve Elicit gibi araştırma odaklı YZ araçları, makale özetleme, anahtar kavram çıkarma ve metodoloji analizleriyle öğrenci ve öğretmenlerin bilimsel okuryazarlıklarını geliştirmelerine yardımcı olmaktadır (Xu, 2025: 6). Eğitimde etik açıdan önemli bir avantaj ise bu araçların içerikleri kişiselleştirme ve öğrenci ihtiyaçlarına göre uyarlama kapasitesinin yüksek olmasıdır (Zha & ark., 2025: 2). Öğrenme analitiği desteği sağlayan bazı gelişmiş platformlar, öğrencinin eksik ya da güçlendirilmesi gereken alanlarını belirleyerek ona özgü içerikler sunmakta ve böylece öğrenme süreçlerini daha etkili hâle getirmektedir (Singh, Vasishta & Singla, 2025: 185).

Nitekim literatürde YZ destekli araçların biyoloji eğitimindeki etkisini inceleyen çalışmalara bakıldığında, YZ destekli eğitimin katkıları somut biçimde ortaya çıktığı görülmektedir. Behrens, Marbach-Ad, & Kocher (2024) tarafından yürütülen bir çalışmada, lise biyoloji dersine entegre edilen bir YZ destekli ödev platformunun, öğrencilerin genetik kavramlarına dair yanlış anlamalarını azalttığı ve kavramsal değişim yarattığı, ayrıca akademik başarılarının da arttığı belirlenmiştir. Öğrenciler, ChatGPT benzeri bir arayüz üzerinden genetik sorularına yanıt ararken, sistem tarafından sunulan açıklamalı yanıtlar ve ek örnekler sayesinde daha derin öğrenme gerçekleştirmiştir.

Benzer şekilde, Singh, Kumar ve Gupta (2020), YZ destekli öğrenme ortamlarının öğrencilerin laboratuvar uygulamalarındaki başarılarını artırdığını bildirmiştir. Çalışmada, sanal laboratuvar ortamında yapay zeka tarafından yönlendirilen bir hücre biyolojisi simülasyonu kullanılmış; öğrenciler deney tasarımı, hipotez

oluşturma ve sonuçların yorumlanması süreçlerinde YZ'den yönlendirme ve anında geri bildirim almıştır. Sonuçlar, bu gruptaki öğrencilerin problem zme becerilerinin ve deneysel düşünme yetkinliklerinin anlamlı şekilde geliştiğini ortaya koymuştur.

Ek olarak, biyoinformatik eēitiminde AlphaFold gibi YZ tabanlı araçların kullanımı, öğrencilerin moleküler biyoloji ve protein yapılarına ilişkin anlayışlarını güçlendirmektedir (Zhou & ark., 2023: 1). Öğrenciler, bir amino asit dizisinden üç boyutlu protein yapılarını öngörebilen bu araçları kullanarak soyut bilgileri görsel olarak deneyimleme fırsatı bulmakta ve biyokimyasal süreçler arasındaki ilişkileri daha iyi kavrayabilmektedir.

Özetlenen bu çalışmalar, yapay zekanın biyoloji eēitimindeki önemini yalnızca teorik bir tartışma alanı olmaktan çıkarıp, ölçülebilir ve raporlanabilir kazanımlarla desteklenen somut bir pedagojik yenilik alanına dönüştürmektedir. Biyoloji ēretiminde YZ araçlarının entegre edilmesi, sadece içerik aktarımını deēil, aynı zamanda st düzey bilişsel ve bilimsel becerilerin gelişimini destekleyen aēdař bir ēretim yaklaşımı olarak kritik bir rol üstlenmektedir.

Eēitim içerikleri üretmek için tasarlanmış yapay zekâ araçları, ēretim süreçlerini sadece hızlandırmakla kalmaz; aynı zamanda kaliteyi artırır, bireyselleştirilmiş ērenme deneyimleri saēlar ve eēitimcilerin yaratıcı potansiyellerini destekler (Ali, 2025: 882; Walter, 2024: 2). Bu teknolojiler, eēitimde dijitalleşmenin önemli bileşenleri hâline gelmiş ve pedagojik tasarımlarda yeni ufuklar açmıştır. Ancak tüm bu imkânların etkili kullanılabilmesi için eēitimcilerin dijital okuryazarlık ve yapay zekâ farkındalığını geliştirmesi kritik önem taşımaktadır (Uşak, 2024: 806).

YZ Destekli Ders Tasarımları Örnekleri

Bu bölümde, üniversite düzeyindeki Genel Biyoloji I dersi kapsamında hayvansal dokulara yönelik haftalık YZ destekli ders ortamı için etkinlik önerileri sunulmaktadır. Bu etkinlikler aracılığıyla öğrencilerin yalnızca biyolojik kavramları öğrenmeleri değil; aynı zamanda problem çözme, yaratıcılık, dijital araç kullanım becerileri ve öz değerlendirme gibi 21. yüzyıl becerilerini geliştirmeleri de amaçlanmaktadır.

İlgili hafta için, ders içeriği ile doğrudan ilişkili konular temel alınarak yapılandırılmış ve farklı yapay zeka uygulamalarının öğrenme sürecine entegrasyonu hedeflenmiştir. Önerilen etkinlikler, uygulamalı çalışma, bireysel ya da grup temelli araştırma, kavramsal modelleme, senaryo geliştirme, hikâyeleştirme, animasyon oluşturma, grafiksel analiz ve dijital içerik üretimi gibi farklı yöntemleri kapsar. Öğrenciler bu süreçte öğrenme çıktılarını belgeleyen bireysel portfolyolar oluştururlar ve yapay zeka araçlarını öğrenmelerini derinleştirmek amacıyla aktif biçimde kullanırlar.

Her etkinlik; konunun kazanımları doğrultusunda planlanmış, uygulanabilirliğin gösterilmesi amacıyla adım adım açıklanmış ve portfolyoya dahil edilmek üzere somut ürünlerle desteklenmiştir. Etkinliklerde ağırlıklı olarak kullanılan YZ araçları arasında ChatGPT (diyalog, içerik üretimi, kavram açıklamaları), Canva (poster ve sunum tasarımı), sanal simülasyon uygulamaları, Perplexity AI, 3D modelleme platformları ve sesli AI yazılımları yer almaktadır.

Haftalık her bölüm aşağıdaki bileşenleri içerecek şekilde yapılandırılmıştır:

- Hafta ve Konu Başlığı
- YZ destekli 3 farklı etkinlik

- Her etkinlik için “Nasıl yapılır?” açıklaması
- Portfolyo ürünü
- Haftaya özgü ödev veya değerlendirme çalışması

Yukarıda yer alan adımlar doğrultusunda Genel Biyoloji I dersi kapsamında işlenen 4 haftalık süreç için hayvansal dokulara ait YZ destekli etkinlik önerileri sunulmaktadır. Her biri kendi içinde uygulanabilir, farklı öğrenme stillerine hitap eden, öğrenci katılımını artırmaya ve öğrenmeyi kişiselleştirmeye yönelik olarak tasarlanmıştır.

Tablo 1 Epitel dokuya ait YZ destekli ders tasarımı

Önerilen Süre:	50+50+50+50
Konu:	Epitel Doku
Hedef ve Kazanımlar:	- Epitel ve bağ dokularının yapı ve işlevlerini açıklar. - Yapay zekâ araçlarıyla bilimsel bilgi toplar ve analiz eder. - Kavramları yaratıcı yollarla ifade eder. - Eleştirel tartışmalarda bilimsel argüman geliştirir.
Kullanılacak Yapay Zekâ Araçları:	- ChatGPT (dokulara ait biyolojik özellikleri derleme, kişileştirilmiş hikâye yazdırma) - Perplexity AI (güncel makale tarama, literatür bulma) - Canva AI (poster, infografik tasarımı)
Etkinlik 1 Metin oluşturma	Öğretmen anlatımı ve ChatGPT’den destekle temel kavramların aktarımı - ChatGPT’ye soru yöneltilir: “Sen şimdi epitel dokusun ve kendini bir biyoloji sınıfındaki öğrencilere tanıtacaksın. Görevlerini, hücre tiplerini ve neden önemli olduğunu öğrencilerin anlayacağı bir dille anlat.” Örnek metinler : “Merhaba! Ben yassı epitelim. Hücrelerim yassı, ince ve hassasım. Görevim korumak! Derinizde, ağız boşluğunuzda, yemek borunuzda bulunurum. Eğer ben olmazsam dış etkenlere karşı savunmasız kalırsınız!” - Öğrenciler bu metinleri okur. Epitel doku çeşitleri kadar gruplara ayrılarak grupça rollerini canlandırırlar.
Etkinlik 2 YZ ile Literatür	- Gruplar Perplexity AI ile “epitel doku kanserleşmesi” üzerine güncel bir makale tarar.

Tarama ve Araştırma	Her grup bulduğu makaleyi 1–2 paragraflık özetini hazırlar: “Makale şunu inceliyor: ... Hangi hücre etkileniyor? ... Sonuçlar ne gösteriyor?” gibi sorulara cevap oluşturacak şekilde diğer gruplar önünde sunumunu yapar. Aynı zamanda sorusu olan arkadaşlarının sorularını cevaplar.
Etkinlik 3 YZ ile Yaratıcı Karşılaştırma Görevi	- Gruplar Canva AI veya Leonardo AI kullanarak bir infografik tasarlar: - Epitel doku yapısı nasıl olmalı, işlevi nasıl olmalı, doku hastalıkları neler olabilir. - YZ'den görsel destek alarak şekil ve ikonlar eklerler.
Etkinliklerin Öğrenme Stillerine Katkısı:	Görsel (infografik), işitsel (tartışma), okuma-yazma (makale özeti, yansıma metni), kinestetik (grup çalışması, poster hazırlığı)
Öğretmen Rehberi Notları:	- AI içeriklerinin akademik doğruluğunu önceden kontrol edilmeli - Gruplar arası eşit görev dağılımı yapıldığından emin olunmalı - Posterlerde hem görsel tasarım hem içerik doğruluğunu değerlendirmede rubrik hazırlanmalı - Portfolyolarına eklemeleri belirtilebilir

Tablo 1’de, epitel doku konusunun öğretiminde yapay zekâ destekli araçlar kullanılarak planlanan üç farklı etkinlik yer almaktadır. Etkinlikler; öğrencilerin bilişsel, duyuşsal ve sosyal becerilerini geliştirmeye yönelik olup, farklı öğrenme stillerine hitap edecek şekilde tasarlanmıştır. ChatGPT, Perplexity AI ve Canva AI gibi araçlar sayesinde öğrenciler bilgiye ulaşma, yaratıcı içerik üretme ve bilimsel bilgiyi yorumlama gibi 21. yüzyıl becerilerini kullanarak derinlemesine öğrenme sürecine katılmaktadır. Her etkinlikte grup çalışması, yansıtıcı düşünme ve çoklu ortam kullanımı teşvik edilmiştir.

Tablo 2 Bağ ve yağ dokuya ait YZ destekli ders tasarımı

Önerilen Süre:	50+50+50+50
Konu:	Bağ Doku ve Yağ Doku
Hedef ve Kazanımlar:	- Yağ ve bağ dokusunun yapı ve işlevlerini karşılaştırır. - Bağ dokunun türlerini sınıflandırır ve yapısal farklarını açıklar.

	- Farklı bağ doku türlerini günlük yaşam örnekleriyle ilişkilendirir.
Kullanılacak Yapay Zekâ Araçları:	- ChatGPT (yağ ve bağ dokusu hikâyeleştirme) - Perplexity AI (lipodistrofi, obezite, yağ/ bağ doku üzerine makale tarama) - Podcast veya mini video için CapCut AI veya ses kaydı araçları
Etkinlik 1. Hikayeleştirme	YZ Destekli Biyolojik Hikâyeleştirme: - ChatGPT yardımı ile yağ dokusu ve bağ dokusunun işlevlerini açıklayan birer hikaye oluşturmaları istenir. Örneğin, “Selam! Ben bir yağ hücresiyim. Enerji deposu muyum? Evet! Ama aynı zamanda leptin hormonuyla iştahınızı ayarlayan endokrin bir merkezim.” “Vücudun en sessiz ama en sadık işçisi olarak yıllardır kasları kemiklere, organları birbirine bağlıyorum. Adım Bağ Doku ve bu benim görünmeyen ama vazgeçilmez hikâyem.” - Hikayelerini sınıfa sunarlar.
Etkinlik 2 YZ ile Literatür Tarama ve Özet Oluşturma	Dokuya Dair Ne Biliyoruz? - Sınıf 3-4 kişilik gruplara ayrılır. Her gruba yağ doku ya da bağ doku teması atanır. - Gruplar kendi dokusuna ait araştırmak istediği soruyu seçer. - Örneğin; “Yağ dokusunun hormon üretimiyle ilişkisi nedir?” “İnsanda en çok bulunan bağ doku çeşidi hangisidir?” “Yağ dokusunun inflamasyonla ilişkisi var mı?” “Bağ doku, yaraların iyileşmesinde ne kadar ekili?” - Öğrenciler sorularını Perplexity’ye sorar. Sistem, son birkaç yılda yayımlanmış akademik makaleleri özetle listeler. - Öğrenciler bu cevaplardan birini seçer ve detayları inceler. - Gruplar oluşturdukları araştırma sonuçlarını sınıfta paylaşır.
Etkinlik 3 Serbest Ürün Oluşturma	Günlük oluşturma: - Gruplar Canva AI veya CapCut AI kullanarak: - Bir “Lipodistrofi Hastasının Günlüğü” podcasti veya kısa bir video hazırlayabilir. - Veya bağ dokuya dair senaryo hazırlayabilir (örneğin: “Bir futbolcunun bağ dokusu zedelenirse ne olur?”). - ChatGPT’den yardım alarak biyolojik açıklama yazarlar ve YouTube’da ilgili bir içerikten (örneğin bir spor yaralanması videosu) örnekle ilişkilendirebilirler. Senaryo kısa bir blog yazısına dönüştürülür.

	- Sunumlar yapılır, sınıfça en yaratıcı iş seçilir.
Etkinliklerin Öğrenme Stillerine Katkısı:	Görsel (video hazırlama), işitsel (tartışma, podcast hazırlama), okuma-yazma (makale özeti, yansıma metni), kinestetik (grup çalışması, hikaye yazdırma)
Öğretmen Rehberi Notları:	- Öğrencilerin literatür karışıklığı yaşamaması için örnek makale bağlantısı paylaşılabilir. - AI kullanımının takibi için gruplardan kullandıkları yapay zekâ ekran görüntüsünü istenebilir. - Portfolyolarına eklemeleri belirtilebilir

Tablo 2’de bağ ve yağ dokularının öğretimine yönelik olarak geliştirilen, yapay zekâ destekli üç özgün etkinlik yer almaktadır. Öğrencilerin hem bilişsel hem yaratıcı becerilerini desteklemeyi amaçlayan bu etkinliklerde ChatGPT, Perplexity AI, Canva AI ve CapCut AI gibi araçlardan yararlanılmıştır. Hikâyeleştirme, literatür tarama ve yaratıcı medya üretimi gibi farklı yöntemlerle yapılandırılan etkinlikler; bireysel katılımı, grup çalışmasını ve çoklu öğrenme yollarını destekleyici niteliktedir. Öğrencilerin bilimsel düşünme becerilerinin gelişmesi, içerikleri sentezleyerek sunmaları ve teknolojiyi işlevsel biçimde kullanmaları hedeflenmiştir.

Tablo 3 Kan dokuya ait YZ destekli ders tasarımı

Önerilen Süre:	50+50
Konu:	Kan Doku
Hedef ve Kazanımlar:	- Kan dokunun yapısal bileşenlerini (plazma, eritrosit, lökosit, trombosit) ayırt eder ve işlevleriyle ilişkilendirir. - Kan hücrelerinin görevlerini açıklayarak bağışıklık, taşıma ve pıhtılaşma süreçlerini açıklar. - YZ araçlarını kullanarak kan dokusuyla ilgili güncel bilimsel literatüre ulaşır ve bu bilgileri değerlendirir.
Kullanılacak Yapay Zekâ Araçları:	- ChatGPT (hikayeleştirme) - Canva / Google Slides (poster, video) - Perplexity (makale tarama ve özetleme)
Etkinlik 1. Dokuya ait Kavramlar	Kan Hücresi Avı - Öğrencilere ChatGPT tarafından üretilen farklı kan hücresi tanımları verilir (eritrosit, lökosit, trombosit). Örneğin;

	“Ben kırmızı kan hücresiyim. Hemoglobini taşıyorum, oksijen taşıyorum, hayat taşıyorum! Eğer ben eksik olursam anemi başlar, hücreleriniz oksijensiz kalır.” - Öğrenciler bu tanımları eşleştirir, açıklamalar ekler ve gruplar arası kısa tartışmalar yapılır.
Etkinlik 2 YZ ile Literatür Tarama ve Özet Oluşturma	Kan Doku Hakkında - Gruplar kan dokusuna ait araştırmak istediği soruyu seçer. Örneğin; “Anemide hangi kan hücreleri etkilenir?” “Bağışıklıkta kan hücrelerinin rolü nedir?” “kan kanseri türleri nelerdir?” “Kan doku hücrelerinin COVID-19’daki rolü nedir?” - Öğrenciler sorularını Perplexity’ye sorar. Sistem, son birkaç yılda yayımlanmış akademik makaleleri özetle listeler. Öğrenciler bu cevaplardan birini seçer ve detayları inceler. - Gruplar oluşturdukları araştırma sonuçlarını sınıfta paylaşır
Etkinlik 3 YZ ile Serbest Ürün Oluşturma	Kendi Kan Panomu Tasarlıyorum - Gruplar seçecekleri konuda istedikleri ürünü oluşturabilirler. - Konulara örnek olarak kanın görevlerinden biri seçilebilir; kanın taşınması, kanın pıhtılaşması, kanın savunma görevi - Konusuyla ilgili Podcast oluşturabilir, kısa bir video kurgulayabilir, kavram haritası tasarlayabilir veya Canva kullanarak poster hazırlayabilir.
Etkinliklerin Öğrenme Stillerine Katkısı:	Görsel (video), işitsel (tartışma), okuma-yazma (makale özeti, yansıma metni), kinestetik (grup çalışması, poster hazırlığı)
Öğretmen Rehberi Notları:	- AI içeriklerinin akademik doğruluğunu önceden kontrol edilmeli - Gruplar arası eşit görev dağılımı yapıldığından emin olunmalı - Posterlerde hem görsel tasarım hem içerik doğruluğunu değerlendirmede rubrik hazırlanmalı - Portfolyolarına eklemeleri belirtilebilir

Tablo 3’te kan dokusunun öğretimi için geliştirilen yapay zekâ destekli üç etkinlik sunulmuştur. Öğrencilerin aktif katılımını ve anlamlı öğrenmelerini hedefleyen bu yapılandırmalar; kavramsal

eşleştirme, güncel literatür incelemesi ve yaratıcı ürün üretimi adımlarını içermektedir. ChatGPT, Perplexity AI ve Canva/Google Slides gibi araçlar, bilgiye erişim, görsel-işitsel materyal üretimi ve kavramların pekiştirilmesi süreçlerinde kullanılmıştır. Bu etkinlikler, üniversite düzeyinde öğrencilerin bilimsel düşünme, yorumlama ve iletişim becerilerini geliştirmeye katkı sağlar.

Tablo 4 Kıkırdak ve kemik doku doku YZ destekli ders tasarımı

Önerilen Süre:	50+50
Konu:	Kıkırdak ve Kemik Doku
Hedef ve Kazanımlar:	- Kıkırdak ve kemik dokuların yapısal ve fonksiyonel özelliklerini açıklar. - Hücre tiplerini (osteosit, osteoklast, kondrosit) görevleriyle ilişkilendirir. - AI destekli araçlarla doku biyolojisi üzerine araştırma yapar ve bilgileri sentezler. - Kemik ve kıkırdak doku türleri arasındaki farkları tanımlar ve sınıflandırır
Kullanılacak Yapay Zekâ Araçları:	- ChatGPT (Dokuları tanımlama, kavramsal eşleştirme) - Canva AI (Poster hazırlama ve eşleştirme) - Perplexity AI (Makale taraması) - Podcast AI (podcast hazırlama ve sunma)
Etkinlik 1. Dokuları tanıma	Hangi doku olduğunu bul: - Öğrencilere ChatGPT'den alınmış biyolojik tanımlar sunulur Örneğin; “Damarsız bir yapıya sahibim.- Hücrelerim lakünler içinde yaşar ve besinlerini difüzyonla alır.” “Ben, düzenli halkalar şeklinde dizilen yapım birimi osteonlardan oluşurum.- İçimde damar ve sinirler dolaşır; sert, yoğun ve dayanıklıyım. - Öğrenciler hangi doku olduğunu tahmin eder, kısa gerekçe sunar.
Etkinlik 2 YZ ile Kavram Karşılaştırması	Doku Poster: - Öğrencilerden ChatGPT'ye - “Kıkırdak ve kemik dokular arasındaki farklar nedir?” - “Kondrosit ve osteositin işlev farkı nedir?” - Cevapları Canva veya Google Slides ile görsel karşılaştırma posterine dönüştürürler.
Etkinlik 2 AI ile Literatür Tarama ve Özet oluşturma	Araştırma yapma: - Sınıf gruplara ayrılır

	- Her grup Perplexity AI kullanarak belirli konularda (örneğin: osteoporoz, kondrosit apoptozu, doku mühendisliği) makale bulur ve literatür özeti hazırlar.
Etkinlik 3 YZ ile Yaraticılığı Geliştirme	Serbest Görev Seçimi Her grup seçeceği yolla istediği doku için bir görev hazırlar. Burada öğrencilerin öğrenme stillerinin farklı olmasından dolayı seçecekleri ödev tipi de farklı olacaktır. Örneğin; - “Kemik Dokusunun İçinde Bir Gün” konulu bir metin oluşturmak - Kemik/Kıkırdak Doku ile ilgili Podcast hazırlamak - Kavramsal analiz raporu oluşturmak - Dokulardan birini hikayeleştirip sunmak
Etkinliklerin Öğrenme Stillrine Katkısı:	Görsel (poster hazırlama), işitsel (tartışma, podcast hazırlama), okuma-yazma (makale özeti, yansıma metni), kinestetik (grup çalışması, poster hazırlığı)
Öğretmen Rehberi Notları:	- Öğrencilerin YZ çıktılarının doğruluğunu kontrol edilmesi önemlidir -Gruplar arası etkileşim ve soru-cevap ile desteklenebilir. -Ürünlerde orijinallik ve kavramsal bütünlük ön planda tutulduğu hatırlatılarak yeni ürünler için öğrenciler güdülenebilir - YZ kullanımının takibi için gruplardan kullandıkları yapay zekâ ekran görüntüsünü istenebilir. - Portfolyolarına eklemeleri belirtilebilir.

Tablo 4’te, kıkırdak ve kemik dokuların öğretiminde yapay zekâ araçlarını merkeze alan dört özgün etkinliği içermektedir. Etkinlikler; tanıma, karşılaştırma, araştırma ve yaratıcılık geliştirme olmak üzere farklı bilişsel düzeylerde öğrenme süreçlerini desteklemektedir. ChatGPT, Perplexity AI, Canva AI, Google Slides ve Podcast AI gibi araçlar, hem bilgiye erişimi hem de öğrencilerin kavramları kendi sözleriyle ifade etmesini kolaylaştırmaktadır. Özellikle serbest görev seçimi ile öğrencilerin bireysel öğrenme stilleri ve ilgi alanları doğrultusunda ürün oluşturmaları teşvik edilmektedir.

Tablo 5 Kas doku dokuya ait YZ destekli ders tasarımı

Önerilen Süre:	50+50
Konu:	Kas Doku
Hedef ve Kazanımlar:	- Kas dokusunun türlerini (iskelet, düz, kalp) yapısal ve işlevsel açıdan karşılaştırır. - Kas kasılma mekanizmasını (aktin–miyozin etkileşimi, ATP rolü, kalsiyum salınımı) açıklar. - Nöromusküler kavşak üzerinden sinir-kas iletimini analiz eder. - Kas sistemine ait temel fizyolojik süreçleri analiz ederek, bu süreçlerin günlük yaşam, egzersiz ya da hastalık durumlarındaki işleyişini yorumlar."
Kullanılacak Yapay Zekâ Araçları:	- ChatGPT (kavramlar, - Canva / Google Slides (poster oluşturma) - Perplexity (makale tarama ve özetleme) - Krikey AI/Pika Labs (animasyon hazırlama)
Etkinlik 1. Dokuya ait Kavramlar	Kas Tipleri Galerisi - Öğrenciler 3 gruba ayrılır (iskelet, düz, kalp). Her grup ChatGPT'ye şu komutu verir: - Bir [duyu/ara/motor] nöronu gibi davran. Kendi yapını, işlevini, vücutta nerede bulunduğunu ve hücre gövdesinde (soma) hangi organellerin baskın olduğunu açıkla. Örnek metinler; "Bir motor nöronum. Omurilikte yer alırım ve kaslara hareket sinyalleri gönderirim. Hücre gövdemde bol miktarda mitokondri bulunur çünkü enerjiye çok ihtiyacım var..."gibi. Bu metinlerin içerikleri gruplar tarafından zenginleştirilir. - Bu tanımlardan yola çıkılarak grup üyelerince canlandırma yapılır. - Her grup kendi nöron tipi ile ilgili canlandırmasını yaptıktan sonra aralarında ne gibi farkların olduğu vurgulanır. Örneğin miyelinli/siz oluşu, bulunduğu organlar, temel görevleri, akson ve dentrit uzunlukları...
Etkinlik 2 YZ ile Literatür Tarama ve Özet Oluşturma	Her grup kas dokusuna dair bir araştırma sorusu belirler: Örnekler: "Egzersiz sırasında kas dokusunda ATP tüketimi nasıl değişir?" "Miyozin genlerindeki mutasyonların kas kasılmasına etkisi nedir?" "Kas distrofilerinde doku yapısı nasıl etkilenir?"

	- Öğrenciler sorularını Perplexity'ye sorar. Sistem, son birkaç yılda yayımlanmış akademik makaleleri listeler. - Öğrenciler bu makaleler içerisinde en az 2 tanesini seçer ve özetler. - Gruplar oluşturdukları makale özetlerini aralarında karşılaştırır ve araştırma metni şeklinde hazırlayarak sınıfta sunarlar.
Etkinlik 3 YZ ile Serbest Ürün Oluşturma	Kas kasılması nasıl gerçekleşir? - Gruplar oluşturulur, kasılmanın nasıl gerçekleştiğini 5 adımda açıklayan animasyon hazırlanması istenir. Adımlar: - Sinir uyarısı gelmesi - Kalsiyum salınması - Aktin ve miyozin bağlanması - ATP ile gevşeme başlaması - Kasın yeniden hazır duruma geçmesi - Öğrenciler kasılma sürecini Krikey AI veya Pika Labs kullanarak 30–60 saniyelik animasyon olarak tasarlar. - Hazırlanan dijital model sınıfla paylaşılır. - Sunumlar QR kodla panoya asılır - Her öğrenci diğer grubun modeline 1 yorum ve 1 geliştirme önerisi yazar.
Etkinliklerin Öğrenme Stillerine Katkısı:	Görsel (infografik), işitsel (tartışma), okuma-yazma (makale özeti, yansıma metni), kinestetik (grup çalışması, animasyon hazırlığı)
Öğretmen Rehberi Notları:	- Gruplar arası eşit görev dağılımı yapıldığından emin olunmalı - Öğrencilere görsel araçlar için örnek şablonlar sağlanabilir. - AI'dan alınan yanıtların doğruluğu sınıf tartışmasıyla mutlaka test edilmelidir. - Animasyonun değerlendirilmesi için rubrik hazırlanmalıdır. - Portfolyolarına eklemeleri belirtilebilir.

Tablo 5'te sunulan etkinlikler, kas dokusunun yapısı, kas kasılma mekanizması ve fizyolojik süreçlerine ilişkin kavramların öğrenciler tarafından aktif şekilde öğrenilmesini hedeflemektedir. Etkinliklerde ChatGPT ile kavramsal çerçeve oluşturulmuş, Perplexity AI ile literatür taraması yapılmış ve Krikey AI/Pika Labs gibi araçlarla özgün animasyon içerikleri üretilmiştir. Etkinlikler aynı zamanda farklı öğrenme stillerini (görsel, işitsel, kinestetik ve

okuma-yazma) destekleyerek 21. yüzyıl becerilerinin gelişimini teşvik etmektedir.

Tablo 6 Sinir doku dokuya ait YZ destekli ders tasarımı

Önerilen Süre:	50+50
Konu:	Sinir Doku
Hedef ve Kazanımlar:	- Sinir dokunun yapısını ve temel hücre tiplerini (nöron, glia) açıklar. - Duyu, motor ve ara nöron tiplerini yapısal ve işlevsel yönden karşılaştırır. - Aksiyon potansiyeli oluşum sürecini ve iyon değişimlerini analiz eder. - Sinir sisteminin işleyişini YZ araçları kullanarak açıklar.
Kullanılacak Yapay Zekâ Araçları	- ChatGPT (tanımlama, hikayeleştirme) - Canva / Google Slides (grafik ve sunu oluşturma) - Perplexity (makale tarama ve özetleme) - NeuroLab Simülasyon (simülasyon ve hikayeleştirme)
Etkinlik 1. Dokuya ait Kavramlar	Sinir Hücresinde İletim - Öğrenciler 3 gruba ayrılır (duyu nöron, ara nöron, motor nöron). - Her grup ChatGPT’ye şu komutu verir: - Bu tanımlar postere dönüştürülür. - Grupların posterleri bir galeri ortamı gibi düşünülerek sunumları yapılır.
Etkinlik 2 YZ ile Literatür Tarama ve Özet Oluşturma	- Her grup sinir dokusuna dair bir araştırma sorusu belirler: - Örnekler: “Sinir iletiminde miyelin hasarının etkisi nedir?” “Aksiyon potansiyelini etkileyen genetik mutasyonlar nelerdir?” “Alzheimer hastalığında sinir hücreleri arasındaki iletişim nasıl değişir?” “Sinir dokusu rejenerasyonu neden sınırlıdır? Glial skarlaşma süreci bu durumu nasıl etkiler?” - Öğrenciler sorularını Perplexity’ye sorar. Sistem, son birkaç yılda yayımlanmış akademik makaleleri listeler. - Öğrenciler bu makaleler içerisinde en az 2 tanesini seçer ve özetler. - Gruplar oluşturdukları makale özetlerini aralarında karşılaştırır ve araştırma metni şeklide hazırlayarak sınıfta sunarlar. - Bulgular tabloya yazılır, sonuçlar karşılaştırılır.
Etkinlik 3	Aksiyon Potansiyeli Simülasyonu ve Hikâyeleştirme - Gruplar oluşturulur,

YZ ile Serbest Ürün Oluşturma	Öğrenciler PhET Neuron Simulation (https://phet.colorado.edu/sims/html/neuron/latest/neuron_all.html?utm_source=chatgpt.com) kullanır. - Öğrenci simülasyonda sinir hücresine uyarın gönderir. Sanal simülasyonda bir nöronun uyarılması ve aksiyon potansiyelinin nasıl oluştuğu nelerin değiştiğini, hangi iyonların grafiklerde yer aldığını, eşik değerini uygulama üzerinden dener, grafiğini oluşturur. - Yaptıkları denemeleri ve oluşturdukları grafikleri içeren açıklayıcı sunumlarını sınıfta sunarlar. - Dinlenme, eşik, depolarizasyon, repolarizasyon, hiperpolarizasyon kavramları için poster hazırlayıp sınıfta asarlar.
Etkinliklerin Öğrenme Stillerine Katkısı:	Görsel (infografik, simülasyon), işitsel (tartışma), okuma-yazma (makale özeti, yansıma metni), kinestetik (grup çalışması, simülasyon, hikayeleştirme)
Öğretmen Rehberi Notları:	- Gruplar arası eşit görev dağılımı yapıldığından emin olunmalı - AI'dan alınan yanıtların doğruluğu sınıf tartışmasıyla mutlaka test edilmelidir. - Simülasyonun doğru anlaşıldığından emin olunmalı. - Portfolyolarına eklemeleri belirtilebilir.

Tablo 6'da, öğrencilerin sinir dokunun yapısal ve işlevsel bileşenlerini anlamasını, bilimsel araştırma yapma becerilerini geliştirmesini ve nörofizyolojik süreçleri derinlemesine analiz etmelerini hedefleyen etkinlikler yer almaktadır. ChatGPT ile kavramsal açıklamalar, Perplexity AI ile literatür taramaları ve Krikey AI/Quizizz gibi araçlarla yapılan simülasyon ve değerlendirmeler; öğrencilere bireysel ve işbirlikçi öğrenme yolları sunar. Etkinlikler, farklı öğrenme stillerine hitap edecek şekilde yapılandırılmış ve portfolyo odaklı öğrenmeye katkı sağlayacak biçimde tasarlanmıştır.

Bu kitap bölümünde sunulan yapay zekâ destekli ders planı, biyoloji eğitiminin hem içeriğini hem de pedagojik yaklaşımını yeniden düşünmeye olanak sağlamıştır. Sunulan örnek, üniversite öğrencilerine yönelik hayvansal dokular konusunun nasıl farklı YZ araçlarıyla zenginleştirilebileceğini, öğrenme süreçlerinin

bireyselleştirilebileceğini ve çok boyutlu öğrenme deneyimlerinin yaratılabileceğini göstermektedir. Ders planları, yalnızca bilgi aktarımına değil, öğrencinin yaratıcı düşünme, araştırma, sorgulama ve dijital araçlarla üretme becerilerini geliştirmeye odaklanmaktadır. Bu uygulamalar; yalnızca öğretim sürecine değil, aynı zamanda öğretim elemanlarının YZ okuryazarlığını geliştirmesine ve öğrencilerin dijital çağın gerekliliklerine uygun yetkinlikler kazanmasına katkı sunmaktadır. Gelecekte benzer yaklaşımların biyolojinin diğer konularına da entegre edilmesiyle, disiplinler arası iş birliklerinin ve yapay zekâ destekli öğrenme topluluklarının yaygınlaşması mümkün olacaktır.

Kaynakça

Ali, A. (2025). AI-Powered e-Learning: Innovations, Challenges, and the Future of Education. *International Journal of Information and Education Technology*, 15(5), 882-890.

Behrens, K. A., Marbach-Ad, G., & Kocher, T. D. (2024). AI in the genetics classroom: a useful tool but not a replacement for creative writing. *Journal of Science Education and Technology*.

Chen, X., Zou, D., Xie, H., & Wang, F. L. (2022). Role of AI in science education: A review of current practices and future prospects. *Educational Technology & Society*, 25(3), 33–45.

Gülaçtı, İ. E. (2023). Yapay zekâ modelleriyle üretilen görsellerdeki yaratıcılık olgusuna çok boyutlu bir yaklaşım. *Journal of Social, Humanities and Administrative Sciences*, 9(60), 2189-2213.

Harrison, K., Bowen, J. P., & Bowen, A. M. (2013). Electronic Visualisation in Chemistry: From Alchemy to Art. *Conference: EVA London, Conference Proceedings*. 1-8.

Jumper, J., Evans, R., Pritzel, A., Green, T., Figurnov, M., Ronneberger, O. & Adler, J. (2021). Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature*, 596(7873), 583-589.

Li, Y., Choi, D., Chung, J., Kushman, N., Schrittwieser, J., & Leblond, R. (2022). Competition-Level Code Generation with AlphaCode. *arXiv preprint*.

Richardson, G. (2023). The exploration of integrating the Midjourney artificial intelligence in research processes. *Systems*, 11(12), 566.

Singh, A., Kumar, P., & Gupta, R. (2020). Promoting inquiry-based learning through AI tools in science education. *Journal of Modern Education*, 12(3), 67-81.

Singh, C., Muztagh, S., & Salami, F. (2024). AI-enhanced education: Exploring the impact of AI literacy on Generation Z's academic performance in Northern India. *Quality Assurance in Education*, 33(2), 185–202.

Uşak, M. (2024). Artificial intelligence in biology education. *Journal of Baltic Science Education*, 23(5), 806–808.

Walter, Y. (2024). Embracing the future of Artificial Intelligence in the classroom: the relevance of AI literacy, prompt engineering, and critical thinking in modern education. *International Journal of Educational Technology in Higher Education*, 21(15).

Xu, M. (2025). Research on the Application of AI in A-Level Biology Teaching. *Proceedings of the 6th International Conference on Educational Innovation and Philosophical Inquiries*, 6-11

Zha, S., Bragdon, M. M., N., G., Wang, J., Leavesley, S., Eaton, R., & Bosarge, E. (2025). A case study of integrating AI literacy education in a biology class. *International Journal of Artificial Intelligence in Education*.

Zhou, Z., Hu, M., Salcedo, M., Gravel, N., Yeung, W., Venkat, A. & Li, S. (2023). XAI meets biology: A comprehensive review of explainable AI in bioinformatics applications. *arXiv preprint*.

BÖLÜM 2

BİTKİ DOKU KÜLTÜRÜ UYGULAMALARINA GÜNCEL BİR BAKIŞ

BURCU ÇETİN¹

Giriş

Bitki doku kültürü teknikleri bitki gelişim süreçleri, fonksiyonel gen çalışmaları, ticari bitki mikroçoğaltım, transgenik bitki üretimi, bitki ıslahı ve mahsul iyileştirme, bitkisel metabolit eldesi, virüssüz bitki üretimi, germ plazm korunması ve tehdit altındaki veya nesli tükenmekte olan bitki türlerinin kurtarılması gibi temel ve uygulamalı amaçlar için kullanılan biyoteknolojik yöntemlerdir (Loyola-Vargas & Ochoa-Alej, 2028: 3).

Bitki doku tekniklerinde tam bir bitki, organ, doku ya da hücreler, aseptik, kontrollü koşullarda, katı veya sıvı besin ortamlarında uygulama amacına göre kültüre alınırlar. Kültüre alınan doku ya da organ parçasına “eksplant” adı verilir ve kültür uygulamaları kullanılan eksplanta göre adlandırılır.

Besin ortamı Uygulamalarda eksplantın besin ihtiyacının karşılanması için esas elementleri içeren besin ortamları kullanılır. Besin ortamı; inorganik maddeler (makro ve mikro inorganik

¹ Doç. Dr. Kütahya Dumlupınar Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Orcid: 0000-0003-1465-1464

elementler), organik maddeler (karbonhidratlar, vitaminler, amino asitler, meyve özleri ve suları, bitki büyüme düzenleyicileri) ve bunların çözücüsü olarak da görev yapan temel bileşen sudan oluşur. Birçok araştırmacı tarafından çeşitli besin ortamı bileşimleri geliştirilmiştir. Bunlardan en çok tercih edileni Murashige-Skoog (MS) besin ortamıdır. Uygulanacak kültür işlemine bağlı olarak besin ortamı bileşimi değiştirilmelidir. Örneğin, sürgün kültürlerinde kullanılan sakkaroz konsantrasyonu, optimum konsantrasyon olan %2-4 arasında iken embriyo kültüründe şeker konsantrasyonu %12'ye ulaşabilir (Ramadhani, 2025: 31).

Kültür işlemine göre besin ortamı sıvı ya da yarı-katı olarak kullanılabilir. Besin ortamının katılık oranı ortama ilave edilen jelleştiriciler ile ayarlanabilir. En yaygın kullanılan jelleştiriciler; agar ve gellan sakızıdır. Agar, deniz yosunlarından elde edilen bir polisakkarittir, oysa gellan sakızı (gelrit ve fitajel gibi) bakteriyel bir polisakkarittir. Besin ortamlarında kullanılan katılaştırıcı çeşit ve konsantrasyonları kültür işleminin başarısında etkilidir. İki Mısır çeşidinde pirinç rejenerasyonunun çeşitli aşamaları üzerinde farklı jelleştirici maddelerin etkisinin araştırıldığı çalışmada gellan sakızının kallus indüksiyonu için agar ürünlerinden daha iyi olduğu, sürgün rejenerasyonu için farklı jelleştirici maddeler arasında önemli bir fark bulunmadığı, gellan sakızı ve bacto agar ile katılaştırılmış ortamın agardan önemli ölçüde daha yüksek kök rejenerasyonuna yol açtığı bildirilmiştir (Mohamed & ark., 2021: 5738).

Besin maddelerinin besin ortamından alınabilmesi için ortam pH'sının 5,4-5,8 arasında olması gerekir. Kültür işlemleri esnasında besin ortamında çeşitli metabolitlerin birikmesi gibi nedenler ile pH'da değişiklikler olabilmektedir bunun önüne geçebilmek için eksplantların yeni ortama transferi olan alt kültürleme işlemleri yapılmalıdır.

Eksplant Kültür işlemleri bir bitkinin herhangi bir bölümünden alınan eksplant adı verilen küçük parçalardan başlatılır. Kültür

işleminde başarıya ulaşabilmek için öncelikler eksplantın alınacağı ana bitkinin seçiminde, bitkinin genç olmasına, dormansi durumunda olmamasına, sağlıklı olmasında dikkat edilmelidir. Dış ortamdan ziyade sera, bitki büyütme odası, laboratuvar gibi alanlarda yetiştirilen bitkileri eksplant kaynağı olarak seçmek çok daha başarılı sonuçlar alınmasını sağlamaktadır (Kocaçalışkan, 2017: 39).

Sterilizasyon Bitki kültürü uygulamalarında sterilizasyon çok önemlidir. Uygulamalarda kullanılan besin ortamları bitki hücrelerinin gelişimleri gibi mikroorganizmaların gelişimleri için de uygundur. Mikroorganizmalar besin ortamında bitkilerden çok daha hızlı çoğalabilir ve bu istenmeyen bir durumdur. Besin ortamında çoğalan mikroorganizmalar, bitki hücrelerinin besinlerine ortak olur, tüketir ve ortama salgıladıkları çeşitli moleküller ile ölümlerine bile neden olabilir, deney koşullarını olumsuz etkileyebilirler. Bu olumsuzlukları engelleyebilmek için, besin ortamında kontaminasyona neden olacak etmenlerin ortadan kaldırılması gerekir. Bunlar, kullanılacak eksplantın, besin ortamının ve uygulamalar esnasında kullanılan ekipmanların sterilizasyonu ile mümkündür. Eksplantların sterilizasyonu için sodyum hipoklorit, hidrojen peroksit, gümüş nitrat, civa klorür gibi kimyasallar kullanılır. Sterilize edici madde konsantrasyonlarının ve uygulama sürelerinin optimizasyonu, kontaminasyonu azaltmak için önemli bir adımdır. Uygun olmayan konsantrasyon ve uygulama süresi, eksplantlarda hücre bölünmesini ve büyümesini kısıtlayacağından *in vitro* kültür başarı oranı etkilenir.

Son yıllarda literatürlerde nanopartiküllerin bitki doku kültüründe kullanılan eksplant ve besin ortamlarının sterilizasyonu amaçlı kullanımları ile ilgili araştırmaların sayısı hızla artmaktadır (Parzymies, 2021: 3653; Tung & ark., 2021: 897). Muz doku kültürü uygulamalarında eksplant sterilizasyonu için etanol, NaOCl, H₂O₂ ve HgCl₂ kullanılarak tasarlanan deneyde 1 dakika %70 etanol, 10 dakika %20 NaOCl ve 2 dakika %0,2 HgCl₂ ile yapılan sterilizasyon

işleminin, en az kontaminasyonla, yani %20 ile en etkili sonuç olduğunu bildirilmiştir. Aynı bir deneyde, endofitik kontaminasyonu kontrol etmek için farklı konsantrasyonlarda; 60 mg L⁻¹, 90 mg L⁻¹, 120 mg L⁻¹ çinko oksit (ZnO) ve gümüş (Ag) nanopartiküllerinin besin ortamına eklenmesi uygulamaları sonucunda gümüş nanopartiküllerin ortamın bir parçası olarak kullanmak kontaminasyonun %100'e kadar kontrol edilmesini sağlamıştır. Ortamın ek bir bileşeni olarak sterilizasyon ajanları olarak ZnO ve Ag nanopartiküllerinin ikili muamelesi, kontaminasyonu başarıyla ortadan kaldırmış, ancak kültürlerde doku ölümüne neden olduğu bildirilmiştir (Nazir & ark., 2024: 30297).

Kültürü işlemleri sırasında kullanılan ekipmanlar otoklav, kuru hava sterilizasyonu, UV lambalar, boncuk sterilizatör, bunsen brülörler ile steril edilebilir. Besin ortamı sterilizasyonunda otoklavın yanı sıra günümüzde hazır ortam makineleri gibi özel makineler kullanılmaya başlanmıştır. Bu makineler otoklav işleminden daha kolay ve hızlı olarak besin ortamı hazırlığı ve sterilizasyonunun yapılmasını sağlamaktadır.

Besin ortamına ilave edilen bitki özleri, hormonlar vb. gibi belirli medya bileşenleri, ısıtma yoluyla sterilizasyon sürecinde uygulanan yüksek sıcaklık nedeniyle bozulabilir. Bu nedenle, bu bileşenlerin filtre membranları kullanılarak steril edilmesi gerekir.

Kültür işlemlerinin yapıldığı steril kabinler, her uygulama öncesinde ve sonrasında %70 etanol ile silindikten sonra, UV ışık uygulaması ile steril edilmelidir. Uygulamalarda kullanılan steril kabinlerde bulunan Hepa filtreler çalışma esnasında kabin içinde steril havayı döndürerek çalışma alanının steril olmasını sağlar.

Işık koşulları Bitki kültürü uygulamalarında kullanılan aydınlatma sistemleri floresan tüpler (Fls), yüksek basınçlı sodyum (HPS), metal halide (MH) ve akkor lambalar (IL) olmuştur. Son yıllarda, ışık yayan diyotlar (LED'ler), bitki doku kültürü uygulamaları için

potansiyel ışık kaynakları olarak giderek artan bir ilgi görmektedir. Araştırmacılar, LED lambaların daha uzun bir çalışma ömrüne (>50.000 saat), ihmal edilebilir ısı emisyonlarına, daha sağlam ve kullanımı kolay plastik bir gövdeye, üretimleri için sera gazı (CO₂) emisyonuna sahip olmayan ve civa kirliliği oluşturmeyen avantajlara sahip olmalarından dolayı *in vitro* bitki uygulamalarında kullanılmalarını tavsiye etmektedirler (El-Banna & ark., 2025: 101; Sena & ark., 2024: 100184). Ayrıca, *in vitro* kültür sistemlerinde ışınım şiddetinin kontrol edilmesine ve belirli spektral desenlerin yayımlanmasına olanak tanıdığı için fotobiyolojik çalışmalar için LED lambaların kullanımının yararlı bir araç olduğu bildirilmektedir (Dutta Gupta & Jatothu, 2013: 211). *Salvia viridis*'in, farklı ışık spektrumlarının (mavi, kırmızı, karışık yani R:B 7:3 ve beyaz LED'ler ve floresan lambalar dahil) ve farklı sıvı ortam sistemlerinin (sıvı çalkalanmış ortam, desteksiz sıvı sabit ortam ve destek olarak nanoselüloz veya poliüretan içeren) kültür büyümesi ve polifenol üretimi üzerindeki etkisinin araştırıldığı çalışmada, %80 metanol ekstraktındaki fenolik bileşikler ultra yüksek performanslı sıvı kromatografisi yöntemi ile belirlenmiş ve LED uygulamaları arasında mavi ışığın sürgün rejenerasyonu (4.56 çoğalma faktörü), sürgün biyokütlesi (taze ağırlıkta 17 kat artış, kuru ağırlıkta 15 kat artış) ve polifenol seviyesi (15.24 mg/g kuru ağırlık) üzerinde en yüksek etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (Grzegorzcyk-Karolak, Tabaka, & Weremczuk, 2024:1).

Sıcaklık koşulları *In vitro* bitkilerin büyümesinde ve gelişiminde önemli bir rol oynayan sıcaklığın, kültür işlemleri esnasında bitkinin doğada yaşamını en iyi şekilde sürdürdüğü seviyelerde olmasına dikkat edilmesi gerekir. Yüksek ve düşük sıcaklık bitkilerin metabolik aktivitelerinde aksaklıklara neden olacaktır. Ayrıca, kültür işlemlerinin yapıldığı bitki büyütme kabini ya da odasındaki ısı dağılımının homojenliğine ve sabitliğine dikkat edilmelidir.

Kültür Yöntemleri

In vitro çalışmalar için kültür yöntemi hedeflenen amaca göre planlanmalıdır. alışmalara bu amaca uygun eksplant seçimi ile başlanır. Kullanılan eksplant tipine göre kültür işlemleri adlandırılmaktadır. Bunlar; meristem kültürü, embriyo kültürü, haploid kültürler, kallus kültürü, hücre kültürü, protoplast kültürleridir.

Meristem kültürü

Devamlı bölünebilme yeteneğine sahip olan meristem bölgelerin kültüre alınması işlemidir. Meristemler, apikal ve lateral tomurcularda ve hatta köklerde bulunan bitkilerin büyüme merkezleridir. Bu bölgelerdeki hücreler farklılaşmamıştır ve olgunlařtıķa farklılaşarak çeşitli dokulara, organlara dönüşebilirler. Bitkinin sürgün ve köklerinin u kısımlarında, bitkinin boyuna uzamasını sağlayan dalların çıktığı kısımlarda, enine kalınlaşmasını sağlayan gövde ve kökün yan taraflarında bulunurlar. Meristem kültürü uygulamalarında en çok u kısımlar yani apikal meristemler (5-10 mm) kullanılır. Meristem kültürü uygulamaları, meristem hücrelerinin bölünme hızının virüslerin hücreden hücreye bulaşma oranından daha yüksek olması nedeni ile virüssüz bitkilerin üretiminde, hızlı bitki çoğaltımında ve tohumla üretilemeyen melez bitkilerin çoğaltımında ve bitki türlerinin germ plazmasının uzun süreli depolanması alanlarında yapılmaktadır. *Prunus* cinsini, Erik ieği virüsü (*PPV*), ve şerbetçiotu bodur viroidi (*HSVd*) hastalık etmelerinden kurtarmak için termoterapi, etiyolasyon veya her ikisinin bir kombinasyonunun uygulandığı meristem kültürü çalışmasında, sürgünler 30, 35, 40 ve 45 gün boyunca her dört saatte bir dönüşümlü olarak 38°C ve 32°C'ye maruz bırakılmıştır. Her bir uygulamanın sonunda, 1,5 mm meristemler kültüre alınarak yeni hatlar geliştirilmiştir 45 günlük termoterapi ve kombine termoterapi ve etiyolasyon uygulamaları sonucunda en yüksek *PPV* içermeyen bitki üretimi başarılmıştır (%66,7 ve %75,0). *HSVd*'den ari bitkiler,

en iyi verimi 45 gün (%22,7) yapılan termoterapi uygulamaları sonucunda göstermiştir (Pérez-Caselles & ark., 2025: 21).

Embriyo kültürü

Döllenmiş ovül, bir dizi iyi tanımlanmış gelişim aşaması boyunca bir embriyo oluşturur. Bu embriyonun besin ortamına aktarımına embriyo kültürü denir. Embriyo kültürü ile morfogenez, tohum dormansi problemini aşma, türler arası melezleme sonucunda embriyo gelişiminin desteklenmesi ve endospermi veya besin dokusu bulunmayan veya çimlenme için yeterli olmayan tohumların üretimi alanlarında çalışmalar yapılmaktadır (Kocaçalışkan, 2017:45). Embriyo kültürü uygulamalarında temel besin ortamına ilave olarak aminoasit ve vitamin eklemeleri yapılmalıdır. Embriyo kurtarma tekniğinin, çekirdeksiz üzümün yeni çeşitlerinin geliştirilmesinde uygulandığı çalışmada, 22 melez kombinasyonun çeşitli ebeveyn genotiplerinin ve bitki hormonlarının hem embriyo gelişimi hem de çimlenme üzerindeki etkileri araştırılmıştır. $MM_3 + 0,2 \text{ mg L}^{-1}$ IAA (İndol - 3 - Asetik Asit) embriyo gelişim ortamına $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ ZT (Zeatin) eklendiğinde, 'Ruby Seedless $\times$ Zitian Seedless' embriyolarının gelişim oranı %64,73 gibi büyük bir oranda arttığı belirlenmiştir (Chen & ark., 2025: 2095).

Kallus Kültürü

Doğada kallus oluşumlarını, bitkilerin yaralanan yerlerinde yüzeyi kapatan hücre yığınları olarak görebiliriz. Bu bölgelerdeki farklılaşmamış hücre yığınlarına kallus adı verilir. Bitki kültürü uygulamalarında çeşitli eksplantların, bitki büyüme düzenleyicileri içeren besin ortamlarında kültüre alınmaları ile kalluslar elde edilir. Diğer yandan poliaminlerin de kallus gelişimde rol oynadığı bildirilmektedir. Kallus kültürü için hedeflenen amaca göre eksplant olarak meristem veya parankim dokularının bulunduğu kök, gövde, yaprak, meyva gibi organlar seçilebilir. Örneğin bir metabolitin üretiminin amaçlandığı bir çalışmada, metabolitin bitkide en çok

sentezlendiği kısmın kültür işleminde eksplant olarak kullanılması uygun olacaktır. Kallus kültürü ile bitki üretiminin yapılmasının planlandığı çalışmalarda, kallus oluşumlarından sonra uygulanacak bitki büyüme düzenleyici oranına dikkat edilmesi gerekir. Kallus oluşumlarının artırılması isteniyorsa besin ortamında oksin sitokinin oranının eşit, kalluslardan sürgün elde edilmesi isteniyorsa sitokinin oranının oksin oranından yüksek, kök oluşumu isteniyorsa oksin oranının sitokinin oranından yüksek olması gerekir (Kurepa & Smalle, 2022: 1933). Kallus kültürü uygulamaları ile hücre kültürü kurulabilir, ıslah çalışmaları, sekonder metabolit üretimleri yapılabilir. Ekonomik açıdan önemli bir baklagil bitkisi olan nohutun ıslahı için kallus aracılı *in vitro* rejenerasyon protokolü geliştirilmiştir. Eksplantların *in vitro* taranması yoluyla, somatik embriyogenez ve *in vitro* bitki rejenerasyonunda daha yüksek verimliliğe sahip, uygun bir genotip olarak Hint çeşidi Pusa 240 belirlenmiştir. Pusa 240 genotipinden elde edilen yaprak ve hipokotil eksplantları kullanarak nohut kallus aracılı somatik embriyogenez için iki ayrı protokol başarıyla oluşturulmuştur. Bu protokoller ile yaprak eksplantları kullanılarak %27 ve hipokotil eksplantları kullanılarak %46,6 - %66 bitki rejenerasyonu verimliliği elde edilmiştir. Bu detaylı rejenerasyon yönteminin, nohut genetik dönüşümleri ve kallus oluşumu yoluyla embriyogenezin gerekli olduğu büyük mutant popülasyonların üretimi için değerli bir kaynak sağlayacağı belirlenmiştir (Sae-Foo & ark., 2025: 385). Doku kültürü tekniğinin, adaçayı bitkisini çoğaltımı için en iyi yöntemlerden biri olduğu bildirilen çalışmada, farklı oksin, sitokinin ve melatonin kombinasyonlarını kullanarak *S. moorcroftiana*'nın *in vitro* kallus proliferasyonunun ve sekonder metabolitlerinin üretim miktarlarının artırılması amaçlanmıştır. Başlangıçta, kallus indüksiyonu, 1 mg L⁻¹ 6-benzilaminopurin (BAP) ile kombinasyon halinde farklı konsantrasyonlarda uygulanan indol asetik asit (IAA), 2,4-diklorofenoksi asetik asit (2,4-D) ve naftalin asetik asit (NAA) kullanılarak optimize edilmiştir. Sonuçlar, kallus indüksiyonuna

kadar geçen en erken günlerin (14.67 gün) 2,4-D + BAP (2.0 + 1.0 mg L⁻¹) ile zenginleştirilmiş ortamda meydana geldiğini göstermiştir. En yüksek kallus başlangıcı (%100), 2,4-D + BAP (1 + 1 mg L⁻¹) ile birleştirilmiş MS ortamında indüklenmiştir. Ayrıca, maksimum taze ağırlık, 2,4- D + BAP'nin (1+ 1 mg L⁻¹) oranında eklenmesiyle, kuru ağırlık ise 2,4- D + BAP'nin (2+1 mg L⁻¹) oranında MS ortamına eklenmesiyle elde edilmiştir. Maksimum taze ve kuru ağırlık, 2,4-D + BAP (1+1 mg L⁻¹) içeren MS ortamına 1,5 mg L⁻¹ oranında melatonin eklendiğinde elde edilmiş, ayrıca maksimum DPPH temizleme aktivitesi, toplam fenolik ve flavonoid içeriği 1,5 mg L⁻¹ oranında melatonin eklendiği uygulamalarda kaydedilmiştir. Sonuç olarak, çeşitli bitki büyüme düzenleyicileri konsantrasyonları arasında, 2,4- D + BAP'nin (1+ 1 mg L⁻¹) oranında 1,5 g L⁻¹ melatonin ile birlikte uygulanmasının *S. moorcroftiana*'nın kallus gelişimi ve sekonder metabolit üretimi için en iyi olduğu belirlenmiştir (Bano & ark., 2022: 1).

Hücre Kültürü

Bitki hücrelerinin sıvı besin ortamlarında kültüre alınması işlemleri hücre kültürü olarak adlandırılır. Hücre kültürü işlemlerinde başlangıç eksplantı kalluslardır. Hücrelerin tek tek elde edilmesi için, sıvı besin ortamına ilave edilecek pektinaz gibi enzimler kallusların parçalanarak kültür uygulamalarının kurulumunu kolaylaştırabilir. Hücrelerin hava alması için orbital çalkalayıcı üzerinde mililitre boyutunda erlenlerde kurulan hücre kültür işlemleri, besin ortamındaki besleyici moleküllerin, pH'nın, havalandırmanın kontrol edildiği biyoreaktörlerde yüzlerce litrelik hacimlere kadar büyütülebilir. Hücre kültürü uygulamaları, hücre büyümesini ve gelişimini incelemek, mikroçoğaltım, sekonder metabolit üretimi, gen aktarımı ve varyasyon ıslahı çalışmaları için yapılmaktadır (Wang & ark., 2025: 2034; Selwal & ark., 2025: 100485).

Picrorhiza kurroa hücre süspansiyon kültürlerinde pikrozidlerin (PI, P-II, P-III) ve öncüllerinin (vanilik asit, kafeik asit, sinamik asit, katalpol ve aucubin) bitki metabolitlerinin artırılması üzerindeki etkisinin araştırıldığı çalışmada, dört uyarıcı; metil jasmonat (Me-JA; 50–150 μ M), salisilik asit (SA; 50–150 mg L⁻¹), kitosan (CHT; 50–150 mg L⁻¹) ve maya özütü (YE; 50–150 mg L⁻¹), kültürün 21. gününde yaprak ve rizom hücre süspansiyonlarına uygulanmış ve 192 saate kadar inkübe edilmiştir. Çalışma, Me-JA'nın özellikle *P. kurroa* hücre kültürlerinde pikrozid birikimini artırmada etkili olduğunu göstermiştir. Sonuç olarak, uyarıcıların özellikle *P. kurroa* 'nın bitki hücre kültüründe değerli ikincil metabolitlerin üretimini önemli ölçüde artırdığı bildirilmiştir (Partap & ark., 2025: 247). Bitki hücre süspansiyon kültürlerine dayalı rekombinant ilaçların kültür verimliliğini artırmaya yönelik bir strateji, hücre agregasyonunu azaltmayı içerir. Bu amaçla yapılan bir çalışmada hücre kültüründe hücre-hücre yapışmasını en aza indirmek için, *Arabidopsis thaliana* genomunda pektin biyosentezinin anahtar geni olan *GAUT1* genini devre dışı bırakmak için Cas9 endonükleaz kullanılmıştır. Elde edilen devre dışı bırakmalar, değişmiş fenotipler sergilemiş ve yaşayabilir bitkiler oluşturamamıştır. *GAUT1* geninde homozigot bir delesyon taşıyan fidelerden oluşturulan süspansiyon hücre kültürü, kontrole kıyasla daha koyu renklenme ve artan sayıda büyük agregat sergilemiştir. Biyokütle birikim oranı kontrolden farklı bulunmamıştır, ancak rekombinant GFP protein birikimi seviyesi önemli ölçüde azalmıştır. Bu nedenle, pektin sentezindeki kesintilerin ve süspansiyon hücre kültüründe daha büyük agregatların oluşumunun hedef rekombinant proteinin birikimini olumsuz etkilediği belirlenmiştir. Araştırmacılar genom düzenleme yoluyla bitki hücre kültürlerinde hücre agregasyon seviyelerini azaltmak için alternatif hedefler aranması gerektiğini bildirmişlerdir (Frankevich & ark., 2025: 1).

Protoplast Kùltürü

Bitki hücreleri hücre duvarları olmadan da canlılıklarını sürdürebilir. Protoplast kùltürü, hücre duvarı olmayan hücre kùltüründen bütün bitkilerin geliştirildiğı süreci ifade eder. Bir bitkinin hücre duvarının çeşitli fiziksel ve kimyasal işlemler ile uzaklaştırılması sonucu hücre bütünlüğü devam eden protoplast adı verilen yapısı oluşur. Bitki hücresi morfolojik olarak artık köşeli bir hücre şekli değil, tamamen yuvarlak bir yapı kazanır. Hücre duvarı içermeyen protoplastlar somatik hibridizasyon, gen aktarımı, morfogenez alanlarındaki çalışmalarda kullanılır. Protoplast izolasyonu için *Physalis angulata*, Solanaceae familyasından olan tıbbi bitki ile yapılan çalışmada, selüloz ve maserozimi birleştirilerek protoplast izolasyonu için beş tedavi yöntemi protoplast donörleri olarak yaprak, gövde ve kallus dokularında test edilmiştir. Osmoticum (0,6 M mannitol) ve bir membran stabilizatörü (10 mM CaCl₂) ile takviye, önemli ölçüde farklı sayıda canlı protoplast sağlamıştır. Çalışma sonucunda, tüm izolasyon koşulları kallus dokularından protoplastların serbest olarak elde edilmesinde başarısız olmuştur. Test edilen osmoticum konsantrasyonu yalnızca kallus hücrelerinin plazmolizini kolaylaştırmıştır. Dağıtılmış plastidler içeren küresel protoplastlar, 5 saatlik inkübasyondan sonra hala tek tek hücrelerin içinde kalmıştır. Yaprak protoplastları en heyecan verici sonuçları göstermiştir. En yüksek sayıda canlı protoplast ($1,54 \times 10^5$ protoplast/mL) 2 saatlik inkübasyondan sonra mezofil dokularından elde edilmiştir. Yüksek yoğunluklu yeşil kloroplast içeriğı, yaprak protoplastlarının çarpıcı bir özelliğı olarak belirlenmiştir. *P. angulata*' dan yaprak protoplastları elde etmek için bu uygulanabilir yöntemin, füzyon deneyleri için mükemmel bir olasılık olduğu bildirilmiştir (Mastuti & Rosyidah, 2018). Turunçgillerden Shiranuhi'den somatik embriyogenez yapabilen kalluslar ile 'Meiwa' yaprak dokularından elde edilen protoplastlar arasında somatik hücre füzyonu gerçekleştirilerek bütün olarak tüketilebilen yüksek kaliteli turunçgil

meyveleri üretilmiştir. Filogenetik analiz, tüm bitkilerin 'Shiranuhi' ve 'Meiwa' kromozomal kalıtımıyla ilgili dahili transkripsiyonlu ara bölgeye sahip olduğunu ortaya koymuştur. Genel olarak, hücre tiplerine dayalı bir rejenerasyon sistemi, tam meyve tüketimine uygun çekirdeksiz turunçgiller üretmek için genetik kaynaklar olarak türler arası ve türler arası bitkiler arasından homotetraploid ve heterotetraploid kaynaşmış bitkileri seçmek için kullanılmıştır (Jin & ark., 2025: 1).

Sonuç

Bitkiler yaşamın kaynağıdır ve bitkilerin potansiyellerinden en iyi şekilde yararlanabilmek için araştırmacılar, bitki biyoteknolojisi yöntemlerinden olan bitki doku, organ ve hücre kültürü yöntemleri ile çalışmalara hızla devam etmektedirler.

Kaynakça

Bano, A. S., Khattak, A. M., Basit, A., Alam, M., Shah, S. T., Ahmad, N., ... & Mohamed, H. I. (2022). Callus induction, proliferation, enhanced secondary metabolites production and antioxidants activity of *Salvia moorcroftiana* L. as influenced by combinations of auxin, cytokinin and melatonin. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 65, e22210200.

Chen, X., Ayesha, K., Wen, X., Zhang, Y., Dou, M., Jia, K., ... & Xu, Y. (2025). An integrate methods to improve the high efficiency of embryo rescue breeding in seedless grapes. *Journal of Integrative Agriculture*. 2095-3119.

Dutta Gupta, S., & Jatothu, B. (2013). Fundamentals and applications of light-emitting diodes (LEDs) in *in vitro* plant growth and morphogenesis. *Plant Biotechnology Reports*, 7, 211-220.

El-Banna, H., Abd El-Baset, M. M., & Youssef, N. A. (2025). Influence of light type on the propagation and accumulation of secondary metabolites of *Ocimum basilicum* l. Var. Genovese under the tissue culture technique. *Journal of Plant Production*, 16(3), 101-110.

Frankevich, T. A., Permyakova, N. V., Sidorchuk, Y. V., & Deineko, E. V. (2025). Impact of GAUT1 gene knockout on cell aggregation in *Arabidopsis thaliana* suspension culture. *BioTech*, 14(1), 2.

Grzegorzczuk-Karolak, I., Tabaka, P., & Weremczuk-Jeżyna, I. (2024). Enhancing polyphenol yield in *Salvia viridis* L. shoot culture through liquid medium optimization and light spectrum manipulation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 156(3), 88.

Hashim, S. N., Ghazali, S. Z., Sidik, N. J., Chia-Chay, T., & Saleh, A. (2021). Surface sterilization method for reducing contamination

of *Clinacanthus nutans* nodal explants intended for *in-vitro* culture. In E3S Web of Conferences (Vol. 306, p. 01004). *EDP Sciences*.

Jin, S. B., Lee, D. H., Man Park, S., Park, J. S., & Moon, Y. E. (2025) Intergeneric plants for producing high-quality fruits created from two citrus hybrids by protoplast fusion. *Available at SSRN* 5074939.

Kocaalışkan (2017). *Doku ve Hücre Kültürü Teknikleri*, Nobel Yayınları, Ankara.

Kurepa, J., & Smalle, J. A. (2022). Auxin/cytokinin antagonistic control of the shoot/root growth ratio and its relevance for adaptation to drought and nutrient deficiency stresses. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(4), 1933.

Loyola-Vargas, V. M., & Ochoa-Alejo, N. (2018). An introduction to plant tissue culture: advances and perspectives. *Plant Cell Culture Protocols*, 3-13.

Mastuti, R., & Rosyidah, M. (2018). *In vitro* enzymatic isolation of protoplasts from tissues of the medicinal plant *Physalis angulata* L. In *AIP Conference Proceedings* (Vol. 2019, No. 1). AIP Publishing.

Mohamed, G. M., Amer, A. M., Osman, N. H., Sedikc, M. Z., & Hussein, M. H. (2021). Effects of different gelling agents on the different stages of rice regeneration in two rice cultivars. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(10), 5738-5744.

Nazir, K., Hassan, S. W., Khan, M. I., Elamin, K. M. A., & Niyazi, H. A. (2024). The use of ZnO NPs and Ag NPs along with sterilizing agents for managing contamination in banana tissue culture. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 14(23), 30297-30304.

Partap, M., Kumar, A., Kumar, P., Kumar, D., & Warghat, A. R. (2025). Elicitors mediated enhancement of picrosides and their pathway precursors in dedifferentiated cell suspension culture of *Picrorhiza kurroa* Royle ex Benth. *Journal of Plant Growth Regulation*, 44(1), 247-265.

Parzymies, M. (2021). Nano-silver particles reduce contaminations in tissue culture but decrease regeneration rate and slows down growth and development of *Aldrovanda vesiculosa* explants. *Applied Sciences*, 11(8), 3653.

Pérez-Caselles, C., Burgos, L., Yelo, E., Faize, L., & Alburquerque, N. (2025). Production of HSVd-and PPV-free apricot cultivars by *in vitro* thermotherapy followed by meristem culture. *Plant Methods*, 21(1), 23.

Ramadhani, W. (2025). Media creation in tissue culture. *Journal of Innovation and Scientific Collaboration*, 1(1), 31-36.

Sae-Foo, W., Yusakul, G., Nuengchamnong, N., Srimongkon, P., & Putalun, W. (2025). Evaluation of secondary metabolites and anti-inflammatory activity of *Derris scandens* callus culture. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 61(2), 385-401.

Selwal, N., Supriadi, K., Rahayu, F., Sukmadjaja, D., Khamidah, A., Budiaarto, K., ... & Wani, A. K. (2025). Elicitation strategies for enhanced secondary metabolite synthesis in plant cell cultures and its role in plant defense mechanism. *Plant Gene*, 41, 100485.

Sena, S., Kumari, S., Kumar, V., & Husen, A. (2024). Light emitting diode (LED) lights for the improvement of plant performance and production: A comprehensive review. *Current Research in Biotechnology*, 7, 100184.

Tung, H. T., Bao, H. G., Cuong, D. M., Ngan, H. T. M., Hien, V. T., Luan, V. Q., ... & Nhut, D. T. (2021). Silver nanoparticles as the sterilant in large-scale micropropagation of chrysanthemum. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 1-10.

Wang, P., Si, H., Li, C., Xu, Z., Guo, H., Jin, S., & Cheng, H. (2025). Plant genetic transformation: achievements, current status and future prospects. *Plant Biotechnology Journal*, 23(6), 2034-2058.

BÖLÜM 3

ENDÜSTRİYEL BİTKİ ÜRETİMİ: VERTİKAL TARIM

BERNA BAŞ¹

Giriş

Vertikal veya Dikey Tarım (DT) çok katlı seraya benzer şekilde tesis edilen bir binada rafların veya katların belli aralıklarla üst üste yatay olarak yerleştirilmesiyle üzerinde bitkilerin yetiştirildiği ticari olarak endüstriyel bitki üretimidir.

Dikey tarım terimi ilk olarak 1915 yılında Amerikalı bir jeolog olan Gilbert Ellis Bailey tarafından yazılmış olan “Vertical Farming” başlıklı kitapla ortaya atılmış ve o yıllarda bir çeşit çatı tarımı olarak algılanmıştı (Bailey, 1915). Ancak MÖ 6000 yıllarında antik çağın yedi harikasından biri olarak kabul edilen Babil ’in asma bahçeleri ilk DT örneği olarak gösterilmektedir (Al-Kodmany, 2018: 24). DT yeni bir konsept olmamakla beraber ticari çalışmaları yeni başlamıştır. Çeşitli kaynaklarda DT için binanın modeli, büyüklüğü, yeri, düzeni, kullanım amacı gibi özelliklere bağlı olarak farklı tanımlamalar yapılmaktadır. Paydaşları için, gıda güvencesinin geleceğini garanti altına almak amacıyla gerekli bir sistem olan DT

¹ Doktor Öğretim Üyesi, Gaziantep Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Orcid: 0000-0003-2455-2849

marjinal bir bitkisel ürün yetiştiricilik faaliyeti olarak kabul edilebilir (Şekil 1). Çok katlı iç mekan bitki üretim sistemleri ısı, ışık, nem, CO₂ konsantrasyonu, su, besin maddeleri gibi bitki gelişimini etkileyen tüm faktörlere sahip olup yüksek teknolojik donanım ile kontrol altında tutulmaktadır (SharathKumar, Heuvelink & Marcelis, 2020: 724).

Şekil 1. Dikey çiftlik örnekleri



Kaynak: a)konteynerde DT; ARTECHNO Growsystems, <https://artechno-growsystems.com/news/the-scoop-on-vertical-farming-systems> b) ve c)kapalı mekanda DT; esular 2022, <https://esular.com/dikey-tarim-sistemleri>, d)sera tipi DT; <https://www.archdaily.com/28903/plantagons-vertical-farm/plantagon-ed001>

Böylece DT ile dış koşullardan tamamen bağımsız yıl boyu çok miktarda ve yüksek kalitede taze bitki üretim olanağı sunulmaktadır. Bazı firmalar DT binalarını tamamen cam ile çevreleyerek güneş enerjisinden en üst düzeyde faydalanmaktadır

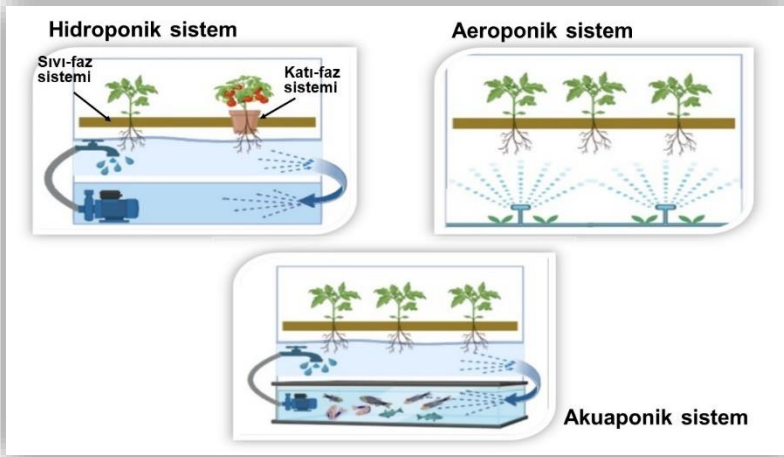
(Plantagon's Vertical Farm, 2009; Eden Green Technology, 2025). Topraksız ortamda ve kapalı mekanlarda gerçekleştirilen DT faaliyetleri şehir içinde insan hayatının sürdüğü yerleşim alanlarındaki binalarda, bina-işyeri-market-restoran benzeri yapıların çatı veya bodrum katları, kullanılmayan depo gibi yapılar prosedüre uygun tasarlanarak yürütülebilmektedir. Veya tarıma uygunsuz bir arazide, şehir içinde ya da şehre yakın alanlarda çok katlı veya çoklu raflarla organize edilen vizyoner DT tesisleri özel olarak inşa edilebilmektedir. Avrupa 'da iç mekan veya dikey çiftlikler bitki fabrikaları olarak atfedilmekte olup binanın modeli kullanım amacına göre 4 grupta toplanmaktadır (Butturini & Marcelis, 2020: 77). Bunlar 1) yapay ışıkla donanımlı bitki fabrikaları; DT için özel olarak tahsis edilen binada endüstriyel skalaya sahip çiftliklerdir, 2) konteyner çiftlikleri; nakliye konteynerlerine tesis edilen modüler yapıları dikey çiftliklerdir (container farm), 3) depo çiftlikleri; restoran gibi yerlere tesis edilen depo-içi çiftlikler (in-store farm), 4) ev veya ofise entegre edilen DT çiftlikleridir (appliance farm). Özellikle şehir içi tesislerde DT ürünlerinin tüketiciye hızla ve taze olarak ulaştırılması nedeniyle uzak mesafe-nakliye maliyeti, bayatlama ve kontaminasyon riski azalacak ve uzun süreli soğuk depolarda muhafaza gereği kalmayacaktır. Dolayısıyla enerji-yakıt giderleri ve CO₂ emisyonu da nispeten azalacaktır. Tarıma elverişli arazisi sınırlı olan Japonya dahil Kore, Çin, Hindistan, Singapur, Birleşik Arap Emirlikleri, İsveç, Fransa, Amerika Birleşik Devletleri, Almanya gibi birçok ülkelerde DT 'a büyük ilgi duyulmakta ve özellikle sürdürülebilir bir tarım modeli olarak kendi ülkelerine adaptasyon olasılıklarını görüşmek amacıyla çeşitli toplantılarla bir araya gelmektedirler (Despommier, 2014). İnterdisipliner çalışma gerektiren DT faaliyetleri için başta ziraat mühendisleri, kırsal çiftçiler, şehirli çiftçiler, çevre bilimcileri, doğa bilimcileri, mimarlar ve mühendisler, bilgisayar ve elektrik-elektronik mühendisleri, ekonomistler, gıda ve sağlık bilimcileri gibi çok çeşitli sektörlerden

paydaşların işbirliğine ve araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır (Al-Kodmany, 2018: 24).

Topraksız tarım çeşidi olan DT, temel olarak üç çeşit uygulama sistemine sahiptir. Bunlar hidroponik, aeroponik ve akuaponik sistemler olup (He, 2015: 25), hidroponik sistemde sıvı faz ve katı faz sistem olmak üzere iki tipte uygulama yapılmaktadır (Şekil 2). Şekil 2 'de görüldüğü gibi hidroponik sistemde fideler delikli bir plaka üzerindeki deliklerden aşağı doğru sarkacak şekilde dikilir ve besin solüsyonu (yani gübre, besin maddeleri vb. içeren solüsyon) bulunan bir tabla üzerine yerleştirilir. Bu şekilde uygulanan sıvı-faz sistemde kökler sıvıyla doğrudan temas etmektedir. Katı-faz sistemde (substrat-based) ise bitkiler saksıda katı/solid inert organik veya inorganik veya her ikisinin karışımı kompost materyal içeren küçük saksılara dikilerek tablaya yerleştirilmektedir. Böylece solid materyal besinlerin tutulması ve köklerin havalandırılması için uygun bir alan oluşturduğundan dolayı besin absorpsiyonu ve oksijen tedariki artırılmaktadır. Aeroponik sistemde kökler doğrudan besin sıvısına daldırılmamakta bunun yerine tabladan aşağı doğru boşluğa bırakılan kökler havada asılı pozisyonda kalacak şekilde yerleştirilmekte ve havuz/küvet/tekne vb. bir tank tabanından köklere doğru besin solüsyonu spreyle püskürtülmektedir. Akuaponik sistem ise, havuzda balık yetiştiriciliğinin hidroponik düzenele kombine edilmesiyle geliştirilmiştir. Doğal olmayan kapalı bir mekanda gerçekleştirilen DT 'da, bitkinin gelişimi için ihtiyaç duyduğu ışık, besin-gübre gibi faktörlerin hepsi yapay olarak temin edilmektedir. Kullanılan besin-gübre solüsyonu genel olarak sentetik inorganik kimyasallarla hazırlanmaktadır (Rogers, 2017: 166; Phibunwatthanawong & Riddech, 2019: 369; Richa & ark., 2020: 945). Oysa ki, açık arazi yetiştiriciliğinde bitkiler mikro-besin elementlerini genellikle topraktan doğal olarak temin etmektedirler. Her ne kadar DT 'da uygulanan gübre ve kimyasal besin maddeleri

miktar olarak açık arazi tarımına nazaran daha az miktarda da olsa uzun süreli dikey bitkilerin tüketiminin insan sağlığı için oluşturacağı riskler henüz ele alınmamış bir konudur. Bu derlemede minimal kaynak kullanımıyla maksimum verimlilik ve kaliteli üretimi hedefleyen DT uygulamalarının avantajları, dezavantajları ve uygulanabilirlik ihtimalleri en güncel çalışmalarla değerlendirilmiştir.

Şekil 2. Dikey tarım sistemlerinin yapısı



Kaynak: Resim yazar tarafından BioRender.com programı kullanılarak oluşturulmuştur

Hidroponik Sistem

Hidroponik sistemde bitkiler topraksız bir ortamda direk olarak besin solüsyonunda kültüre alınmakta veya bitki köklerinin havalandırılması için sirkülasyon ortamına perlit, havalandırma taşı, bitki atıkları gibi katı maddeler eklenerek kültüre alınmaktadır (Hedenblad & Olsson, 2017; Nursyahid & ark., 2021). Özellikle

perlit gibi su tutma kapasitesi yüksek olan solid materyaller sayesinde köklerin su-besin solüsyonunu yavaşça absorbe etmesi sağlanmaktadır. Hidroponik sistem açık arazi çiftçiliğine göre çok az su gerektiren ancak aeroponik sisteme nazaran daha fazla su tüketen sistem olmakla beraber mekanizması diğer sistemlerden daha basit ve kolay kullanılabilir.

Kapalı mekanda endüstriyel bitki yetiştiriciliğinde çevresel değişkenler sıkı kontrol altında tutulsa da kullanılan su, gübre, tohum/fide, pestler, çalışan personeller gibi çeşitli kaynaklardan arzu edilmeyen mikroorganizmaların sisteme dahil olma ihtimali her zaman vardır. Bu nedenle hidroponik sulama sistemlerinde mikrobiyel kontaminasyon en önemli sorunlardan biridir. Kullanılan besin solüsyonunun uygulandığı tabla veya yüzeyler mikrobiyel biyofilm oluşumuna elverişli ortam yaratabilmektedir (Ge & ark., 2014: 752). Bu sistemde kullanılan su içine gübre olarak besin maddeleri, çeşitli büyüme faktörleri eklenmekte ve hazırlanan gübre solüsyonuna bitki kökleri daldırılmaktadır. Geri dönüşümle tekrarlı olarak kullanılan su kural gereği 2-3 haftada bir değiştirilmek zorundadır (London Grow, 2024). Ancak ticari hidroponik sulama sistemlerinde pest ve mikrobiyel bulaşmayı önlemek için rutin bir şekilde ozon, UV radyasyon gibi tekniklerle dezenfeksiyon yapılmaktadır (Lee & Lee, 2015: 206). Bu tarz yatırımlar hem yüksek sermaye gerektirmekte hem de besin solüsyonundaki sadece patojen organizmalar değil bitki gelişimini teşvik eden simbiyotik organizmalar (PGPB; Plant Growth-Promoting Bacteria) da elimine edilmektedir (Lee & Lee, 2015: 206). Biyostimulant olarak PRSE (PRSE; Phycocyanin-Rich Spirulina Extract) 'nin özütü kontamine olan geri-dönüşümlü besin sulama sistemine pro-biyotik veya pre-biyotik veya simbiyotik amaçla eklenmekte, böylece sulama sisteminde bulunan PGPB organizmaları ıslah edilerek ve patojenler azaltılarak bahsi geçen dezavantajlar da minimum seviyeye indirilmektedir (Chandel & ark., 2017: 218; Żółkiewicz & ark.,

2020: 2189). Yapılan bir araştırmada hidroponik sistemle yetiştirilen marul için Phycocyanince zengin Spirulina zt kullanılmıştır (PRSE) (Varia, Kamaleson & Lerer, 2022: 111042). PRSE-uygulanan marul kontrol grubuna göre daha güçlü bir gelişme göstermiş, 6 günde %21 oranında olgunluğa ulaşmış ve böylece bitkinin dikimi ve hasat arasında geçen srenin kısaltılmasıyla enerji ihtiyacı ve işgücü bedeli azaltılarak kısmi tasarruf sağlanmıştır.

Singapur 'da hidroponik sistem uygulamalarından nutrient film tekniğinin en önemli sorunlardan biri besin kaynaklı bakteriyel kontaminasyon nedeniyle insanlarda salgın hastalıklar baş göstermiştir (Tham & ark., 2024: e00672-24). Amerika Birleşik Devletlerinde hidroponik çiftliklerde yetiştirilen özellikle taze yeşillikleri tüketen insanlarda *Salmonella* salgını patlak vermiştir (McClure & ark., 2023: 100079). *Salmonella* besin solüsyonunun tüm sistemi dolaşımı sırasında tesise hızlı ve kolayca yayılmıştır (Li & ark., 2022: 1449). Bu amaçla Tham & ark., (2024: e00672-24) geliştirdikleri sanitasyon yöntemiyle *Salmonella* 'nın biyofilm tabakası nlenmiştir. Sodyum hipoklorit kullanılan bu çalışmada uygun doz ve srelerde yapılan uygulama bitki gelişimine engel olmamış ancak hem hidroponik solüsyon içinde hem de bitkilerde yan ürün olarak yüksek seviyelerde klorat tayin edildiği raporlanmıştır. Sodyum hipoklorit bitkilerin gelişimine zarar vermese de bitkilerin tketlenen kısımlarında birikim yaparak insan sağlığı için bir tehdit unsuru oluşturmaktadır. Sanitasyon sonrası sistemin suyla çalkalanarak durulanması hayati önem taşımaktadır. İlgili araştırma, hidroponik sistemle mikrobiyel kontaminasyonun engellenmesinde nc bir çalışma olarak ileri tarımsal tekniklerle DT 'ın gelişimine de katkı sunacaktır.

Konvansiyonel iftliğe göre hidroponik sistem şehir yaşamında gıda ihtiyacını karşılayacak sürdürülebilir bir alternatif olarak gösterilmektedir. Her iki sistemi karşılaştırmak amacıyla Hindistan 'da kentsel dikey iftcilik modellerinin çevresel etki

değerleriyle ilgili kantitatif bir çalışma geliştirilmiştir. Hidroponik sisteme dayalı marul yetiştiriciliğinin çevresel etki verilerinin değerlendirildiği model sistemde 1)konvansiyonel sera yetiştiriciliği, 2)kapalı mekan da yetiştiricilik ve 3)kabin (konteyner) yetiştiriciliği ve uzaktan gözlem sistemleri kıyaslanmıştır (Paturu & Varadarajan, 2024: 172232). Çevresel etki değerlendirme ölçümleri kaynak kullanımı, sağlık ve çevre zarar kategorilerinde yapılmıştır. Analitik değerlendirme sonuçlarına göre 2 ve 3 nolu sistemler konvansiyonel sera yetiştiriciliğine göre oldukça yüksek bir çevresel etkiye sahip olmuştur. Yani konvansiyonel sera yetiştiriciliği 2 ve 3 nolu sistemlere göre çevresel olarak daha sürdürülebilir nitelikte olup sera gaz emisyonu, insan toksisitesi ve fosil yakıt açısından daha iyi bir performans ortaya koymuştur.

Çin 'de yapılan bir araştırmada hidroponik sistemle besin sıvısının durgun halde ve akış halinde olduğu zaman marulun kök gelişimine olan etkisi incelenmiştir (Baiyin & ark., 2025: 100933). Hidroponik sistemin optimizasyonuna teorik destek olacak bu çalışmada statik sıvının akış oranı 0 iken dolaşımdaki sıvının akışı 14 L/dak. olacak şekilde ayarlanmıştır. Akışkanlık kök uzunluğu, yüzey alanı, hacimsel miktarda statik şartlara göre önemli oranda artış sağlarken eşzamanlı olarak selüloz, hemiselüloz gibi hücre duvar bileşenlerinde de artış kaydedilmiştir. Ayrıca oksidatif stres yükselmiş buna karşın antioksidant enzim miktarları da yükselmiş, hücre bölünmesi ve sinyal yollarıyla ilgili biyokimyasal olaylar aktif hale geçmiş, stres dayanıklılığı ve kök gelişimini ilgilendiren genler ve proteinler farklı düzeylerde ya baskılanmış veya teşvik edilmiş özellikle lignin sentezinde önemli artışlar sağlanmıştır. Bu sonuçlara göre hareket halindeki besin sıvısı bitkiyi strese daha dayanıklı yaparken kök gelişimini de önemli oranda artırmıştır.

Aeroponik Sistem

Aeroponik sistem, turba gibi yenilenemeyen veya çok yavaş yenilenen kaynakların kullanılmasına gerek kalmadan sağlıklı ve morfolojik olarak üstün çeliklerin yetiştirilmesine olanak sağlayabilir (Gruda, Bisbis & Tanny, 2019: 324; Gruda, 2022: 2773; Gruda, Hirschler & Stuart, 2023: 545). Bu amaçla aeroponik sistemle besin solüsyonunun spreyleme zaman aralığı ile Indole-3-butyric acid (IBA) 'in ornamental adaçayının çelik gelişimi ve adventif kök oluşumuna etkileri araştırılmıştır. (Scaltrito & ark., 2024: 113452). Sürdürülebilir çelik üretiminde önemli bir potansiyel sunan ilgili yöntemle köklenen çeliklerin gelişiminde püskürtülme aralığı ve eksojen oksin uygulaması arasında pozitif bir korelasyon bulunmuş ve sağlıklı, morfolojik olarak yüksek kaliteli çelik eldesinde önemli avantajlar sağlanmıştır. Besin solüsyonunu spreyleme 10 dak. aralıklarla ve 1 g L⁻¹ IBA uygulamasıyla çeliklerin kök uzunluğu, kök alanı, uçların çatallanmaları ve çapraz kök sayılarında dikkate değer artış sağlarken uygulama görmeyen kontrol grubundaki çeliklerin ise kök çapı ve hacmi oldukça fazla gelişmiştir. Böylece muamele gören bitkiler daha fazla çelik verme kapasitesine sahip olmuştur.

PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria) 'ler doğal koşullarda arazide bitkilerin gelişimini teşvik etmek için kullanılmaktadır (Yang & ark., 2024: 434). *In vitro* 'da patates bitkicikleri PGPR grubunda yer alan *Azospirillum baldaniorum* ve *Kocuria rosea* ile birlikte kültüre alındıktan sonra aeroponik *ex-vitro* koşullara adaptasyonu ve mini yumru verimliliği artmaktadır (Tkachenko & ark., 2023a: 1866). Ancak *in vitro* kültür koşullarına göre aeroponik sistemde su miktarı daha azdır çünkü su besin solüsyonu köklere püskürtülmektedir. Su yetersizliğinden dolayı yapraklardaki endofitik mikroorganizmaların etkisiyle absisik asit sentezi artmakta ve bunun sonucu olarak da stoma açıklıkları kapanmakta ve stoma yoğunluğu değişmektedir (Khan & ark., 2016:

38). Bu sonuçlara zıt olarak *in viro* 'dan *ex-vitro* 'ya geçişte yapraklardaki su kıtlığından dolayı endofitlerin etkisi altında stomaların kondaktivitesi, sayısı, hacmi gibi karakteristik özellikleri bazen artarak bazen azalarak konukçu bitkilere göre değişebilen sonuçlar vermektedir (Malinowski & Belesky, 2000: 923; Monja-Mio & ark., 2015: 32; Rho & ark., 2018: 188; Tkachenko & ark., 2023b: 190). Bir abiyotik stres olan su noksanlığına bitkiler epigenetik değişimler yoluyla tepki vermektedir ve stres koşulları bitkileri son derece dayanıklı yapmaktadır (Ashapkin & ark., 2020: 7457). Nitekim Tkachenko & ark., (2023a: 1866) patates bitkiciklerinin *in-vitro* 'dan aeroponik *ex-vitro* adaptasyonunun %100 başarıyla gerçekleştiğini bildirmiştir.

Tarımda nitrojen (N) (azot) makro besin elementi olarak en çok kullanılan gübre girdilerindendir. Fazla N-içerikli gübre tüketimi hem ekonomik kayıplara hem de çevresel sorunlara neden olmaktadır. Aeroponik sistemde farklı oranlardaki N dozuna bitkiler tür-içinde bile farklı tepkiler vermektedirler (Cheema & ark., 2024: 113768). Aeroponik sistemle N-kullanım veriminin araştırıldığı bir denemede farklı patates ırklarının N kullanım etkinliğinin biyokimyasal ve fizyolojik mekanizmaları varyeteler arasında genotipik farklılıklar sergilemişlerdir (Cheema & ark., 2024: 113768). N-düşük dozda uygulandığında köklerin N-kullanım verimi ile N-asimilasyonu arasında pozitif bir korelasyon bulunmuştur. Ayrıca N-kullanım verimi ile N-asimilasyon enzimleri, sürgün özellikleri ve N-alım verimi arasında karşılıklı pozitif bir ilişki söz konusudur. Sürgün kuru ağırlığına dayanarak aeroponik sistemle N-verimli ve N-verimsiz kullanan genotip ayrımı yapmak mümkün hale gelmiştir. Dikey yetiştiricilikle genotipler arasındaki fizyolojik ve biyokimyasal farklar daha kısa sürede ortaya çıkacak ve bitki ıslah çalışmaları seleksiyon süreci hızlanacaktır.

Kozmetik endüstrisi liderlerinden olan Fransa 'da katma değeri yüksek olan *Ocimum sanctum*, *Coleus forskohlii* ve *Centella*

asiatica bitkileri tropikal ülkelerden ithal edilmekte olup özellikle kozmetik sanayisi için yetiştirilmektedir (Kolekar & ark., 2021: 36; Dev, 2023; Dauchot & ark., 2024: 100127). Fransa-Paris’de 160 m² alana sahip aeroponik bir çiftlikte yetiştirilen bu 3 bitkinin yaşamsal döngü değerlendirmesiyle (LCA; Life Cycle Assessment) çevresel etki performansı ölçülmüştür (Dauchot & ark., 2024: 100127). Sonuçlar göstermiştir ki çok fazla elektrik tüketen sistemde kullanılan girdiler açık-alan yetiştiriciliğine nazaran daha az olduğundan karasal ekotoksiste etkisi düşmüş ve zaten kıt olan doğal mineral kaynakların kullanımı da azalmıştır. Dikkat çeken diğer sonuçta ilgili denemede çalışılan aeroponik sistemle CO₂ emisyonu, ithal yoluyla alınan bu bitkilerin uzun mesafeli-transferi sırasında kullanılan fosil yakıtlara nazaran birkaç kat daha fazla olmuştur. Ancak gelecek nesil yenilikçi teknolojilerle yeşil enerji üretimiyle böylesi dezavantajların üstesinden gelinecektir.

Akuaponik Sistem

Mevcut olan DT sistemleri içinde gıda güvencesinin daha sürdürülebilir olduğu ve aynı zamanda organik bir sistem olan akuaponik düzenek akuakültür-balık yetiştiriciliği ile hidroponik sistem kombine edilerek oluşturulmuştur (Somerville & ark., 2014). Balık havuzundaki atık su filtrasyonla hidroponik sisteme verilmekte böylece daha az girdi kullanılarak çevre kirliliği azalmakta aynı zamanda balık atıkları da hidroponik tanklara gönderilerek bitkilere organik besin temin edilmektedir. Çevre dostu olan akuaponik sistemde aynı zaman diliminde hem balık hem bitki yetiştiriciliği yapılmakta ve tekrarlı sirküle olan bir akuakültür ekosistemi oluşmaktadır (Hollmann, 2017).

Bir deneysel araştırmada hidroponik sistemle kültüre alınan su ıspanağı ile akuakültürde tilapya balığının simbiyotik ilişkisine epsom tuzunun (magnezyum sülfat) etkisi incelenmiştir. Yaklaşık 2 aylık deneme sürecinde su ıspanağına yapraklar ve köklerden

uygulanan epsom tuzu hem bitkisel verimi artırmış hem de balık sağlığına olumsuz etki bir yapmaksızın balıklarda tatminkar düzeyde verim sağlamıştır (Akter & ark., 2024: 691). Diğer deneysel çalışmada akuaponik sistemde vietnam kışnişi ile Afrika yayın balığının simbiyotik ilişkisinin bitki ve balık gelişim performansına etkileri araştırılmıştır (Hamid & ark., 2024: 142998). Sulak alanlarda yetişen vietnam kışnişi doğal ortamına göre akuaponik sistemde 3 kat daha hızlı büyümüş, balık atık sularındaki azot ve fosforun giderimini başarıyla gerçekleştirmiş ve böylece balık-atık suyunun biyolojik filtrasyonunu sağlamıştır. Bitki yoğunluğu arttıkça N ve P besin maddelerinin uzaklaştırılma yüzdesi yani bitkiler tarafından asimilasyonu artmaktadır. Ayrıca balığının özgül büyüme oranı da artmaktadır. Vietnam kışnişi ile yayın balığının ko-kültürü özellikle balık-atık su kalitesini önemli oranda artırırken bitkilerde balık-atık besin maddelerini kullanarak daha hızlı gelişmektedir. Akuaponik sistemde, simbiyotik olarak kültüre alınacak türlere göre hem atık su arıtma da, hem dışardan besin katkı maddesi olmaksızın bitki gelişimini iyileştirmekte ve balık gelişimine de olumlu yansıyarak özellikle otsu bitkilerin ticari faaliyetleriyle ekonomiye de önemli katkılar sunacaktır.

Hindistan cevizi atıkları ve bunlardan elde edilen biyokömür (hindistan cevizi kabuğu ve özü, hindistan cevizi kabuk biyokömürü gibi) ile medical stone ve/veya bunların farklı kombinasyonlarıyla elde edilen kompozitlerin katı-faz substratı olarak kullanımı ve akuakültür atıklarındaki azotun dönüşümüne etkisiyle ilgili bir araştırma yapılmıştır (Li & ark., 2025: 102512). Denemede bitkiye ait boy, bütün bitki ağırlığı, meyve ağırlığı gibi fizyolojik parametreler ile klorofil içeriği, meyve kalitesi ölçülmüş ve su kalite parametresi olarak turna balığı atık suyundaki azot (amonyak-N, nitrit-N, nitrat-N) içeriği ölçülmüştür. Substrat olarak biyokömür bitkinin taze ağırlığı ve klorofil içeriğini önemli oranda artırırken akuakültür atık suyunun azot dönüşümü %89 'a ulaşmıştır.

Biyokömür atık su içindeki azot fiksasyonunu kolaylaştırmakta ve bitkinin kullanımına olanak sağlamaktadır.

Sonuç

Topraksız tarımın çevresel etki ve sürdürülebilirliğiyle ilgili araştırma-deneme çalışmaları henüz çok başlangıç aşamasındadır. Çevresel etki değerlendirmeleri ve bitkilerin yapay ortamlarda kültür koşulları bitkiler arasında çok değişken sonuçlar vermektedir. Uygulamaya alınacak lokal bitkilerin biyokimyasal kalitesini korumak veya daha iyileştirmek için bölgesel üretim sistemleri göz önünde bulundurulmalı ve iş kalitesi, tesis giderleri gibi işletme yönetimine ait faktörlerin optimizasyonu için çalışmalar yapılmalıdır. Böylece düzenli ve ölçeklenebilir bir üretim, öngörülebilir bir tedarik sistemi oluşturulabilir. DT 'ın başarısı sadece teknolojiye bağlı değil ama uygulayıcı ülkenin sosyal ve kültürel yapısı, DT 'a uygun işgücü ve çiftçilik düzeyi, halkın beslenme alışkanlıkları gibi bölgesel koşullara da bağlıdır. Küresel ticaretin acımasız olduğu bir dünyada yeni bir ticari saha açan DT şirketlerinin yaratıcı-yenilikçi ve yönetim anlayışı hedeflenen sonuçlara ulaşmada kritik konulardır. Yine de iklim değişiminin getirdiği su kıtlığı ve kuraklık sonucu gıda güvencesinin geleceği için küresel ısınma baskısı DT 'a ilgiyi zorunlu olarak artıracaktır. Yüksek sermaye ve enerji gerektiren DT 'ın ilerlemesi için daha uygun bedelli teknolojik gelişmelere ve bu gelişmelere erişilebilir/uygulanabilir eğitim programlarına öncelik verilmelidir. Günümüzdeki mevcut DT sistemiyle yetiştirilen bitki çeşitleri sınırlı sayıda olup buğday, mısır, yulaf, çeltik gibi temel gıda ürünleri ile odunsu meyve ağaçları gibi hortikültür bitkilerinin üretimine uygun değildir. Tamamen kapalı bir alanda gerçekleştirilen dikey çiftçilik tarıma elverişsiz çöl iklim alanları, buzul arazili kutuplar gibi marjinal arazi özelliklerine sahip bölgeler için gerekli ve uygun bir tarım sistemi olabilir. Ülkemizde halen enerji üretiminin % 50 'den fazlası hidroelektrik ve kömür santrallerinden elde edilmektedir.

Bunun ülkemizde yaratacağı çevre kirliliği ve yüksek maliyet nedeniyle DT ile üretim şekli doğal afetler, su-gıda kıtlığı gibi geçici felaket dönemlerinde gıda güvencesinin sürekliliği için destekleyici bir model olarak düşünülebilir.

Kaynakça

Akter, U., Hashem, S., Farhad, F. B., Rana, K. S., Haque, M. M. & Salam, M. A. (2024). Effects of Epsom (magnesium sulfate) salt on growth performance of water spinach (*Ipomoea aquatica*) in nutrient film technique and media-based aquaponics systems. *Aquaculture International*, 32(1), 691-707.

Al-Kodmany, K. (2018). The vertical farm: A review of developments and implications for the vertical city. *Buildings*, 8(2), 24.

Ashapkin, V. V., Kutueva, L. I., Aleksandrushkina, N. I. & Vanyushin, B. F. (2020). Epigenetic mechanisms of plant adaptation to biotic and abiotic stresses. *International journal of molecular sciences*, 21(20), 7457.

Bailey, G. E. (1915). *Vertical farming*. Lord Baltimore Press.

Baiyin, B., Xiang, Y., Shao, Y., Son, J. E., Tagawa, K., Yamada, S., Yamada, M. & Yang, Q. (2025). Application of Flow Field Visualization Technology in Analysing the Influence of Nutrient Solution Flow on Hydroponic Lettuce Growth. *Smart Agricultural Technology*, 100933.

Butturini, M. & Marcelis, L. F. (2020). Vertical farming in Europe: Present status and outlook. *Plant factory*, 77-91.

Chandel, D. S., Perez-Munoz, M. E., Yu, F., Boissy, R., Satpathy, R., Misra, P. R., Sharma, N., Chaudhry, R., Parida, S., Peterson, D. A., Gewolb, I. H. & Panigrahi, P. (2017). Changes in the Gut Microbiota After Early Administration of Oral Synbiotics to Young Infants in

India. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 65(2), 218–224.

Cheema, H. N., Ma, H., Wang, K. X., Tang, M., Zhang, K., Jahandad, A., Saba, T., Fang, X., Shahzad, M. A., Ansar, M., He, W. & Zheng, S. (2024). Deciphering nitrogen dynamics in aeroponics: physio-biochemical and enzymatic responses influencing nitrogen use efficiency in contrasting potato genotypes. *Scientia Horticulturae*, 338, 113768.

Dauchot, G., Aubry, C., Crème, A., Dorr, E. & Gabrielle, B. (2024). Energy consumption as the main challenge faced by indoor farming to shorten supply chains. *Cleaner and Circular Bioeconomy*, 9, 100127.

Despommier, D. (2014). Vertical farms in horticulture. Book Encyclopedia of Food and Agricultural Ethics; Thompson, PB, Kaplan, DM, Eds, 1860.

Dev, S. (2023). *Prime Ayurvedic plant drugs*. Springer Nature.

Eden Green Technology, (2025). <https://www.edengreen.com/blog-collection/what-is-vertical-farming> (Erişim tarihi: 18.04.2025)

Ge, C., Rymut, S., Lee, C. & Lee, J. (2014). Salmonella internalization in mung bean sprouts and pre-and postharvest intervention methods in a hydroponic system. *Journal of food protection*, 77(5), 752-757.

Gruda, N., Bisbis, M. & Tanny, J. (2019). Impacts of protected vegetable cultivation on climate change and adaptation strategies for cleaner production—a review. *Journal of Cleaner Production*, 225, 324-339.

Gruda, N. S. (2022). Advances in soilless culture and growing media in today's horticulture—An editorial. *Agronomy*, 12(11), 2773.

Gruda, N. S., Hirschler, O. & Stuart, J. (2023). Peat reduction in horticulture an overview of Europe. In *IX South-Eastern Europe Symposium on Vegetables and Potatoes 1391* (pp. 545-560).

Hamid, S. H. A., Din, W. N. S., Lananan, F. & Endut, A. (2024). Growth performance of African catfish (*Clarias gariepinus*) in aquaponic systems with varying densities of Vietnamese coriander (*Persicaria odorata*). *Chemosphere*, 363, 142998.

He, J. (2015). Integrated vertical aeroponic farming systems for vegetable production in space limited environments. *ICESC2015: Hydroponics and Aquaponics at the Gold Coast*, 1176, 25-36.

Hedenblad, E. & Olsson, M. (2017) Urban Growth Analysis of Crop Consumption and Development of a Conceptual Design to Increase Consumer Adoption of Vertical Greenhouses. Master's Thesis, Chalmers University of Technology, Gothenburg, Sweden.

Hollmann, R. E. (2017). *An aquaponics life cycle assessment: evaluating an inovative method for growing local fish and lettuce*. University of Colorado at Denver.

Khan, Z., Rho, H., Firrincieli, A., Hung, S. H., Luna, V., Masciarelli, O., Kim S-H. & Doty, S. L. (2016). Growth enhancement and drought tolerance of hybrid poplar upon inoculation with endophyte consortia. *Current Plant Biology*, 6, 38-47.

Kolekar, Y. S., Tamboli, F. A., More, H. N., Mulani, S. A. & Mali, N. P. (2021). Medicinal plants used in cosmetics for skin and hair care. *International Journal of Pharmaceutical Chemistry and Analysis*, 8(2), 36-40.

Lee, S. & Lee, J. (2015). Beneficial bacteria and fungi in hydroponic systems: Types and characteristics of hydroponic food production methods. *Scientia Horticulturae*, 195, 206-215.

Li, Y., Zwe, Y. H., Tham, C. A. T., Zou, Y., Li, W. & Li, D. (2022). Fate and mitigation of *Salmonella* contaminated in lettuce (*Lactuca sativa*) seeds grown in a hydroponic system. *Journal of Applied Microbiology*, 132(2), 1449-1456.

Li, T., Wang, X., Zhu, Z., Gaju, O., Shi, Y. & Chang, Y. (2025). Effect of coconut waste and its biochar as hydroponics substrates on system performance and nitrogen transformation in aquaponics. *Aquacultural Engineering*, 102512.

London Grow, (2024). <https://www.londongrow.com/blogs/grow-tips/how-often-to-change-hydroponics-water-london-grow#:~:text=If%20your%20water%20quality%20checks,every%20two%20to%20three%20weeks>. (Erişim tarihi: 08.04.2025)

Malinowski, D. P. & Belesky, D. P. (2000). Adaptations of endophyte-infected cool-season grasses to environmental stresses: mechanisms of drought and mineral stress tolerance. *Crop Science*, 40(4), 923-940.

Monja-Mio, K. M., Pool, F. B., Herrera, G. H., EsquedaValle, M. & Robert, M. L. (2015). Development of the stomatal complex and leaf surface of *Agave angustifolia* Haw. 'Bacanora' plantlets during the in vitro to ex vitro transition process. *Scientia Horticulturae*, 189, 32-40.

McClure, M., Whitney, B., Gardenhire, I., Crosby, A., Wellman, A., Patel, K., McCormic, Z. D., Gieraltowski L., Gollarza L., Low M. S. F., Adams, J., Pightling A., Bell, R. L., Nolte K., Tijerina M., Frost J. T., James A. Beix, J. A., Boegler, K. A., Dow J., Shana Altman S. & Viazis, S. (2023). An outbreak investigation of *Salmonella Typhimurium* illnesses in the United States linked to packaged leafy greens produced at a controlled environment agriculture indoor hydroponic operation–2021. *Journal of food protection*, 86(5), 100079.

Nursyahid, A., Setyawan, T. A., Sa'diyah, K., Wardihani, E. D., Helmy, H. & Hasan, A. (2021). Analysis of Deep Water Culture (DWC) hydroponic nutrient solution level control systems. In *IOP conference series: Materials science and engineering* (Vol. 1108, No. 1, p. 012032). IOP Publishing.

Paturu, P. & Varadarajan, S. (2024). Assessing environmental sustainability by combining product service systems and life cycle perspective: A case study of hydroponic urban farming models in India. *Science of The Total Environment*, 927, 172232.

Phibunwatthanawong, T. & Riddech, N. (2019). Liquid organic fertilizer production for growing vegetables under hydroponic condition. *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture*, 8, 369-380.

Plantagon's Vertical Farm, 2009. <https://www.archdaily.com/28903/plantagons-vertical-farm> (Son Erişim Tarihi: 12.03.2025).

Rho, H., Van Epps, V., Wegley, N., Doty, S. L. & Kim, S. H. (2018). Salicaceae endophytes modulate stomatal behavior and increase water use efficiency in rice. *Frontiers in plant science*, 9, 188.

Richa, A., Touil, S., Fizir, M. & Martinez, V. (2020). Recent advances and perspectives in the treatment of hydroponic wastewater: a review. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 19(4), 945-966.

Rogers, M. A. (2017). Organic vegetable crop production in controlled environments using soilless media. *HortTechnology*, 27(2), 166-170.

Scaltrito, E., Cristiano, G., Sdao, A. E., Gruda, N. S., Loconsole, D. & De Lucia, B. (2024). Influence of water spraying intervals and indole-3-butyric acid concentrations on *Salvia* rooted cuttings

quality in a closed aeroponics system. *Scientia Horticulturae*, 337, 113452.

SharathKumar, M., Heuvelink, E. & Marcelis, L. F. (2020). Vertical farming: moving from genetic to environmental modification. *Trends in plant science*, 25(8), 724-727.

Somerville, C., Cohen, M., Pantanella, E., Stankus, A. & Lovatelli, A. (2014). Small-scale aquaponic food production: integrated fish and plant farming. *FAO Fisheries and aquaculture technical paper*, (589), I.

Tham, C. A. T., Zwe, Y. H., Ten, M. M. Z., Ng, G. S. Y., Toh, J. Y. L., Poh, B. L., Zhou, W. & Li, D. (2024). Sanitization of hydroponic farming facilities in Singapore: what, why, and how. *Applied and Environmental Microbiology*, 90(7), e00672-24.

Tkachenko, O. V., Evseeva, N. V., Kargapolova, K. Y., Denisova, A. Y., Pozdnyakova, N. N., Kulikov, A. A. & Burygin, G. L. (2023a). Rhizobacteria increase the adaptation potential of potato microclones under aeroponic conditions. *Microorganisms*, 11(7), 1866.

Tkachenko, O. V., Evseeva, N. V., Kargapolova, K. Y., Denisova, A. Y., Burygin, G. L., Pozdnyakova, N. N. & Kulikov, A. A. (2023b). Application of Rhizobacteria *Azospirillum baldaniorum* Sp245 and *Kocuria rosea* T1Ks19 to Increase the Efficiency of Potato Cultivation in Aeroponics. *Russian Journal of Plant Physiology*, 70(8), 190.

Varia, J., Kamaleson, C. & Lerer, L. (2022). Biostimulation with phycocyanin-rich *Spirulina* extract in hydroponic vertical farming. *Scientia Horticulturae*, 299, 111042.

Yang, P., Condrich, A., Scranton, S., Hebner, C., Lu, L. & Ali, M. A. (2024). Utilizing Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) to Advance Sustainable Agriculture. *Bacteria*, 3(4), 434-451.

Żółkiewicz, J., Marzec, A., Ruszczyński, M. & Feleszko, W. (2020). Postbiotics—a step beyond pre-and probiotics. *Nutrients*, 12(8), 2189.

BÖLÜM 4

HÜNNAP (*ZIZIPHUS JUJUBA* MILL.) MEYVESİNİN FARMAKOLOJİK, FİTOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ VE TÜRKİYE'DEKİ YAYILIŞI İLE EKONOMİK ÖNEMİ VE KULLANIM ALANLARI

1. AHMET BEYATLI^{1,2}

Giriş

Hünnap (*Zizyhus jujuba* Mill.) Rhamnaceae familyasına ait dikenli, yaprak dökken, 10 metreye kadar uzayabilen ağaç ya da çalı formunda bulunan bir bitkidir. Meyveleri iğdeye benzemekte olup, tatlı ve suludur. Hünnapın olgunlaşmamış meyveleri zeytin yeşili, olgunlaşınca koyu kırmızı, kurtulunca da kahverengidir (Davis, 1967: 524; Deligöz & ark., 2007: 51; WHO, 2001: 359). Hünnap bir ılıman iklim bitkisidir. Humusça ve kireççe zengin, kumlu geçirgen ve verimli topraklarda kuraklığa ve aşırı yağışa dayanıklıdır (Ecevit & ark., 2002: 42; Kavas & Dalkılıç, 2015: 58).

¹ Dr. Öğr. Üyesi, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Hamidiye Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Bölümü, Orcid: 0000-0001-5225-6217

² Dr. Öğr. Üyesi, School of Agriculture, Food and Ecosystem Sciences, Faculty of Science, Food Science and Nutrition, The University of Melbourne, Melbourne, Australia

Hünnap birçok tür ve cinse ait bir bitkidir. Türkiye’de *Frangula*, *Colletia*, *Hovenia*, *Rhamnus*, *Paliurus* ve *Ziziphus* olmak üzere 6 cins ve 25 türü bulunan hünnap bitkisi doğal olarak yetişmektedir (Anşin & Özkan, 1997: 512; Davis, 1967: 524). Hünnapın anavatanı Çin olarak bilinir ve Çin’de “Hayatın Meyvesi” olarak adlandırılır (Yu & ark., 2012: 239). Ayrıca bitkinin doğal yayılım gösterdiği bölgeler; Rusya, Ortadoğu, Hindistan, Güney Avrupa ve Kuzey Afrika’dır (Mengjun, 2003: 351; Reichl, 1991: 139). Türkiye’de hünnap bitkisinin Batı ve Güney Anadolu’da kültürü yapılırken Denizli’de doğal olarak yetişir (Davis, 1967: 524; Karıncalı, 2003: 4; Kavas & Dalkılıç, 2015: 58).

Geleneksel olarak ateş düşürücü, idrar arttırıcı, adet söktürücü, balgam söktürücü ve tonik olarak kullanıldığı gibi diyabet, göz hastalıkları, kalp ve karaciğer hastalıklarında da kullanılmaktadır (WHO, 2001: 362). Hünnap meyvesinin olgun ve kurutulmuş hali Çin’de afrodizyak, laksatif ve panzehir olarak kullanımı vardır (Yu & ark., 2012: 239).

Meyvesinin içeriğinde tanin, şeker ve müsilaçlı maddeler bulunmakla beraber A, B ve C vitaminleri, fenolik bileşikler, karotenoitler, antioksidan maddeler, kalsiyum, magnezyum, fosfor, potasyum gibi önemli mineraller bulunmaktadır (Omid, 1997: 109). Hünnapın içerdiği zengin minarel ve vitaminler sayesinde besleyici yönü de vardır. Zengin bir besin ve lif kaynağıdır (Choi & ark., 2011: 6594; Gao & ark., 2011: 67; Li & ark., 2005: 3607; Sun & ark., 2011: 1612).

Günümüzde hünnap meyvesi, özellikle Türkiye’de popülaritesi artan ve üretim talebi yükselen bir meyve haline gelmiştir. Bu ilgi artışı sadece ülkemizle sınırlı kalmayıp diğer ülkelerde de görülmektedir (Korkut & ark., 2022: 44). Son beş yılda Hünnapın multidisipliner araştırma potansiyeli dikkat çekmekte olup, özellikle antiviral etkileri (Suwasanti & ark., 2024: 1047), nanoenkapsülasyon teknikleri (Parhizkary & ark., 2024: 101771) ve

Türkiye'deki agronomik adaptasyon çalışmaları ön plana çıkmaktadır. Bu gelişmeler, hünnapın hem gıda endüstrisinde hem de sağlık alanında geniş bir kullanım yelpazesine sahip olabileceğini göstermektedir.

Botanik Özellikleri

Hünnap (*Z. jujuba*) bitkisinin botanikte sınıflandırılması Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1 Z. jujuba sınıflandırması

Alem:	Plantae
Bölüm:	Tracheophyta
Sınıf:	Magnoliopsida
Takım:	Rosales
Familya:	Rhamnaceae (Cehrigiller)
Cins:	<i>Ziziphus</i> Mill.
Tür:	<i>Z. jujuba</i> Mill.

Kaynak: (GBIF, 2025)

Hünnap bitkisi kışın yaprağını döken 8-10 metreye kadar uzayabilen, nisan-mayıs aylarında sarı renkli çiçek açan hoş kokulu bir çalıdır (Şekil 1). Yaprakları petiolat, oval lanseolat, 2-7 cm uzunluğunda, 2.5-3 cm genişliğinde; uçları hafifçe küt, tabanı yuvarlak, kenarları dişli, 3 damarlıdır (Davis, 1967: 524; Deligöz & ark., 2007: 51; WHO, 2001: 359). Çiçekleri hermafrodittir ve 5 tane erkek organ (stamen) bir adet dişi organı (pistil) vardır. Çanak yaprakları yeşil renkli ve 5 parçalıdır, taç yaprakları ise sarı renkli ve kıvrık beş parçalıdır. Meyvesi sert çekirdekli eriksi (drupa) tipte olup iki ucu sivridir (Anşın & Özkan, 1997: 512; Karıncalı, 2003: 36). Her hünnap meyvesi için bir çekirdeği ve her çekirdekte üç tane tohum vardır (Pareek, 2013: 463). Son çalışmalar, hünnapın hem tropikal hem ılıman bölgelerde (sıcaklık aralığı: -15°C ile +45°C) yetişebilme adaptasyonunu geniş kök sistemi ve su tutma

kapasitesiyle ilişkilendirmektedir (Popstoyanova & ark., 2024: 2724).

Şekil 1 Türkiye'nin güneyinde yetişen tipik bir Z. jujuba ağacı



Kaynak: (Serce & Özgen, 2016:199)

Fitokimyasal Bileşenleri

Hünnap meyvesi, fenolik bileşikler, flavonoidler, polisakkaritler, triterpenik asitler ve alkaloidler gibi biyoaktif bileşenler açısından zengin bir profil sergiler. Meyvenin kuru ağırlık bazında %2.26–3.01 kül, %17.38–22.52 nem ve 275.6–541.8 mg/100 g fenolik bileşik içerdiği belirlenmiştir (Hürkan, 2019: 1273). Fenolik bileşikler arasında kateşin, rutin, kafeik asit ve klorojenik asit baskın olup, antioksidan kapasiteyi doğrudan artırıcı etki gösterir (Choi & ark., 2011: 6594; Gao & ark., 2013: 3351). Flavonoidlerden kuersetin-3-O-galaktoz, kamferol-glukosil-ramnozid ve spinosin hem meyve hem tohum dokusunda yüksek konsantrasyonlarda bulunur (Hürkan, 2019: 1274).

Polisakkaritler, hünnapın en önemli fonksiyel bileşenlerindendir. Üronik asit içeriği yüksek polisakkaritlerin antienflamatuar ve immünomodülatör etkileri, molekül ağırlığı ve dallanma derecesiyle ilişkilidir (Ji & ark., 2020: 00). Triterpenik asitlerden ursolik asit ve oleanolik asit, özellikle kabuk kısmında yoğunlaşarak antikanser aktivite sağlar (Hürkan, 2019: 1276).

Meyvedeki vitamin profili dikkat çekicidir: C vitamini içeriği (192–359 mg/100 g) limondan 20 kat fazla olup, B1 (tiamin) ve B2 (riboflavin) vitaminleri de önemli düzeylerde bulunur (Hernández & ark., 2016). Mineral bileşenlerden potasyum (869–1278 mg/100 g), kalsiyum (178–291 mg/100 g) ve magnezyum öne çıkarken, iz elementlerden çinko ve bakır da antioksidan enzim sistemlerini destekler (Korkut & ark., 2022: 44). Tohum kısımlarında swertisin ve türevleri (antiherpetik etkili), kabukta ise p-kumaroyl triterpenler (HSV-1 inhibitörü) tespit edilmiştir (Chianese & ark., 2024: 37037).

Farmakolojik Özellikleri

- *In Vitro* Deneyler

1. Antialerjik Etki

Hünnap bitkisinin tohumlarının ekstraksiyonu sonucu elde edilen jujubozit A, jujubozit A₁ Jujubozit C ve asetil jujubozit maddelerinin sıçanlar üzerinde antijen-antikor reaksiyonu sonucunda histamin salınımı belli değerlerde inhibe etmiştir (WHO, 2001: 363; Yoshikawa & ark., 1997: 1186).

2. Antikomplement Etki

İnsan serumunda bitkinin meyvelerinin sulu ekstresinden izole edilerek antikomplement etki gösterdiği gözlemlenmiştir (WHO, 2001: 364; Yamada & ark., 1985: 101).

3. Antiplatelet Etki

Hünnap bitkisinin kurutulmuş tohumlarının hekzan ve %90 metanol ekstraktları 5.0 mg/mL dozda kolajen bağımlı *in vitro* platelet inhibe etmiştir (Seo & ark., 2013: 829; WHO, 2001: 365).

4. Antimikrobiyal Etki

Z. jujuba uçucu yağının ve mentollü ekstresinin, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium* ve *Escherichia coli* gibi patojen bakterilere karşı güçlü bir aktivitesi belirtilmiştir (Al-Reza & ark., 2009: 2374). Hünnap bitkisinin yapraklarının etonollü ekstresinin, *S. aureus*, *E. coli*, *Salmonella dysenteriae*, *Salmonella paratyphi* ve *Candida albicans* üzerinde inhibe edici etkisi gözlemlenmiştir. Meyvelerinin ise etonollü ekstresinin antifungal olan *C. albicans*, *C. fumigatus* ve *E. coli*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* gibi antibakteriyeller üzerinde etkisi araştırılmıştır (Daneshmand & ark., 2013: 216).

5. Antioksidan Kapasite

Z. jujuba meyvelerinden ham poliholozit ve saflaştırılmış fraksiyonları izole edilip antioksidan etkisi araştırılmıştır. Meyvedeki ham poliholozit en yüksek etkiye sahip olduğu saptanmıştır. Bu etki poliholozitlerin konsantrasyonuna bağlı olarak artış göstermiştir. Poliholozit fraksiyonlarının süperoksit anyonlarını süpürücü etkisi, hidroksil radikallerini süpürücü etkisinden daha kuvvetli olduğu ve asidik poliholozitlerin demir iyonlarıyla şelat yapıcı etkisi diğerlerinden fazla olduğu saptanmıştır (Chang & ark., 2010: 445).

- İn Vivo Deneyler

1. Antienflamatuar Etki

Sıçanlarda oluşturulan arka pençe ödemi için *Z. jujuba* meyvelerinin etonollü ekstresi, kullanılan dozlarda histamin enjeksiyonu ile kullanıldığında ödemi önlemiştir (Naik & ark., 2013: 811). *Z. jujuba* tohumlarından elde edilen uçucu yağın antienflamatuar etkisini ölçmek için bir çalışma yapılmıştır. Deney farelerinin kulak dokusunda cilt enflamasyonu oluşturulmuş, cilt kalınlığı ve su içeriği artmıştır. *Z. jujuba* uçucu yağı bölgeye kullanılmış ve kulak kalınlığında ve cilt sıvı içeriğinde önemli azalma olmuştur (Al-Reza & ark., 2009: 2374).

2. Analjezik Etki

Z. jujuba'nın hidroalkolik ekstraktının, asetik asitle indüklenen ülseratif kolit modelinde farelerdeki inflamatuvar belirteçleri (TNF- α , IL-1 β , IL-6, NO ve MPO) önemli ölçüde azalttığını göstermiştir. Tedavi ayrıca pro-inflamatuvar genlerin (*iNOS* ve *COX-2*) ekspresyonunu düşürmüş ve standart bir antienflamatuar ilaç olan mesalamin ile karşılaştırılabilir bir etkinlik sağlamıştır ($p<0.05$). Bu bulgular, ekstraktın kolit semptomlarının yönetiminde tamamlayıcı bir terapi olarak potansiyelini vurgulamaktadır (Bahrami & ark., 2024: 481).

3. Antihiperglisemik Etki

4 gruptan oluşan 6'şar tane sıçana streptozotosin ile diyabet oluşturulmuştur. I. grup sağlıklı sıçanlar, II. grup tedavi edilmeyen diyabetik sıçanlar, III. grup 100 mg/kg *Z. jujuba* ekstresi verilen diyabetik sıçanlar, IV. grup 200 mg/kg *Z. jujuba* ekstresi verilen diyabetik sıçanlar oluşmaktadır. 21 günlük tedavi süresince sıçanların kan yağları, kan şekerleri ve glikozillenmiş hemoglobin değerleri ölçülmüştür. *Z. jujuba* ile tedavi edilmiş III. ve IV. grup sıçanların kan glikoz seviyeleri I. ve II. grup sıçanlardan daha düşük olduğu gözlenmiştir (Anbarasi & Brindha, 2013: 611).

4. Karaciğer Koruyucu Etki

Karaciğere etkisini gözlemlemek için sıçanlar üzerinde gerçekleştirilen çalışmada, hepatik arter ve portal ben 40 dakika bağlanarak iskemi meydana getirilmiş ve karaciğer 90 dakika kadar reperfüze edilmiştir. İskemi öncesi ve sonrası örnekler alınmış, alanin transaminaz, laktik dehidrogenaz, oksijen radikal ve nitrik oksit seviyelerine bakılmıştır. İskemiden hemen sonra *Z. jujuba* meyvelerinin sulu ekstresi 7 gün boyunca ağızdan 100 mg/kg dozda verilmiştir ve ölçülen değerlerin önemli miktarda azaldığı saptanmıştır (Chen & ark., 2010: 741).

5. Antiobezitik Etki

Z. jujuba yaprağının %70'lik etanol ekstresi albino sıçanlarına 40 gün boyunca normal diyetek ek olarak verilmiş, kafeterya diyeti ve aterojonik diyet tüketimine bağılı olarak meydana gelen obeziteye etkisi araştırılmıştır. Araştırma sonucunda diyetek bağılı obezitede *Z. jujuba* alkollü ekstresinin antiobez etki gösterdiği gözlemlenmiştir (Ganachari & ark., 2007: 102).

6. Antiviral Etki

Hünnap meyve ekstrelerinin Herpes simplex virüsü tip 1'e (HSV-1) karşı etkili olduğu ve özellikle swertisin ve türevleri gibi bileşiklerin antiviral aktivite gösterdiği bulunmuştur. Elde edilen veriler, hünnap aktif karışımlarının herpetik lezyonların önlenmesi ve tedavisi için umut verici adaylar olabileceğini göstermektedir (Chianese & ark., 2024: 37037).

7. Bağırsak Mikrobiyota Düzenleyici Etki

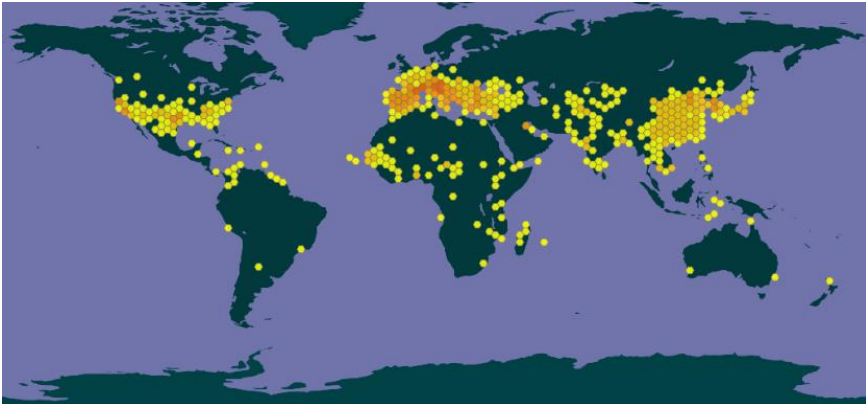
Z. jujuba polifenol ekstrelerinin, NLRP3 ve MAPKs inflamatuvar sinyal yollarını baskılayarak ve bağırsak mikrobiyotası dengesini düzenleyerek ülseratif kolit semptomlarını hafiflettiğini göstermektedir. Dekstran Sodyum Sülfat (DSS) ile indüklenen fare modelinde, tedavinin klinik semptomları (Diffüz Aksonal Hasar

(DAI), kolon kısılması) iyileştirdiği, proinflamatuvar sitokinleri azalttığı ve bağırsak bariyer fonksiyonunu artırdığı gözlemlenmiştir. Ayrıca, Firmicutes artışı ve Proteobacteria/Bacteroidetes azalmasıyla mikrobiyota dengesinin restore edildiği tespit edilmiştir (Wei & ark., 2024: 2300643).

Hünnapın Dünya ve Türkiye'deki Yayılışı

Hünnap ılıman iklim bitkisidir. Yabani olarak ya da bahçelerde yetişebilir. Soğuğa dayanıklıdır ancak çiçeklenme döneminde don olursa çiçekler zarar görebilir. Yeterli humus bulunduran kumlu, geçirgen ve nemli topraklarda yetiştirilmeye uygundur. Su isteği azdır, bol ışıklı yerleri sever ve özel bakım istemez (Gao & ark., 2013: 3351). Derine giden kazık köke sahiptir. Diğer meyve ağaçlarına göre büyümesi yavaştır. Kuraklığa dayanıklıdır. Az yağışlı kurak bölgelere daha uyumludur (Karıncalı, 2003: 32). Hünnapın tohumla ya da fidanla üretimi yapılabilir. Tohumda üretim daha zahmetlidir. Hünnap bitkisinin anavatanı Çin'in Yunnan eyaletidir. 7000 yıldan beri gıda ve tıbbi amaçlı kullanılmaktadır (Gozlekci & ark., 2019: 321). Bitki doğal olarak Rusya, Ortadoğu, Hindistan, Güney Avrupa ve Kuzey Afrika'da yayılış gösterir (şekil 2).

şekil 2 Z. jujuba'nın dünyadaki yayılışı



Kaynak: (GBIF, 2025)

Türkiye’de Güney ve Batı Anadolu’da kültürü yapılır; Isparta, Hatay, İskenderun, Antalya, Bursa, Kayseri, Çanakkale, İstanbul, Tekirdağ, Sinop ve Aydın illeridir. Hünnap Denizli’de ise doğal olarak yetişir (Davis, 1967: 524; Karıncalı, 2003: 4; Kavas & Dalkılıç, 2015: 58).

Ekonomik Önemi ve Kullanım Alanları

Hünnap, son yıllarda ekonomik değeri ve kullanım alanları giderek artan bir meyve türüdür. Türkiye’de özellikle Denizli, Isparta, Antalya ve Aydın gibi illerde yetiştiriciliği yapılmaktadır. Meyvenin taze tüketiminin yanı sıra kurutulmuş hali de yaygın olarak tercih edilmektedir. Gıda endüstrisinde reçel, marmelat, meyve suyu ve çay üretiminde kullanılmaktadır. Ayrıca, zengin besin içeriği nedeniyle fonksiyonel gıda olarak da değerlendirilmektedir (Hürkan, 2019: 1278). Hünnap, geleneksel tıpta öksürük kesici, laksatif ve tansiyon düşürücü olarak kullanılmaktadır. Modern farmakolojide ise antioksidan, antienflamatuar ve antimikrobiyal özellikleri nedeniyle ilgi görmektedir. Kozmetik sektöründe cilt bakım ürünlerinde kullanılmaya başlanmıştır (Kavas & Dalkılıç, 2015: 65).

Ekonomik açıdan, hünnap yetiştiriciliği küçük ölçekli çiftçiler için alternatif bir gelir kaynağı oluşturmaktadır. 2023 yılı verilerine göre, Türkiye’de hünnap üretimi yaklaşık 5000 tona ulaşmıştır. İhracat potansiyeli de giderek artmakta, özellikle Avrupa ülkelerine kurutulmuş hünnap ihracatı yapılmaktadır (TÜİK, 2024). Üretim teknolojileri olarak modifiye edilmiş aljinattan üretilen boncuklar, hünnap ekstresini enkapsüle etmek için kullanılmış ve bu boncukların fizikokimyasal, morfolojik, termal ve yapısal özellikleri araştırılmıştır. Sonuçlar, modifiye edilmiş aljinattan yapılan boncukların, modifiye edilmemiş olanlara kıyasla daha iyi enkapsülasyon verimi ve stabilite gösterdiğini ortaya koymuştur

(Farahani & ark., 2024: 3987). Zirai mücadele ise, *Z. jujuba* bitkisinde *Metcalfa pruinosa* zararlısının tespiti için YOLOv5 model serisi kullanmaktadır. Farklı YOLOv5 modellerini (YOLOv5n, YOLOv5s, YOLOv5m ve YOLOv5l) karşılaştırmış ve YOLOv5l modelinin en yüksek doğruluk oranının sağladığı araştırma sonucu bulunmuştur. Sonuçlar, YOLOv5l modelinin *M. pruinosa* zararlısının tespiti için etkili bir araç olabileceğini göstermektedir (Erdinç & Erdoğan, 2024: 797). Gelecekte, hünnapın farmakolojik özelliklerinin daha detaylı araştırılması ve yeni kullanım alanlarının keşfedilmesi beklenmektedir. Bu durum, bitkinin ekonomik değerini ve üretimini daha da artırabilir.

Sonuç ve Öneriler

Hünnap bitkisinin botanik özellikleri, kimyasal bileşenleri, fitokimyasal ve farmakolojik özellikleri ile dünya ve Türkiye'deki yayılışı kapsamlı şekilde ele alınmıştır. Yapılan *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar, hünnapın antialerjik, antikomplement, antiplatelet, antimikrobiyal, antioksidan, antienflamatuar, antihiperglisemik, hepatoprotektif ve antiobezitik etkilerini ortaya koymuştur (Hürkan, 2019: 1271).

Hünnap meyvesinin içeriğindeki tıbbi öneme sahip alkaloidler, glikozitler, flavonoidler ve terpenoidler, bitkinin farmakolojik özelliklerinin temelini oluşturmaktadır. Özellikle yüksek miktarda askorbik asit, proantosiyanidinler ve fenolik bileşikler içermesi, hünnapı güçlü bir doğal antioksidan kaynağı haline getirmektedir. *Z. jujuba*'nın besleyici özellikleri de dikkat çekicidir. C vitamini, fenolik bileşikler ve polisakkaritler açısından zengin olan hünnap, son yıllarda popülerliği artan bir fonksiyonel gıda haline gelmiştir (Çıtlı & ark., 2022: 51). Bu durum, hünnap üretimi ve tüketimi talebinin artmasına yol açmıştır.

Türkiye'de Denizli başta olmak üzere Isparta, Hatay, Antalya, Bursa, İstanbul, Tekirdağ ve Sinop gibi illerde yayılış gösteren

hünnap, ülkemizde henüz ilaç kaynağı olarak kullanılmamaktadır. Oysa diyabet, karaciğer hastalıkları ve kanser gibi önemli sağlık sorunlarında potansiyel etkileri olduğu gösterilmiştir (Hürkan, 2019: 1272).

Öneriler:

1. Hünnap bitkisinin farmakolojik etkilerini doğrulamak için daha fazla klinik çalışma yapılmalıdır.
2. Bitkinin farklı kısımlarının (meyve, yaprak, kabuk, tohum) spesifik hastalıklardaki etkinliği ayrı ayrı incelenmelidir.
3. Hünnapın geleneksel kullanımları modern bilimsel yöntemlerle desteklenmelidir.
4. Türkiye'de yetişen hünnap türlerinin fitokimyasal profili çıkarılmalı ve diğer ülkelerdeki türlerle karşılaştırılmalıdır.
5. Hünnap bazlı fonksiyonel gıda ve nutrasötik ürünlerin geliştirilmesi için Ar-Ge çalışmaları teşvik edilmelidir.
6. Bitkinin potansiyel toksisitesi ve ilaç etkileşimleri konusunda kapsamlı araştırmalar yapılmalıdır.

Sonuç olarak, hünnap bitkisinin tıbbi potansiyelinin tam olarak değerlendirilebilmesi için daha fazla bilimsel araştırmaya ihtiyaç vardır. Bu çalışmalar, hünnapın modern tıpta güvenli ve etkili bir şekilde kullanılmasının önünü açabilir.

Kaynakça

Al-Reza, S. M., Bajpai, V. K., & Kang, S. C. (2009). Antioxidant and antilisterial effect of seed essential oil and organic extracts from *Ziziphus jujuba*. *Food and Chemical Toxicology*, 47(9), 2374–2380. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.06.033>

Anbarasi, B., & Brindha, P. (2013). Hypoglycemic and hypolipidemic effects of *Ziziphus jujuba* Lam. In streptozotocin-induced diabetic rats. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 4, 611–616.

Anşın, R., & Özkan, Z. (1997). *Tohumlu Bitkiler: (Spermatopyta) Odunsu Taksonlar*. Trabzon: Karadeniz Teknik Üniversitesi Basımevi.

Bahrami, S., Babaei, N., Ghaleh, H. E. G., Borazjani, J. M., & Farzanehpour, M. (2024). Anti-inflammatory activity of *Ziziphus jujuba* hydroalcoholic extract in acetic acid-induced ulcerative colitis model. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 21(4), 481–489. <https://doi.org/10.1515/jcim-2024-0178>

Chang, S. C., Hsu, B. Y., & Chen, B. H. (2010). Structural characterization of polysaccharides from *Ziziphus jujuba* and evaluation of antioxidant activity. *International Journal of Biological Macromolecules*, 47(4), 445–453. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2010.06.010>

Chen, C. F., Lee, J. F., Wang, D., Shen, C. Y., Shen, K. L., & Lin, M. H. (2010). Water Extract of *Ziziphus jujuba* Attenuates Ischemia/Reperfusion-Induced Liver Injury in Rats (PP106). *Transplantation Proceedings*, 42(3), 741–743. <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2010.03.020>

Chianese, A., Mushtaq, H., Nastri, B. M., Morone, M. V., Giugliano, R., Khan, H., ... De Filippis, A. (2024). Getting insights into chemical composition and antiherpetic capability of jujube

(*Ziziphus jujuba* mill.) drupes. *Heliyon*, 10(17), e37037.
<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e37037>

Choi, S.-H., Ahn, J.-B., Kozukue, N., Levin, C. E., & Friedman, M. (2011). Distribution of Free Amino Acids, Flavonoids, Total Phenolics, and Antioxidative Activities of Jujube (*Ziziphus jujuba*) Fruits and Seeds Harvested from Plants Grown in Korea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(12), 6594–6604.
<https://doi.org/10.1021/jf200371r>

Çıtıl, R., Sorhan, S., Önder, Y., & Eğri, M. (2022). Fitoterapide gelecek vadeden bir drog; Hünnap (*Ziziphus jujuba* Mill.). *Bütünleyici ve Anadolu Tıbbı Dergisi*, 3(2), 51–62.
<https://doi.org/10.53445/batd.1031042>

Daneshmand, F., Zare-Zardini, H., Tolueinia, B., Hasani, Z., & Ghanbari, T. (2013). Crude extract from *Ziziphus jujuba* fruits, a weapon against pediatric infectious disease. *Iranian Journal of Pediatric Hematology and Oncology*, 3(1), 216–221.

Davis, P. (1967). *Ziziphus* Mill. In *Flora of Turkey and the East Aegean Islands* (Vol. 2, p. 524). Edinburgh: Edinburgh University Press.

Deligöz, A., Gültekin, H., Yıldız, D., Gültekin, Ü., & Genç, M. (2007). Karaçalı (*Paliurus spina-christi* Mill.) ve Hünnap (*Ziziphus jujuba* Mill.) Tohumlarının Çimlendirilmesi Üzerine GA3, Çitlatma ve Ekim Zamanının Etkileri. *Turkish Journal of Forestry*, 8(2), 51–60.

Ecevit, M. F., Hallaç, F., & Dilmaçunal, T. (2002). Denizli ili Çivril İlçesi Gümüşsü Yöresinde Yetişmekte Olan Ünnap (*Ziziphus jujuba* Mill.)'ın Seleksiyon Yoluyla Islahı Üzerinde Araştırmalar. *TÜBİTAK TOGTAGTARP-1988, Ankara*, 42.

Erdinç, A., & Erdoğan, H. (2024). Detection of the Metcalfa pruinosa (Hemiptera: Flatidae) pest on the Jujube plant (*Ziziphus*

jujuba) using a sequence of YOLOv5 models. *Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences*, 11(3), 797–806. <https://doi.org/10.30910/turkjans.1475954>

Farahani, Z. K., Mousavi, M. A. E., Ardebili, M. S., Bakhoda, H., Nafchi, A. M., & Paidari, S. (2024). Chemical modification of Na-alginate by octenyl succinic anhydride and its complex with whey protein isolate to encapsulate jujube extract: Physicochemical, morphological, thermal and structural properties. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 18(6), 3987–3999. <https://doi.org/10.1007/s11694-024-02470-5>

Ganachari, M. S. S., Kumar, S., & Alagawadi, K. R. (2007). Anti-Obese Activity of *Ziziphus jujuba* Lam Leaves Extract in Dietary Obese Rats. *Journal of Natural Remedies*, 102–108. <https://doi.org/10.18311/jnr/2007/201>

Gao, Q.-H., Wu, C.-S., & Wang, M. (2013). The jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) fruit: A review of current knowledge of fruit composition and health benefits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(14), 3351–3363. <https://doi.org/10.1021/jf4007032>

Gao, Q.-H., Wu, P.-T., Liu, J.-R., Wu, C.-S., Parry, J. W., & Wang, M. (2011). Physico-chemical properties and antioxidant capacity of different jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) cultivars grown in loess plateau of China. *Scientia Horticulturae*, 130(1), 67–72. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.06.005>

GBIF. (2025). *Ziziphus jujuba* Mill. Retrieved March 23, 2025, from The Global Biodiversity Information Facility website: <https://www.gbif.org/species/3039423>

Gozlekci, S., Adak, N., & Tozlu, I. (2019). Influence of seed pre-treatments on seed germination and early seedling developments of jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.). *Acta Horticulturae*, (1242), 321–326. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2019.1242.45>

Hernández, F., Noguera-Artiaga, L., Burló, F., Wojdyło, A., Carbonell-Barrachina, Á. A., & Legua, P. (2016). Physico-chemical, nutritional, and volatile composition and sensory profile of Spanish jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) fruits. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(8), 2682–2691. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7386>

Hürkan, Y. K. (2019). Hünnap (*Ziziphus jujuba* Mill.) Meyvesi: Geçmişten Günümüze Tıbbi Önemi. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 9(3), 1271–1281. <https://doi.org/10.21597/jist.524818>

Ji, X., Hou, C., Yan, Y., Shi, M., & Liu, Y. (2020). Comparison of structural characterization and antioxidant activity of polysaccharides from jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) fruit. *International Journal of Biological Macromolecules*, 149, 1008–1018. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.02.018>

Karınca, M. (2003). *Ziziphus jujuba* Mill. (Hünnap) Bitkisinin Morfolojik, Anatmik, Ekolojik ve Polen Özelliklerinin Araştırılması (Yüksek Lisans Tezi). Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Kavas, İ., & Dalkılıç, Z. (2015). Bazı hünnap genotiplerinin morfolojik, fenolojik ve pomolojik özelliklerinin belirlenmesi ve melezleme olanaklarının araştırılması. *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 12(1), 57–72.

Korkut, S., Hişmioğulları, Ş. E., & Hismioğulları, A. A. (2022). Hünnap (*Ziziphus jujuba*) meyvesinin biyolojik etkinliği ve kimyasal bileşimi. *Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi*, 11(Supplement 1), 44–50. <https://doi.org/10.53424/balikesirsbd.1159940>

Li, J., Ding, S., & Ding, X. (2005). Comparison of antioxidant capacities of extracts from five cultivars of Chinese

Jujube. *Process Biochemistry*, 40(11), 3607–3613.
<https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.03.005>

Mengjun, L. (2003). Genetic Diversity of Chinese Jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.). *Acta Horticulturae*, 623, 351–355.
<https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2003.623.40>

Naik, S. R., Bhagat, S., Shah, P. D., Tare, A. A., Ingawale, D., & Wadekar, R. R. (2013). Evaluation of anti-allergic and anti-anaphylactic activity of ethanolic extract of *Ziziphus jujuba* fruits in rodents. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 23, 811–818.
<https://doi.org/10.1590/S0102-695X2013000500014>

Omid, B. R. (1997). *Approach the production and processing plants* (Vol. 1). Tehran, Iran: Tarahan Publisher.

Pareek, S. (2013). Nutritional composition of jujube fruit. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 463–470.
<https://doi.org/10.9755/ejfa.v25i6.15552>

Parhizkary, M., Jafari, S. M., Assadpour, E., Enayati, A., & Kashiri, M. (2024). Pea protein-coated nanoliposomal encapsulation of jujube phenolic extract with different stabilizers; characterization and in vitro release. *Food Chemistry: X*, 23, 101771.
<https://doi.org/10.1016/j.fochx.2024.101771>

Popstoyanova, D., Gerasimova, A., Gentscheva, G., Nikolova, S., Gavrilova, A., & Nikolova, K. (2024). *Ziziphus jujuba*: Applications in the Pharmacy and Food Industry. *Plants*, 13(19), 2724. <https://doi.org/10.3390/plants13192724>

Reichl, L. (1991). Uncommon Fruits Worthy of Attention. A Gardener's Guide. AddisonWesley. Reading, MA. (pp. 139-146).

Seo, E. J., Lee, S. Y., Kang, S. S., & Jung, Y. (2013). *Ziziphus jujuba* and its Active Component Jujuboside B Inhibit Platelet Aggregation. *Phytotherapy Research*, 27(6), 829–834.
<https://doi.org/10.1002/ptr.4809>

Serce, S., & Özgen, M. (2016). Physical, Chemical, and Antioxidant Properties of Jujube Fruits from Turkey. In *Chinese Dates: A Traditional Functional Food* (pp. 199–204). <https://doi.org/10.1201/b20025-14>

Sun, Y.-F., Liang, Z.-S., Shan, C.-J., Viernstein, H., & Unger, F. (2011). Comprehensive evaluation of natural antioxidants and antioxidant potentials in *Ziziphus jujuba* Mill. Var. *Spinosa* (Bunge) Hu ex HF Chou fruits based on geographical origin by TOPSIS method. *Food Chemistry*, 124(4), 1612–1619. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.08.026>

Suwasanti, N., Tedyanto, C. P., Sutandhio, S., & Sucipto, T. H. (2024). In Vitro Antiviral Activity of Dried Red Jujube Fruit (*Ziziphus jujuba*) Ethanol Extract against DENV-2. *Pharmacognosy Journal*, 16(5), 1047–1050. <https://doi.org/10.5530/pj.2024.16.169>

TÜİK. (2024). Bitkisel Üretim İstatistikleri. Retrieved March 24, 2025, from <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr>

Wei, X., Ma, N., Yang, W., Tian, J., Liu, H., & Fang, H. (2024). Polyphenol Extracts from *Ziziphus jujuba* Mill. “Junzao” Attenuates Ulcerative Colitis by Inhibiting the NLRP3 and MAPKs Signaling Pathways and Regulating Gut Microbiota Homeostasis in Mice. *Molecular Nutrition & Food Research*, 68(8), 2300643. <https://doi.org/10.1002/mnfr.202300643>

World Health Organization. (2001). Fructus Zizyphi. In *WHO monographs on selected medicinal plants* (Vol. 3, pp. 359–369). Ottawa: World Health Organization (WHO).

Yamada, H., Nagai, T., Cyong, J.-C., Otsuka, Y., Tomoda, M., Shimizu, N., & Shimada, K. (1985). Relationship between chemical structure and anti-complementary activity of plant polysaccharides. *Carbohydrate Research*, 144(1), 101–111.

Yoshikawa, M., Murakami, T., Ikebata, A., Wakao, S., Murakami, N., Matsuda, H., & Yamahara, J. (1997). Bioactive saponins and glycosides. X. On the constituents of Zizyphi Spinosi Semen, the seeds of *Ziziphus jujuba* MILL. var. spinosa HU (1): Structures and Histamine release-inhibitory effects of jujubosides A1 and C and acetyljujuboside B. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 45(7), 1186–1192.

Yu, L., Jiang, B. P., Luo, D., Shen, X. C., Guo, S., Duan, J. A., & Tang, Y. P. (2012). Bioactive components in the fruits of *Ziziphus jujuba* Mill. Against the inflammatory irritant action of Euphorbia plants. *Phytomedicine*, 19(3–4), 239–244. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2011.09.071>

BÖLÜM 5

***HERZOGIELLA SELİGERİ* VE *CAMPYLIADELPHUS* *CHRYSTOPHYLLUS* (BRYOPHYTA) TÜRLERİNİN BİYOAKTİF BİLEŞİKLERİ VE ANTİOKSİDAN KAPASİTELERİ**

YELİZ ÇAKIR SAHİLLİ¹

MEVLÜT ALATAŞ²

Giriş

Briyofitler; tür sayısı, coğrafi yayılım ve habitat seçimi bakımından kapalı tohumlulardan sonraki en başarılı karasal bitki grubudur (Glime, 2017: 1). Tohumlu bitkilerin gelişemediği kuru ağaç kabukları, çıplak kaya yüzeyleri ve toprak üzeri gibi ortamlarda yetişebilmeleri açısından farklı ekolojik toleranslara sahiptirler (Richardson, 1981: 1). Yaşamları boyunca biyotik stres de dahil olmak üzere olumsuz iklim koşullarına maruz kalmalarına rağmen hayatta kalabilmektedirler (Whitehead & ark., 2018: 1). Bu etkileşimler, hayatta kalma stratejisi olarak çeşitli ikincil metabolitlerin üretiminde/evriminde ayrılmaz bir rol oynamış olmalıdır (Chen & ark., 2018: 210).

¹ Doç. Dr., Munzur Üniversitesi, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Orcid No: 0000-0003-1905-5506

² Prof. Dr., Munzur Üniversitesi, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Orcid No: 0000-0003-0862-0258

Briyofitlerin biyoaktif bileşiklerin kaynağı olarak kullanımı, küçük boyutları ve dolayısıyla daha düşük biyokütleleri nedeniyle uzun süre ihmal edilmiştir (Asakawa, 1981: 123). Ancak çalışmalar karayosunları ve ciğerotlarının, milyonlarca yıllık evrimi boyunca geliştirdikleri savunma sistemiyle bağlantılı olan ikincil bileşiklerin zengin bir kaynağı olduğunu göstermektedir. Saha gözlemleri, briyofitlerin nadiren patojenler tarafından saldırıya uğradığını göstermektedir. Bu da, bu saldırıları önleyen ikincil metabolitlere sahip bir kimyasal metabolizmanın varlığını düşündürmektedir (Xie & Lou, 2009: 303). Briyofitlerde, savunma mekanizması olarak anatomik bariyerler daha az etkilidir. Daha etkili bir mekanizma olarak ise sözde "kimyasal bariyer" olarak adlandırılan belirli moleküllerin sentezini kullanırlar (Asakawa, 2007: 557). Etkili fenotipik esneklik, kurumaya karşı yüksek toleransı ve aşırı ortamlara karşı direnciyle kanıtlanan yapısal özellikleri de, bu bitki grubunu oldukça biyoaktif hale getirir (Xie & Lou, 2009: 303).

Briyofitler, biyolojik olarak aktif bileşenlerin zengin bir birikimini oluşturur. Son yıllarda, briyofitlerden 400'den fazla yeni kimyasal bileşik izole edilmiş ve yapısal olarak aydınlatılmıştır (Asakawa & ark., 2013: 1). Bazı briyofit türleri; kardiyovasküler hastalıklar, akciğer hastalıkları, cilt hastalıkları, enfeksiyonlar ve yaralar dahil olmak üzere farklı hastalıkları tedavi etmek için kullanılırlar. Özellikle ciğerotları ve karayosunlarında antifungal, antibakteriyel ve antiviral ve antioksidan potansiyeli test eden çalışmalar yürütülmüştür (Wu & ark., 2008: 1478; Van Hoof & ark., 1981: 223; Singh & ark., 2006: 67). Ayrıca, briyofitler; terpenoitler, fenolikler, glikozitler, yağ asitleri ve bazı nadir aromatik bileşikler gibi son derece yüksek miktarda ikincil metabolitlere de sahiptir. (Castaldo-Cobianchi & ark., 1988: 303; Sabovljević & ark., 2011: 565; Asakawa & ark., 2013: 1; Martínez-Abaigar & Núñez-Olivera, 2021: 1; Marques & ark., 2021: 1). Briyofitler, aynı zamanda patojenik mikroorganizmalara karşı etkili antibakteriyel ve antifungal aktiviteye sahip alkaloitler, flavonoitler, biflavonoitler ve izoflavonoitler gibi biyoaktif fitokimyasallarında yapısında bulunurlar (Deepti, 2016: 11; Kadam, 2017: 405). Kemo-çeşitliliğin yanı sıra, briyofitler antimikrobiyal, antipiretik, antiviral, nörotrofik, kardiyotonik, antiobezite, antioksidan, anti-HIV, sitotoksik, kas

gevşetici vb. gibi terapötik bir madde olarak da potansiyel göstermiştir (Asakawa & Ludwiczuk, 2018: 641; Ludwiczuk & Asakawa, 2019: 1; Martínez-Abaigar & Núñez-Olivera, 2021: 1). Dahası, briyofitlerin uçucu fenolik türevleri antioksidan görevi görür ve bu nedenle de dejeneratif hastalıkları ve yaşlanmayı önlemede sağlık açısından destekleyici bir etkiye sahip olabilir (Sahilli & Alataş, 2024: 152). Yine, bazı karayosunlarının [*Fissidens japonicus* Dozy & Molk. ve *Rhodobryum giganteum* (Schwägr.) Paris] tadı tatlıyken diğerleri kapsaisin gibi yanma hissi verir. Ayrıca, B₂ ve E vitaminlerinin varlığı, briyofitlerin nutrasötik bir madde olarak olası kullanımını vurgulamaktadır (Asakawa & Ludwiczuk, 2018: 641).

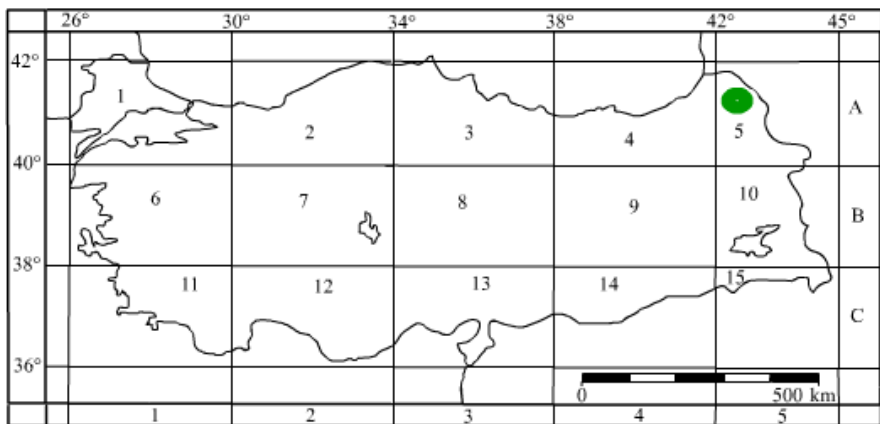
Bu önemli veriler ve bilgiler ışığında yapılan bu çalışmada, Artvin ili, Karçal Dağlar'ından toplanan *Herzogiella seligeri* (Brid.) Z.Iwats. ve *Campyliadelphus chrysophyllus* (Brid.) R.S.Chopra. karayosunu türlerinin biyoaktif bileşikleri ve antioksidan potansiyelleri araştırılmıştır.

Materyaller ve Yöntemler

Araştırmanın materyalleri, *Herzogiella seligeri* ve *Campyliadelphus chrysophyllus* Artvin ili Karçal Dağları'ndan toplanmıştır. Örneklerin alındığı bu lokaliteler, Türkiye kareleme sistemine göre A5 karesi içerisinde bulunmaktadır (Henderson, 1961: 263; Tablo 1, Şekil 1).

Tablo 1. Lokalitelere ait bilgiler

Lokalite No	Yükseklik (m)	Tarih	GPS Kaydı	Lokalite
<i>C. chrysophyllus</i>	846	27.05.2022	(37T) 0735981D, 4569823K	Bakırköy
<i>H. seligeri</i>	1550	29.05.2022	(37T) 0744667D, 4579143K	Çermik Balcı Yaylası Arası



● Çalışma Alanı

Şekil 1. Henderson (1961) Türkiye kareleme sistemine göre araştırma bölgesinin konumu.

Toplanan örnekler, teşhis edildikten sonra iyice yıkanıp, kurutularak ince toz haline getirildi. Her bir örnek (1 g) havan ve havaneli kullanılarak %95 metanol ile homojenize edildi ve 48 saat boyunca orbital çalkalayıcıda tutuldu. Daha sonra, her bir ekstrakt 10.000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildi. Her bir örneğin süpernatantı toplandı ve daha sonra kullanılmak üzere 4 °C'de saklandı.

Toplam fenolik içerik

Toplam fenolik içerik (TPC) Vats (2016) tarafından tarif edildiği şekilde değerlendirildi. Metanolik ekstrakt (0.125 ml) aynı miktarda Folin-Ciocalteu reaktifi ile karıştırıldı. Daha sonra sodyum karbonat (%7) eklenmiş ve reaksiyon karışımı distile su ile seyreltilti. Test tüpleri daha sonra 90 dakika inkübe edildi ve absorbans 760 nm'de kaydedildi. Sonuç, mg Gallik asit eşdeğeri GAE/g numunenin kuru ağırlığı olarak ifade edildi.

Toplam flavonoid içeriği

Toplam flavonoid içeriği (TFC) alüminyum klorür yöntemine göre belirlendi (Vats, 2016: 504). Bitki ekstraktına sırayla

etanol (%95), alüminyum klorür (%10), potasyum asetat (1 M) ve damıtılmış su eklendi. Reaksiyon karışımı oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edilip ve 415 nm'de absorbansı alındı. Sonuç, Quercetin eşdeğerleri olarak mg QE/g numunenin kuru ağırlığı cinsinden ifade edildi.

Askorbik asit içeriği

Kurutulmuş ve ince toz haline getirilen örnekler 10 ml ekstraksiyon çözeltilisinde (1,39 N asetik asit içinde %3 metafosforik asit) 5 dakika boyunca maserasyona tabi tutuldu. Daha sonra, çözeltiler santrifüjlendi ve her bir tüpteki süpernatantlar, belirgin bir pembe renk 5 dakikadan daha uzun süre devam edene kadar indofenol çözeltilisine karşı ayrı ayrı titre edildi ve kör ile karşılaştırıldı. Askorbik asit içeriği A.O.A.C. yönteminde tarif edildiği şekilde hesaplandı (A.O.A.C., 1990: 1).

Karotenoid içeriği

Metanolik bitki ekstraktı bir ayırma hunisinde petrol ile karıştırıldı. Eter tabakası toplanıp, vakumda buharlaştırıldı. Kalıntı etanolde çözülüp, %60 sulu KOH ile karıştırılarak bir gece bekletildi. Ayrıca, eşit miktarda su ilave edilip petrol eteri ile iki kez bölündü. Faz toplanıp, buharlaştırıldı. Kalıntı 450 nm'de spektrofotometrik tahmin için etanol içinde çözüldü. Karotenoid içeriği de Carvalho ve diğerleri (2012: 337) tarafından önerildiği şekilde hesaplandı.

Ferrik indirgeyici/antioksidan güç deneyi

Ferrik indirgeyici/antioksidan güç (FRAP) testi Vats ve Gupta'nın yöntemine göre gerçekleştirildi (2017: 239). Frap reaktifi 20 ml asetat tamponu (300 mM; pH3.6), 2.5 ml TPTZ (40 mM HCl içinde 10 mM 2, 4, 6-tripiridilstriazin) ve 2.5 ml FeCl₃.6H₂O karıştırılarak hazırlandı. Ayrıca, 50 µl ekstrakt 1,5 ml FRAP reaktifi ile karıştırıldı. Absorbans 5 dakika sonra 593 nm'de kaydedildi. Kalibrasyon için bilinen Fe (II) konsantrasyonunun sulu çözeltilisi kullanıldı.

Nitrik oksit süpürme deneyi

Nitrik oksit temizleme deneyi (NOSA) Badami ve arkadaşları (2003: 1534) tarafından önerildiği şekilde belirlendi. Sodyum nitroprussid (10 mM) 0,5 ml fosfat tampon salin (1 M; pH 7,4) içinde 0,5 ml ekstrakt ile karıştırıldı. Karışım 25 ° C'de 150 dakika boyunca inkübe edildi. Reaksiyon karışımına (0,5 ml) sülfanilik asit reaktifi (1 ml) ve ardından %0,1 naftiletilediamindihidroklörür (1 ml) eklenmiş ve oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildi. Absorbans 540 nm'de ölçüldü. Nitrik oksit radikal süpürme aktivitesi hesaplandı ve IC50 (µg/ml) olarak ifade edildi.

Deoksiriboz bozunma aktivitesi

Deoksiriboz parçalanma aktivitesi (DDA) Halliwell ve arkadaşları (1987: 215) tarafından önerilen yöntemle belirlendi. 100 µL 2-deoksi-2-riboz (28 mM), 200 µl EDTA (1,04 mM) ve FeCl₃ (200 µM) çözeltisi (1:1 v/v) ve 100 µl H₂O₂ (1 mM) ve 100 µl askorbik asit (1 mM), test numunesinin çeşitli konsantrasyonlarının potasyum fosfat tamponundaki (50 mM; pH = 7,4) 500 µL çözeltisi ile karıştırıldı. Reaksiyon karışımı 1 saat boyunca 37 °C'de tutuldu. Ayrıca, 1 ml TBA (%1) ve 1 ml TCA (%2,8) test tüplerine eklendi ve 20 dakika boyunca 100 °C'de inkübe edildi. Son olarak, absorbans deoksiriboz ve tampon içeren bir köre karşı 532 nm'de ölçüldü. Sonuçlar IC50 (µg/ml) olarak ifade edildi.

Sonuçlar ve tartışma

TPC ve TFC

Fenolik bileşiklerin antioksidan potansiyeli nörodejeneratif, peptik ülser, diyabet, inflamasyon, kanser, kardiyak bozukluklar ve yaşlanma gibi çok çeşitli hastalıklara karşı iyi bir şekilde araştırılmıştır. Fenoliklerin insan sağlığı üzerindeki çeşitli etkileri temel olarak serbest radikalleri temizleme, redoks aktif metal iyonlarını şelatlama, gen ekspresyonunu düzenleme ve sinyal iletim yollarını modüle etme yeteneklerine bağlanmaktadır (Soobrattee &

ark., 2005: 200). Mevcut araştırmada, TPC *C. chrysophyllus* 'da 12.20 mg GAE/g kuru ağırlık, *H.seligeri* 'de ise 6 mg GAE/g kuru ağırlık olarak gözlenmiştir. (Tablo 2). Chobot ve arkadaşları (2006: 598) *D. scoparium*'da oldukça düşük bir TPC seviyesi (%3,8) bildirmiştir. Ayrıca, test edilen diğerkarayosunları, mevcut çalışmadaki bitkilere kıyasla daha az TPC ieriğinesahipti. *Bryum capillare* Hedw. bitkisinde TPC 23.26 mg/g olarak bulunmuştur (Onbasli & Yuvali, 2021: 478). Bazı raporlar, karayosunlarında mevcut çalışmaya kıyasla daha yüksek (Wang & ark., 2017: 1), bazılarında ise daha düşük TFC (Karim & ark., 2014: 292) bildirilmiştir.

Askorbik asit ve karotenoit içerikleri

Askorbik asit içeriğı *C. chrysophyllus* 'da (17,28 µg/g), *H.seligeri* 'de (9.6 µg/g) gözlenmiştir. (Tablo 2). Onbasli & Yuvali (2021: 478) *B. capillare*'de 1.87 µg/ml askorbik asit bildirmiştir. *B. moravicum* Podp. karayosununda askorbik asit içeriğı mg ekstrakt başına 84,56 µg olarak değerlendirilmiştir (Pejin & ark., 2013: 900). Askorbik asit temel bir vitamindir ve bu nedenle dışarıdan takviyesi kaçınılmaz hale gelir. Aynı zamanda birçok enzim için kofaktör görevi görür ve kolajen sentezinde, karaciğerkedetioksifikasyon sürecinde önemli bir rol oynar ve bağışıklık sistemini tetikler. Serbest radikalleri nötralize etmede etkilidir ve E vitaminini yeniden üretir, böylece singlet oksijen ve peroksil radikalini temizler (Percival, 1998: 54). Dahası, askorbik asit diferansiyel gen ifadesini etkileyerek DNA ve proteinlerin oksidasyon aracılı hasarını önlemeye yardımcı olur (Granger & Eck., 2018: 281). COVID-19'un yönetiminde C vitamininin olası kullanımı da bildirilmiştir (Quiles & ark., 2020: 1).

Öte yandan, karotenoit içeriğı *H. seligeri* ve *C. chrysophyllus* 'da birbirine yakın ve yüksek değerlendirilmiştir (>10 µg/g KA). (Tablo 2). *Fontinalis antipyretica* Hedw. bitkisinde karotenoit içeriğı 2,2 mg/g olarak bulunmuştur (De Carvalho & ark., 2019: 53). Karotenoitlerin A vitamininden daha iyi antioksidanlar olduğu bildirilmiştir. Kardiyovasküler ve nörolojik bozukluklar, kanser ve gözle ilgili bozukluklar gibi hastalıkların önlenmesinde

oldukça etkilidirler (Rao & Rao, 2007: 207). Tekli oksijenin en etkili temizleyicilerinden biri olan karotenoitler, DNA, protein ve lipitleri reaktif oksijen türlerinin olumsuz etkilerinden korur (Edge & ark., 1997: 189; Vats & Gupta, 2017: 239).

Tablo 2. Test edilen briyofitlerdeki çeşitli fitometabolitlerin miktarları.

Briyofitler	TCP ^a	TFC ^a	Askorbik asit ^b	Karotenoid ^b
<i>H. seligeri</i>	6.18± 0.56	0.38±0.05	9.6±0.35	11.56±0.12
<i>C. chrysophyllus</i>	12.20± 0.36	0.42±0.09	17.28±0.20	12.24±0.25

a TPC ve TFC değerleri (mg/g ± SD cinsinden ortalama değer) olarak verilmiştir.

b Askorbik asit ve karotenoid içeriği değerleri (ortalama değer µg/g ± SD) olarak verilmiştir.

Antioksidan testleri

FRAP değeri *C. chrysophyllus* 'da (612 µM) gözlenmiş, böylece güçlü bir antioksidan aktivite sergilenmiş, *H. seligeri* ' de ise (134 µM) olarak tespit edilmiştir (Tablo 3). Manoj ve Murugan (2012: 173) *Psychotria beddomei* ekstraktının FRAP değerini 496,8 ± 0,26 µmol FeSO₄/g kuru ağırlık olarak bildirmiştir. Beş karayosununun FRAP değeri (*Sphagnum cuspidatum* subsp. *subrecurvum* (Warnst.) A. Eddy, *Sphagnum cuspidatum* Ehrh. ex Hoffm., *Sphagnum junghuhnianum* Dozy & Molk, *Pogonatum cirratum* subsp. *fuscatum* (Mitt.) Hyvönen ve *Pogonatum cirratum* subsp. *macrophyllum* (Dozy & Molk.) Hyvönen) 5.63-13.74 mM aralığında bulunmuştur (Karim & ark., 2014: 292). FRAP değerleri, ekstrakttaki biyoaktiflerin ferrik iyonları etkili bir şekilde azalttığını ortaya koymaktadır. Dolayısıyla, bu bileşikler serbest radikallerin kararlı ürünlere dönüştürülmesine yardımcı olacak ve aynı zamanda serbest radikaller tarafından başlatılan zincirleme reaksiyonları engelleyecek potansiyel antioksidanlar olarak hizmet edebilir (Mitra, 2020: 243).

Tablo 3. Test edilen briyofitlerin antioksidan potansiyeli.

Briyofitler	NOSA (µg/ml)	DDA (µg/ml)	FRAP (µM)
<i>H. seligeri</i>	1056±6.85	870±2.56	134±25.32
<i>C. chrysophyllus</i>	1008±5.96	1036±3.22	612±24.06

Değerler ortalama ± SD olarak belirtilmiştir.

NOSA değeri *C. chrysophyllus* 'da ve *H. seligeri* 'de birbirine yakın; sırasıyla IC50: 1008 µg/ml, IC50: 1056 µg/ml olarak gözlenmiştir (Tablo 3). NOSA'da nitrit iyonları nitrik oksitin oksijen ile reaksiyonu sonucu oluşur (Badami & ark., 2003: 1534). NO önemli bir sinyal molekülüdür, ancak aşırı üretimi inflamasyon ve kanser gibi hastalıkların oluşumunda rol oynar (Ricciardolo & ark., 2004: 731). Ayrıca, NO'nun süperoksit anyonu ile reaksiyonu peroksinitrit üretir ve bu da doku sistemleri üzerinde kötü etkiye sahiptir (Halliwell, 1997: 44).

DDA antioksidan potansiyel *H. seligeri* 'de IC50: 870 µg/ml ve *C. chrysophyllus* 'da IC50: 1306 µg/ml (Tablo 3) göstermiştir. Hidroksil radikalleri belirli proteinlerdeki disülfid bağlarını azaltarak genel yapılarını olumsuz yönde etkiler. Bu durum kanser, nörolojik hastalıklar gibi çeşitli hastalıkların patojenitesini etkiler (Lipinski, 2011: 1). Askorbik asidin hidroksil radikallerini inhibe ettiği bildirilmiştir (Noda & ark., 1997: 35).

Mevcut araştırmada kullanılan metanolik ekstraktın flavonoidler, askorbat, pigmentler ve fenolik asitler gibi içerdiği bilinmektedir (Vats, 2016: 504). Bu düşük molekül ağırlıklı antioksidanlar serbest radikallerin potansiyel temizleyicileridir, reaktif oksijen türlerinin (ROS) olumsuz etkisini nötralize eder ve dolaylı olarak metalleri şelatlayarak oksidatif stresi önler. Ayrıca, enzimatik antioksidanların aksine, küçük boyutlu olan düşük molekül ağırlıklı antioksidanlar, hedeflerinin yakınında olmak için hücre zarından geçebilir. Flavonoidlerin antioksidan potansiyeli temel olarak serbest radikalleri stabilize etmeye yardımcı olan

aromatik hidroksil grubu ve C-H bağından kaynaklanmaktadır. Ayrıca, flavonoidler geçiş metal iyonlarını şelatlayabilir ve lipoksigenaz reaksiyonunun ilerlemesini engelleyebilir (Ross & Kasum, 2002: 19). Karotenoidler bir dizi konjuge çift bağa sahip bir polien omurgasına sahiptir. Bu karakteristik özellik, tekli moleküler oksijen ve peroksil radikallerini temizlemede yardımcı olan antioksidan potansiyeli kazandırır (Young & Lowe, 2018: 28). Askorbik asit, lipit radikaline bir elektron bağışlayarak hidrojen peroksit kaynaklı lipit peroksidasyonunu önler. Ayrıca, hücre membranlarında E vitamininin yenilenmesine yardımcı olur ve oksidan kaynaklı sitotoksiteyi önler (Yen & ark., 2002: 307).

Sonuç olarak, bu çalışmadaki briyofit ekstraktları antioksidan madde olarak önemli bir potansiyel göstermiştir. Elde edilen sonuçlar, özellikle ilaç, kozmetik ve gıda endüstrilerinde kullanılabilecek biyoaktif bileşiklerin daha fazla araştırılması gerektiğini vurgulamaktadır.

Kaynaklar

A.O.A.C. (1990) *Official Methods of Analysis*. 15th Edition, Association of Official Analytical Chemist, Washington DC.

Asakawa, Y. (1981). Biologically active substances obtained from bryophytes. *The Journal of the Hattori Botanical Laboratory*, 50, 123-42.

Asakawa, Y. (2007). Biologically active compounds from bryophytes. *Pure and Applied Chemistry*, 79(4), 557-80.

Asakawa, Y., & Ludwiczuk, A. (2018). Chemical constituents of bryophytes: structures and biological activity. *Journal of Natural Products*, 81(3), 641-660.

Asakawa, Y., Ludwiczuk, A., & Nagashima, F. (2013). *Chemical constituents of bryophytes: bio- and chemical diversity, biological activity, and chemosystematics*. Vienna, Austria: Springer-Verlag.

Badami, S., Moorkoth, S., Rai, S.R., Kannan, E., & Bhojraj, S. (2003). Antioxidant activity of *Caesalpinia sappan* heartwood. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 26(11), 1534-1537.

Castaldo-Cobianchi, R., Giordano, S., Basile, A., & Violante, U. (1988). Occurrence of antibiotic activity in *Conocephalum conicum*, *Mnium undulatum* and *Leptodictyum riparium* (Bryophytes). *Plant Biosystem.*, 122(5-6), 303-11.

Chen, F., Ludwiczuk, A., Wei, G., Chen, X., Crandall-Stotler, B., & Bowman, J.L. (2018). Terpenoid secondary metabolites in bryophytes: chemical diversity, biosynthesis and biological functions. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 37(2-3), 210-231.

Chobot, V., Kubicová, L., Nabbout, S., Jahodár, L., & Vytlačilová, J. 2006. Antioxidant and free radical scavenging activities of five moss species. *Fitoterapia*, 77(7-8), 598-600.

de Carvalho, L.M., Gomes, P.B., de Oliveira Godoy, R.L., Pacheco, S., do Monte P.H., de Carvalho J.L., Nutti, M.R., Neves, A.C., Vieira, A.C., & Ramos, S.R. (2012). Total carotenoid content, α -carotene and β -carotene, of landrace pumpkins (*Cucurbita moschata* Duch): a preliminary study. *Food Research International*, 47(2), 337-340.

Deepti, S. (2016). Quercetin- a flavonoid identified in bryophyte. *Journal of Harmonized Research in Pharmacy*, 5(1), 11-15

De Carvalho, R.C., Branquinho, C., & Da Silva, J.M. (2019). Desiccation rate affects chlorophyll and carotenoid content and the recovery of the aquatic moss *Fontinalis antipyretica* (Fontinalaceae). *Hattoria*, 10, 53-60.

Edge, R., McGarvey, D.J., & Truscott, T.G. (1997). The carotenoids as anti-oxidants-a review. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 41(3), 189-200.

Glime, J. M. (2017). *Bryophyte Ecology*. Michigan Technological University, Michigan, e-book.

Granger, M., & Eck, P. (2018). Dietary vitamin C in human health. *Advances in Food and Nutrition Research*, 83, 281-310.

Halliwell, B. (1997). Antioxidants and human disease: a general introduction. *Nutrition Reviews*, 55, 44-49.

Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., & Aruoma, O.I. (1987). Thedeoxyribose methods: a simple “test-tube” assay for determination of rate constants for reactions of hydroxyl radicals. *Analytical biochemistry*, 165(1), 215-219.

Henderson, D.M. (1961). Contribution to the Bryophyte Flora of Turkey: IV. *Notes from Royal Botanic Garden, Edinburgh*, 23, 263-278.

Kadam, P.S. (2017). Phytochemical screening and antibacterial activity of bryophytes. *International Journal of Life Sciences*, 5(3), 405-408.

Karim, F.A., Suleiman, M., Rahmat, A.S., & Bakar, M.A. (2014). Phytochemicals, antioxidant and antiproliferative properties of five moss species from Sabah, Malaysia. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences.*, 6, 292-297.

Lipinski, B. (2011). Hydroxyl radical and its scavengers in health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2011, 809696.

Ludwiczuk, A., & Asakawa, Y. (2019). Bryophytes as a source of bioactive volatile terpenoids-a review. *Food and Chemical Toxicology*, 132, 110649.

Manoj, G.S., & Murugan, K. 2012. Phenolic profiles, antimicrobial and antioxidant potentiality of methanolic extract of a liverwort, *Plagiochila beddomei* Steph. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 3(2), 173-183.

Marques, R.V., Guillaumin, A., Abdelwahab, A.B., Salwinski, A., Gotfredsen, C.H., Bourgaud, F., Enemark-Rasmussen, K., Miguel, S., & Simonsen, H.T. (2021). Collagenase and tyrosinase inhibitory effect of isolated constituents from the moss *Polytrichum formosum*. *Plants*, 10(7), 1271.

Martínez-Abaigar, J., & Núñez-Olivera, E. (2021). *Novel biotechnological substances from bryophytes*. In: Sinha RP, Häder DP, eds. *Natural bioactive compounds*. Cambridge, MA: Academic Press.

Mitra, A.K. (2020). Antioxidants: a masterpiece of mother nature to prevent illness. *Journal of Chemical Reviews*, 2(4), 243-256.

Noda, Y., Anzai, K., Mori, A., Kohno, M., Shinmei, M., & Packer, L. (1997). Hydroxyl and superoxide anion radical scavenging activities of natural source antioxidants using the computerized JES-FR30 ESR spectrometer system. *Biochemistry and Molecular Biology International*, 42(1), 35-44.

- Onbaşı, D., & Yuvali, G. (2021). In vitro medicinal potentials of *Bryum capillare*, a moss sample, from Turkey. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(1), 478-483.

Pejin, B., Bogdanovic-Pristov, J., Pejin, I., & Sabovljevic, M. (2013). Potential antioxidant activity of the moss *Bryum moravicum*. *Natural Product Research*, 27(10), 900-902.

Percival, M. 1998. Antioxidants. *Clinical Nutrition Insights*, 1098, 54-58.

Quiles, J.L., Rivas-García, L., Varela-López, A., Llopis, J., Battino, M., Sánchez-González, C. (2020). Do nutrients and other bioactive molecules from foods have anything to say in the treatment against COVID-19? *Environmental Research*, 191, 110053.

Rao, A.V., & Rao, L.G. (2007). Carotenoids and human health. *Pharmacological Research*, 55(3), 207-216.

Ricciardolo, F.L., Sterk, P.J., Gaston, B., & Folkerts, G. (2004). Nitric oxide in health and disease of the respiratory system. *Physiological Reviews.*, 84(3), 731-765.

Richardson, D.H.S. (1981). *The biology of mosses*. Edinburgh: Blackwell Sci. Publ., Oxford, London.

Ross, J.A., & Kasum, C.M. (2002). Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety. *Annual Review of Nutrition*, 22, 19-34.

Sabovljević, A., Soković, M., Glamočlija, J., Ćirić, A., Vujičić, M., Pejin, B., & Sabovljević, M. (2011). Bio-activities of

extracts from some axenically farmed and naturally grown bryophytes. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(4), 565-71.

Sahilli, Y.Ç., & Alataş, M. (2024). *Mnium hornum* Hedw. ve *Mnium lycopodioides* Schwägr. Türlerinin Biyoaktif Bileşikleri ve Antioksidan Kapasiteleri. *Anatolian Bryology*, 10(2), 152-157

Singh, M., Govindarajan, R., Nath, V., Rawat, A.K., & Mehrotra, S. (2006). Antimicrobial, wound healing and antioxidant activity of *Plagiochasma appendiculatum* Lehm. et Lind. *Journal of Ethnopharmacology*, 107(1), 67-72.

Soobrattee, M.A., Neergheen, V.S., Luximon-Ramma, A., Aruoma, O.I., & Bahorun, T. (2005). Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: mechanism and actions. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesi*, 579(1-2), 200-213.

Van Hoof, L., Vanden Berghe, D.A., Petit, E., & Vlietinck, A.J. (1981). Antibacterial and antiviral screening of Bryophyta. *Fitoterapia*, 52, 223-229.

Vats, S. 2016. Effect of initial temperature treatment on phytochemicals and antioxidant activity of *Azadirachta indica* A. Juss. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 178(3), 504-512.

Vats, S., & Gupta, T. 2017. Evaluation of bioactive compounds and antioxidant potential of hydroethanolic extract of *Moringa oleifera* Lam. from Rajasthan, India. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 23(1), 239-248.

Wang, X., Cao, J., Dai, X., Xiao, J., Wu, Y., & Wang, Q. (2017). Total flavonoid concentrations of bryophytes from Tianmu Mountain, Zhejiang Province (China): phylogeny and ecological factors. *PloS One*, 12(3), e0173003.

Whitehead, J., Wittermann, M., & Cronberg, N. (2018). Allelopathy in bryophytes-a review. *Lindbergia*, 41(1), 1097.

Wu, X.Z., Cheng, A.X., Sun, L.M., & Lou, H.X. (2008). Effect of plagiochin E, an antifungal macrocyclic bis (bibenzyl), on cell wall chitin synthesis in *Candida albicans*. *Acta Pharmacologica Sinica*, 29(12), 1478-85.

Yen, G.C., Duh, P.D., & Tsai, H.L. (2002). Antioxidant and pro-oxidant properties of ascorbic acid and gallic acid. *Food Chemistry*, 79(3), 307-313.

Young, A., & Lowe, G.L. (2018). Carotenoids-antioxidant properties. *Antioxidants*, 7(2), 28-31.

Xie, C.F., & Lou, H.X. (2009). Secondary metabolites in bryophytes: an ecological aspect. *Chemistry & Biodiversity*, 6(3), 303-12.

BÖLÜM 6

ELAZIĞ İLİ (TÜRKİYE) BRIYOFİT KONTROL LİSTESİ VE TÜRLERİN YAYILIŞLARI

MEVLÜT ALATAŞ¹

Giriş

Türkiye’de briyofitler (karayosunları, ciğerotları ve boynuzotları) ile ilgili çalışmalar, yabancı araştırmacılar tarafından başlatılmıştır (Tchihatcheff, 1860: 1; Juratzka & Milde, 1870: 589; Wettstein, 1889: 389; Barbey, 1890: 82; Schiffner, 1896: 274, 1897: 125; Fritsch, 1900: 219; Schiffner, 1903: 1, 1908; Penther & Zederbauer, 1905: 385; Bornmüller, 1908: 1, 1909: 440; Czeiczott, 1939: 1; Henderson & Muirhead, 1955: 29; Henderson, 1957: 189, 1958: 611, 1961a, 1961b: 263, 1964: 279; Jovet-Ast, 1957: 667; Walther, 1967: 129, 1970:167; Henderson & Prentice 1969: 235). 1980’li yıllardan itibaren ise briyofitler ile ilgili çalışmalar, ağırlıklı olarak yerel araştırmacılarla yapılmış ve hala yapılmaktadır.

Yapılan bu çalışmalar ile, ülkemize ait briyofit envanterinin belirlenmesi ve güncellenmesi adına ara ara ülkemizin belirli kısımlarını veya tamamını kapsayan kontrol listeleri yayınlanmıştır (Gökler & ark., 1986: 1; Çetin,1988a: 207, 1988b: 12; Uyar & Çetin, 2004: 203; Kürschner & Erdağ, 2005: 95; Özenoğlu Kiremit &

¹ Prof. Dr., Munzur Üniversitesi, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Orcid No: 0000-0003-0862-0258

Keçeli, 2009: 343; Abay & ark., 2009: 317, 2010: 394; Şahin & ark., 2009a: 604, 2009b: 620, Ursavaş & Abay, 2009: 33; Özdemir, 2009: 1; Ursavaş & ark., 2010: 392; Hazer, 2010: 1; Keçeli & ark., 2011: 14; Ros & ark., 2013: 99; ve Abay & ark., 2016: 386).

Elazığ ilinde briyofitler ile ilgili ilk kayıtlar Alataş ve arkadaşları (Alataş & ark., 2014: 148) tarafından verilmiştir. Bu ilk çalışmadan günümüze kadar, il’de floristik ve vejetasyon özelliğinde bir çok çalışma yapılmış (Alataş & Batan, 2015: 59, 2017: 31; Alataş & Ursavaş, 2019: 81; Ellis & ark., 2022: 87, Alataş & ark., 2023: 24 ve Alataş & ark., 2024: 1) olmasına rağmen briyofitler ile ilgili ilin envanterini ortaya koyacak herhangi çalışma yapılmamıştır.

Ülkemizde illere göre briyofit tür listelerinin sayısı sınırlıdır (Abay, 2014: 15, Abay & ark., 2016: 386; Özdemir & Batan, 2017a: 1, 2017b: 58). Ancak tür listeleri, biyoçeşitlilik çalışmaları ve korunması açısından en önemlisi bölgesel düzeydeki verilerdir (Abay & ark., 2016: 386). Bu nedenle yapılan bu çalışmada, Elazığ ilinde yapılan briyofloristik ve briyososyolojik araştırmalarda tespit edilen briyofit taksonları ile, Elazığ iline ait ilk kez briyofit kontrol listesi oluşturulması ve bu listedeki türlerin; Elazığ, Türkiye (Henderson (1961a: 263) kareleme sistemine göre) ve Dünya genelindeki yayılışlarının verilmesi hedeflenmiştir.

Elazığ ili Doğu Anadolu Bölgesi’nin güneybatısında, Yukarı Fırat Bölümü’nde yer almaktadır. Yüzölçümü 8.455 km² si kara, 826 km² si baraj ve doğal göl alanları olmak üzere toplam 9.281 km² dir. Denizden yüksekliği 1.067 metre olan Elazığ’ın, yeryüzü şekilleri açısından topraklarını dağlık alanlar, platolar ve ovalar oluşturmaktadır. Bu çerçevede içinde şekil olarak kabaca bir dikdörtgene benzeyen Elazığ ili topraklarının Doğu-Batı doğrultusundaki uzunluğu yaklaşık 150 km, Kuzey-Güney yönündeki genişliği ise yaklaşık 65 km civarındadır.

Henderson (1961a: 263) kareleme sistemine göre ise B9 karesi içerisinde bulunan Elazığ, İran-Turan fitocoğrafik bölgesinde yer almaktadır (Anşin, 1983: 2). Bitki vejetasyonu genelde orman alanının tahrip edilmesi ile oluşan sekonder bir vejetasyon olan bozuk orman vejetasyonudur. Yer yer seyrek meşe toplulukları ve alt florayı oluşturan step ekosisteminin temel türleri bulunmaktadır.

İl sınırları içindeki orman alanlarını, yörenin yarı kurak iklim şartlarına uymuş, kapalılığı zayıf, seyrek ve park görünümlü kuru ormanlar oluşturmaktadır. Bu orman formasyonunu meydana getiren ağaçlar, hemen her tarafa yayılmış meşeler (%95 oranında), bunlar arasına az oranda karışmış ardıçlar (%4) ile yabani kiraz, armut (*Pyrus communis* L.), badem (*Amygdalus communis* L.) gibi yabani meyve türleridir. Bu nedenle; yöredeki ormanları meşe ormanları olarak tanımlamak mümkündür (EÇDR, 2022: 62).

Geçmişte karasal iklimin hüküm sürdüğü Elazığ, yapılan ve yapılmakta olan barajların etkisi ile ılıman bir iklime geçiş yapmıştır. Bu sürecin sonucunda özellikle önceleri çok soğuk ve yoğun kar yağışlı geçen kışlar nispeten daha ılıman geçmektedir. İlde yıllık ortalama yağış miktarı 617 mm, yıllık ortalama sıcaklık ise 13,7 °C'dir. Yılın en sıcak ayı Ağustos, en soğuk ayı ise Ocak'tır (URL 1). Yıllık yağış rejim tipi IKSİY şeklinde olan alan, Yarı-Kurak Alt Çok Soğuk Akdeniz Biyoikliminin Doğu Akdeniz 2. Yağış Rejim Tipinin etkisi altında kalmaktadır (Akman, 2011: 1).

Yeni Kayıt

Karayosunlarından *Orthotrichum pamiricum* Plášek & Sawicki. Alataş ve arkadaşları tarafından Türkiye için yeni kayıt olarak verilmiştir (Ellis & ark., 2022: 87).

Materyal ve Metod

Bu kontrol listesi, Elazığ ilinde 2014 yılından günümüze kadar briyofitler üzerine yapılan taksonomik ve vejetasyon çalışmalarının (Alataş & ark., 2014: 148; Alataş & Batan, 2015: 59, 2017: 31; Alataş & Ursavaş, 2019: 81; Ellis & ark., 2022: 87, Alataş & ark., 2023: 24 ve Alataş & ark., 2024: 1) bir araya getirilmesiyle oluşturulmuştur. Bitki listelerinin hazırlanması sırasında, taksonların geçerli isim ve sinonimlik durumları için Hodgetts ve arkadaşları (2020: 1), Türkiye ve Dünya yayılışları ile ilgili ise Uyar & Çetin, 2004: 203; Kürschner & Erdağ, 2005: 95; Özenoğlu Kiremit & Keçeli, 2009: 343; Hazer, 2010: 1; Kürschner & Frey, 2020: 1; Alataş & Ursavaş, 2021: 53; Smith, 1996: 1 ve 2004: 1 eserlerinden yararlanılmıştır. Floristik listedeki taksonlar alfabetik sıraya göre

verilmiştir. Türkiye ve Elazığ ili için yeni olan takson tek yıldız (*) ile gösterilmiştir.

Sonuçlar

Elazığ ili için ilk kez oluşturulan briyofit kontrol listesi, 46 cinse ait 107 briyofit taksonu içermektedir. İl'de 68 lokalitede, tespit edilen 107 taksonun ikisi ciğerotu 105 tanesi ise karayosunudur. 44 cinse ait 105 karayosunu taksonunun 3'ü varyete diğerleri tür seviyesindedir. En fazla takson içeren karayosunu cinsleri, *Syntrichia* (10 adet), *Ptychostomum* ve *Orthotrichum* (9 adet), *Tortula*, *Grimmia* ve *Didymodon* (7 adet) ve *Brachythecium* (5 adet) dur. *Apopellia endiviifolia* ve *Pellia epiphylla* listede bulunan iki ciğerotu taksonu, *Orthotrichum pamiricum* ise Alataş ve arkadaşları tarafından Türkiye için yeni kayıt olarak verilen tek karayosunu türüdür.

Briyofitlerin Alfabetik Listesi ve Listedeki Türlerin Elazığ, Türkiye ve Dünya Genelindeki Yayılışları

Ciğerotları

Apopellia endiviifolia (Dicks.) Nebel & D. Quandt

Yayılışı: Elazığ (Palu (5)), Türkiye (A1, A2, A3, A4, A5, B6, B7, B9, C11, C12), Amerika, Avrupa, Cezayir, Çin, Fas, Hindistan, İzlanda, Japonya, Kafkasya, Kanada, Kore, Kamçatka, Madeira, Rusya, Tunus.

Pellia epiphylla (L.) Corda.

Yayılışı: Elazığ (Baskil (1)), Türkiye (A1, A2, A3, A4, C11, C12), Azor Adaları, Cezayir, Faroe Adaları, Grönland, Himalayalar, Kuzey Amerika, Madeira, Orta Avrupa, Tunus.

Karayosunları

Amblystegium serpens (Hedw.) Schimp.

Yayılışı: Elazığ (Baskil (1,2,9), Sivrice (7), Keban (1), Palu (3,4,10), Fırat Üniversitesi Kampüsü (1,2,6,9,10)), Türkiye (A1, A2, A3, A4, B6, B7, B8, B10, C11, C12, C13, C15), Avrupa, Azor Adaları, Cezayir, Ekvador, Faroe Adaları, Grönland, İzlanda, Japonya, Kafkas Dağları, Keşmir, Kuzey Amerika, Orta Asya, Meksika, Pakistan, Peru, Sibirya, Svalbard, Tazmanya, Tibet, Yeni Zelanda.

<i>Barbula unguiculata</i> Hedw.
Yayılışı: Elazığ (Sivrice (1,10,8), Palu (3), Fırat Üniversitesi Kampüsü (1,2,10)), Türkiye (A1, A2, A3, A4, A5, B6, B7, B10, C11, C12, C13), Amerika, Asya, Avrupa, Avustralya, Cezayir, Çin, Faroe Adaları, Honkong, İskandinavya, İzlanda, Kıbrıs, Japonya, Meksika, Orta ve Güney Afrika, Yeni Zelanda.
<i>Brachytheciastrum velutinum</i> (Hedw.) Ignatov & Huttunen.
Yayılışı: Elazığ (Baskil (2), Sivrice (10), Keban (8), Palu (3), Fırat Üniversitesi Kampüsü (4)), Türkiye (A1, A2, A3, A4, A5, B6, B7, B10, C11, C12, C13, C14), Avrupa, Cezayir, Fas, İran, İskandinavya, İzlanda, Japonya, Kafkaslar, Kıbrıs, Kuzey Amerika Kuzey Asya, Makaronezya.
<i>Brachythecium albicans</i> (Hedw.) Schimp.
Yayılışı: Elazığ (Baskil (5)), Türkiye (A1, A2, A3, A4, A5, B6, B7, C11, C12, C13), Avrupa, Azor Adaları, Avustralya, Faroe Adaları, Grönland, İzlanda, Kafkaslar, Kuzey Amerika, Madeira, Yeni Zelanda.
<i>Brachythecium glareosum</i> (Bruch ex Spruce) Schimp.
Yayılışı: Elazığ (Sivrice (2)), Türkiye (A2, A3, A4, B6, B8, C11, C12, C13), Avrupa, Çin, Fas, İzlanda, Japonya, Kafkasya, Kuzey Amerika, Kore, Rusya, Sibirya.
<i>Brachythecium mildeanum</i> (Schimp.) Schimp.
Yayılışı: Elazığ (Palu (4)), Türkiye (A1, A2, A3, A4, C11), Avrupa'da kuzeyde İskandinavya'ya Azor Adaları, Faroe Adaları, İzlanda, Kuzey ve Orta Asya, Kuzey Amerika.
<i>Brachythecium rivulare</i> Schimp.
Yayılışı: Elazığ (Baskil (1), Sivrice (8), Keban (4), Palu (4)), Türkiye (A1, A2, A3, A4, A5, B6, B7, B8, B9, B10, C11, C12, C13), Asia, Avrupa, Avustralya, Faroe Adaları, Grönland, Güney Amerika, İzlanda, Kafkaslar, Kıbrıs, Makaronezya.
<i>Brachythecium rutabulum</i> (Hedw.) Schimp.
Yayılışı: Elazığ (Sivrice (8), Palu (5)), Türkiye (A1, A2, A3, A4, B6, B8, C11, C12, C13, C14), Avrupa, Avustralya, Azor Adaları, Faroe Adaları, Grönland, Guatemala, Hawaii, İngiltere, İskandinavya, İzlanda, Kafkaslar, Kuzey ve Orta Afrika, Kuzey Amerika, Kuzey Asya, Kolombiya, Madeira, Makaronezya, Yeni Zelanda.
<i>Bryum argenteum</i> Hedw.
Yayılışı: Elazığ (Baskil (1,3,4,8), Keban (2,4,11), Palu (1,3,5,9,11,12,13,14,15,16,17), Fırat Üniversitesi Kampüsü (5,7,10,12)),

Türkiye (A1, A2, A4, A5, B6, B7, B8, B9, B10, C11, C12, C13, C14), kozmopolit.
<i>Bryum canariense</i> Brid.
Yayılışı: Elazığ (Baskil (5)), Türkiye (A1, A2, A4, B6, B8, C11, C12), Akdeniz kıyıları, Fransa ve Belçika'nın Atlantik kıyıları, Kuzey Amerika, Makaronezya, Tanzanya, Zimbabwe.
<i>Calliergonella cuspidata</i> (Hedw.) Loeske.
Yayılışı: Elazığ (Baskil (1)), Türkiye (A1, A2, A3, A4, A5, B6, B7, B9, C12, C13, C15), Asya, Arjantin, Avrupa, Avustralya, Faroe Adaları, İzlanda, Jamaika, Kafkaslar, Kıbrıs, Kuzey Amerika, Orta Afrika, Yeni Zelanda.
<i>Campyliadelphus chrysophyllus</i> (Brid.) R.S.Chopra
Yayılışı: Elazığ (Baskil (2)), Türkiye (A1, A2, A4, B6, C11, C13), Avrupa, Çin, Guatemala, Himalayalar, İzlanda, Japonya, Kafkaslar, Kuzey Afrika, Kolombiya, Kore, Meksika, Orta Asya, Sibirya.
<i>Cinclidotus aquaticus</i> (Hedw.) Bruch & Schimp.
Yayılışı: Elazığ (Keban (1)), Türkiye (B6, B9, C11, C12), Afrika, Avrupa, Güneybatı Asya.
<i>Cinclidotus riparius</i> (Brid.) Arn.
Yayılışı: Elazığ (Keban (1)), Türkiye (A1, A2, A4, B6, B7, B9, B10, C11, C12, C13, C15), Avrupa, Kuzey Afrika.
<i>Cratoneuron filicinum</i> (Hedw.) Spruce.
Yayılışı: Elazığ (Baskil (1,2), Sivrice (1,5,6,8), Keban (4), Palu (5)), Türkiye (A1, A2, A3, A4, A5, B6, B7, B8, B9, B10, C11, C12, C13, C15), Asya, Avrupa, Cezayir, Ekvador, Faroe Adaları, Güney Afrika, İzlanda, Kafkasya, Kenya, Kıbrıs, La Palma, Madeira, Meksika, Svalbard, Tazmanya, Uganda, Yeni Zelanda, Zaire. Kozmopolit.
<i>Dicranella varia</i> (Hedw.) Schimp.
Yayılışı: Elazığ (Keban (7)), Türkiye (A1, A2, A3, A4, B6, B7, C11, C12, C13), Avrupa, Çin, Faroe Adaları, Guatemala, Hawaii, İzlanda, Jamaika, Keşmir, Kıbrıs, Kuzey Afrika, Kuzey Amerika, Küba, Makaronezya, Sibirya, Yunnan.
<i>Didymodon acutus</i> (Brid.) K.Saito.
Yayılışı: Elazığ (Baskil (4), Sivrice (10), Keban (2,3), Palu (2)), Türkiye (A1, A2, A3, A4, B6, B7, B9, C11, C12), Avrupa, Kıbrıs, Kuzey ve Orta Amerika, Makaronezya.
<i>Didymodon australasiae</i> (Hook. & Grev.) R.H.Zander

Yayılışı: Elazığ (Fırat Üniversitesi Kampüsü (9)), Türkiye (B8, B9, C11, C14), Çek Cumhuriyeti, Almanya, Portekiz, İspanya, Kanarya Adaları, Fas, Tunus, Kaliforniya, Meksika, Uruguay, Arjantin.
<i>Didymodon fallax</i> (Hedw.) R.H. Zander.
Yayılışı: Elazığ (Sivrice (1,6), Keban (4)), Türkiye (A2, A3, A4, B6, B8, B9, B10, C11, C13), K. Avrupa, İskandinavya, Faroe Adaları, İzlanda, Kıbrıs, Kafkasya, Asya, La Palma, Madeira, K. & G. Afrika, K. Amerika, Grönland.
<i>Didymodon insulanus</i> (De Not.) M.O.Hill.
Yayılışı: Elazığ (Keban (4)), Türkiye (A1, A2, A3, A4, B6, B10, C11, C12, C13), Avrupa, Faroe Adaları, İzlanda, Kıbrıs, Kafkaslar, Tibet, Çin, Makaronezya, K. Afrika, K. ve O. Amerika.
<i>Didymodon luridus</i> Hornsch. ex Spreng.
Yayılışı: Elazığ (Baskil (4,8), Keban (2,5), Palu (7,9)), Türkiye (A1, A2, A4, B6, C11, C12, C13, C15), Avrupa, Batı Asya, İskandinavya, Kafkasya, Kıbrıs, Kuzey Amerika, Kuzey Afrika, Makaronezya.
<i>Didymodon nicholsonii</i> Culm.
Yayılışı: Elazığ (Sivrice (1)), Türkiye (A2, A3, A4, B8, B9), Almanya, Amerika, Belçika, Balear Adası, Fransa, Hollanda, İngiltere, İrlanda, İspanya, Kanada, Kanarya Adaları, Lüksemburg, Portekiz, Yunanistan.
<i>Didymodon vinealis</i> (Brid.) R. H. Zander.
Yayılışı: Elazığ (Baskil (4,5,6,8), Sivrice (2), Keban (4), Palu (3,4,5,6,8,11,12,13,15,16,17)), Türkiye (A1, A2, A3, A4, B6, B7, B8, B9, B10, C11, C12, C13, C14), Avrupa, Çin, Güney ve Doğu Asya, Kafkasya, Kıbrıs, Kuzey Afrika, Kuzey ve Orta Amerika, Hawaii, İskandinavya, İzlanda, Jamaika, Makaronezya, Meksika, Nepal.
<i>Encalypta ciliata</i> Hedw.
Yayılışı: Elazığ (Baskil (3), Keban (5,6,8)), Türkiye (A1, A2, A4, B6, B8, C11, C13), Avrupa, Çin, Japonya, İran, K. & G. Amerika, Afrika ve Yeni Gine, Faroe adaları, İzlanda, Avustralya, Yeni Zelanda, Havai.
<i>Encalypta streptocarpa</i> Hedw.
Yayılışı: Elazığ (Baskil (3,4,8)), Türkiye (A1, A2, A3, A4, B6, B7, C11, C12, C13), Avrupa, İzlanda, Kafkasya, Sibirya, La Palma, Kanarya Adaları, K. Amerika.
<i>Fontinalis antipyretica</i> Hedw.
Yayılışı: Elazığ (Keban (1)), Türkiye (A1, A2, A4, A5, B6, B7, B9, C11, C12, C13), Avrupa, Faroe Adaları, İzlanda, Kafkaslar, Makaronezya, G.Afrika, Amerika, Grönland.

<i>Funaria hygrometrica</i> Hedw.
Yayılışı: Elazığ (Baskil (1,4,8)), Türkiye (A1, A2, A3, A4, A5, B6, B7, B8, B10, C11, C12, C13, C14, C15), Kozmopolit.
<i>Grimmia laevigata</i> (Brid.) Brid.
Yayılışı: Elazığ (Palu (5,7)), Türkiye (A1, A2, A4, A5, B6, B7, B8, B9, B10, C11, C12, C13, C14), Akdeniz Bölgesi'nden G. İskandinavya'ya, Kıbrıs, Kafkasya, ılıman ve tropik Asya, Makaronezya, Arjantin, Brezilya, Şili, Avustralya, Hawai.
<i>Grimmia orbicularis</i> Bruch ex Wilson.
Yayılışı: Elazığ (Baskil (3,4,6), Palu (6)), Türkiye (A1, A2, A4, B6, B7, B9, C11, C12, C13, C14), Avrupa, Kafkasya, Kıbrıs, Pakistan, Amerika, Meksika, Yeni Zelanda, Kerguelen Adaları.
<i>Grimmia ovalis</i> (Hedw.) Lindb.
Yayılışı: Elazığ (Baskil (4,6,7,8), Palu (3,5,7,9), Fırat Üniversitesi Kampüsü (4,5,6,9,11)), Türkiye (A1, A2, A3, A4, A5, B6, B7, B8, B9, B10, C11, C12, C13, C14, C15), Avrupa, ılıman ve tropikal Asya, Guatemala, Kanarya Adaları, Kuzey Afrika, Kuzey Amerika, Madeira, Meksika.
<i>Grimmia pulvinata</i> (Hedw.) Sm.
Yayılışı: Elazığ (Baskil (3,4,6,8,12), Sivrice (1,2,10,12,13), Keban (2,3,5,6,7,10), Palu (1,2,3,5,6,9,11,12,13,14,15,16,17), Fırat Üniversitesi Kampüsü (4,5,8,9,12)), Türkiye (A1, A2, A3, A4, A5, B6, B7, B8, B9, B10, C11, C12, C13, C14), Kozmopolit.
<i>Grimmia tergestina</i> Tomm. ex Bruch & Schimp.
Yayılışı: Elazığ (Baskil (6,7), Palu (5)), Türkiye (A3, A4, B6, B7, B9, B10, C11, C12, C13, C14) Asya, Batı, Güney ve Orta Avrupa, Bolivya, Kanarya Adaları (Tenerife), Karayipler, Meksika, Peru.
<i>Grimmia trichophylla</i> Grev.
Yayılışı: Elazığ (Baskil (3)), Türkiye (A1, A2, A3, A4, A5, B6, B7, B8, C11, C12, C13, C14), And Dağları'ndan Tierra Del Fuego'ya, Avrupa, Avustralya, Cezayir, Faroe Adaları, Fas, Güneydoğu Asya dağları, Hawai, İngiltere, Kafkasya, Kıbrıs, Kuzey ve Orta Amerika, Makaronezya, Sibiry, Tazmania, Venezuela, Yeni Zelanda.
<i>Grimmia unicolor</i> Hook.
Yayılışı: Elazığ (Baskil (6)), Türkiye (A4, A5, B9, C12, C13), Avrupa, Kafkasya, Sibiry, Moğolistan, Keşmir, Kuzey Amerika.
<i>Gymnostomum calcareum</i> Nees & Hornsch.

Yayılışı: Elazığ (Keban (1), Palu (1)), Türkiye (A1, A2, A3, A4, B6, B8, C11, C12, C13, C14), Afrika, Asya, Avrupa, Avustralya, Azor Adaları, Finlandiya, Güneydoğu Asya Adaları, Himalayalar, İsveç, Kafkasya, Kanarya Adaları, Kıbrıs, Kuzey Amerika, Meksika, Tazmanya, Tibet, Tristan da Cunha, Yeni Zelanda.
<i>Gymnostomum viridulum</i> Brid.
Yayılışı: Elazığ (Baskil (4)), Türkiye (A1, B6, C11, C12, C13), Almanya, Akdeniz Havzası, Batı Asya, Batı Fransa, Belçika, Çekoslovakya, Dogu ve Kuzey Afrika, Hindistan, İsveç, Kafkasya
<i>Homalothecium aureum</i> (Spruce) H.Rob.
Yayılışı: Elazığ (Sivrice (10)), Türkiye (A1, A2, B6, B7, B8, B9, C11, C12, C13), Cezayir, Balerik Adaları, Fransa, Irak, İspanya, İsrail, İtalya, Kıbrıs, Kuzey Amerika, Lübnan, Portekiz, Suriye, Ukrayna, Ürdün, Yugoslavya, Yunanistan.
<i>Homalothecium lutescens</i> (Hedw.) H.Rob.
Yayılışı: Elazığ (Sivrice (2,1), Keban (4)), Türkiye (A1, A2, A3, A4, B6, B7, B8, C11, C12, C13), Avrupa, Faroe Adaları, Fas, İran, İzlanda, Kafkaslar, Madeira.
<i>Homalothecium philippeanum</i> (Spruce) Schimp.
Yayılışı: Elazığ (Baskil (2,4), Sivrice (2,1), Keban (4), Palu (3)), Türkiye (A1, A2, A3, A4, A5, B6, B7, B8, B9, B10, C11, C12, C13), Asya, Avrupa, Kuzey Afrika.
<i>Homalothecium sericeum</i> (Hedw.) Schimp.
Yayılışı: Elazığ (Baskil (4), Keban (8), Palu (6)), Türkiye (A1, A2, A3, A4, A5, B6, B7, B8, B9, B10, C11, C12, C13, C14), Avrupa, Çin, Faroe Adaları, İzlanda, Kıbrıs, Kesmir, Kuzey Amerika, Kuzey Afrika, Makaronezya, Orta Doğu.
<i>Hygroamblystegium humile</i> (P. Beauv.) Vanderp., Goffinet & Hedenas.
Yayılışı: Elazığ (Sivrice (8), Fırat Üniversitesi Kampüsü (2,9)), Türkiye (A2, A4, A5, C13), Avrupa, Kafkasya, İran, Sibirya, O. Asya, K. Amerika, Meksika, İngiltere.
<i>Imbriobryum mildeanum</i> (Jur.) J.R. Spence.
Yayılışı: Elazığ (Baskil (1)), Türkiye (A1, A2, A3, A4, B7, C11, C12, C13, C14), Asya, Avrupa, Azor Adaları, Faroe Adaları, Kuzey Amerika.
<i>Kindbergia praelonga</i> (Hedw.) Ochyra.
Yayılışı: Elazığ (Baskil (2), Sivrice (1,8), Keban (8), Palu (3,6)), Türkiye (A1, A2, A3, A4, B6, B8, C11, C12, C13), Andorra, Arjantin, Avrupa, Avustralya, Azorlar, Balear Adaları, Cezayir, Çin, Faroe Adaları, Fas, Güney Afrika,

İzlanda, Japonya, Kafkasya, Karadağ, Kıbrıs, Kuzey Amerika, Kuzey Asya, Madaira Adaları, Makaronezya, Suriye, Tunus, Tanzanya, Yeni Zelanda.
<i>Leptodictyum riparium</i> (Hedw.) Warnst.
Yayılışı: Elazığ (Palu (1,4)), Türkiye (A1, A2, A4, A5, B6, B7, B8, B9, C11, C12, C13), Afrika, Asya, Avrupa, Avustralya, Faroe Adaları, Haiti, Kuba, Kuzey Amerika, Makaronezya, Meksika, Yeni Zelanda.
<i>Lewinskya affinis</i> (Schrader. ex Brid.) F.Lara, Garillet & Goffinet
Yayılışı: Elazığ (Baskil (2), Sivrice (1,2), Keban (6)), Türkiye (A1, A2, A3, A4, B6, B7, B10, C11, C12, C13), Avrupa, Irak, İran, İskandinavya, İsrail, Kafkaslar, Kanarya Adaları, Keşmir, Kıbrıs, Kuzey ve Batı Amerika, Kuzey ve Batı Afrika, Lübnan, Madeira, Sibirya, Suriye.
<i>Lewinskya rupestris</i> (Schleich. Ex Schwägr.) F. Lara, Garilleti & Goffinet
Yayılışı: Elazığ (Sivrice (2,7,10), Keban (4)), Türkiye (A1, A2, A4, A5, B6, B7, B8, B9, B10, C11, C12, C13, C14), Avrupa'nın kuzeyinden kuzey İskandinav Yarımadasına, Avustralasya, Faroe Adaları, Grönland, Güney Amerika, Hindistan, İzlanda, Kafkaslar, Kıbrıs, Kanarya Adaları, Kuzey ve Doğu Afrika, Kuzeybatı Amerika, Madeira Adaları.
<i>Lewinskya speciosa</i> (Nees) F. Lara, Garilleti & Goffinet.
Yayılışı: Elazığ (Keban (6), Fırat Üniversitesi Kampüsü (4,12)), Türkiye (A1, A2, A4, B6, B7, C11, C12, C13), Akdeniz Havzası, Almanya, Avusturya, Batı Avrupa, Çek Cumhuriyeti, Danimarka, Fransa, İspanya, İtalya, İsveç, İsviçre. Macaristan, Norveç, Polonya, Portekiz, Rusya, Sırbistan, Yunanistan.
<i>Lewinskya striata</i> (Hedw.) F. Lara, Garilleti & Goffinet
Yayılışı: Elazığ (Sivrice (2)), Türkiye (A1, A2, A3, A4, B6, B7, C11, C12, C13), Avrupa, Cezayir, Çin, İzlanda, Kafkaslar, Kuzey Amerika.
<i>Orthotrichum anomalum</i> Hedw.
Yayılışı: Elazığ (Sivrice (5,7), Palu (3)), Türkiye (A1, A2, A3, A4, B6, B7, B8, B10, C11, C12, C13, C14), Avrupa, Grönland, Guatemala, Himalayalar, Hon Kong, İzlanda, Japonya, Kafkaslar, Kanarya Adaları, Keşmir, Kıbrıs, Kuzey Amerika, Kuzey ve Doğu Afrika, Madeira.
<i>Orthotrichum cupulatum</i> Hoffm. ex Brid.
Yayılışı: Elazığ (Sivrice (1,2), Keban (2), Palu (5,6)), Türkiye (A1, A2, A4, A5, B6, B7, B8, B9, B10, C11, C12, C13, C14, C15), Avrupa, Avustralya, İskandinavya, İzlanda, Kafkasya, Keşmir, Kıbrıs, Kuzey Amerika, Kuzey Afrika, Kuzey Asya, La Palma, Madeira, Tenerife, Yeni Zelanda.
<i>Orthotrichum cupulatum</i> var. <i>riparium</i> Huebener.

Yayılışı: Elazığ (Baskil (4)), Türkiye (A2, B6, B7, B9), Avrupa, Kuzey Amerika.
<i>Orthotrichum diaphanum</i> Brid.
Yayılışı: Elazığ (Fırat Üniversitesi Kampüsü (2, 12)), Türkiye (A1, A2, A3, A4, B6, B7, C11, C12, C13), Afrika, Amerika, Asya, Avrupa, Azor Adaları, Ekvator, Faroe Adaları, Hawaii, Kafkasya, Kıbrıs, La Palma, Madeira, Makaronezya, Meksika, Norveç, Sibirya, Tenerife.
<i>Orthotrichum pallens</i> Bruch ex Brid.
Yayılışı: Elazığ (Sivrice (7,9,10)), Türkiye (A1, A2, A3, B6, B7, C11, C12, C13), Avrupa, Grönland, Irak, Kafkaslar, Kuzey Amerika, Meksika, Moğalistan, Rusya, Venezuela.
*<i>Orthotrichum pamiricum</i> Plášek & Sawicki.
Yayılışı: Elazığ (Fırat Üniversitesi Kampüsü (5,8,12)), Türkiye (B9), Afganistan, Tacikistan.
<i>Orthotrichum pumilum</i> Sw. ex anon.
Yayılışı: Elazığ (Baskil (2), Sivrice (1,5,7,8,10), Keban (6), Palu (3,4,6,14,15), Fırat Üniversitesi Kampüsü (8,12)), Türkiye (A1, A3, A4, B6, B7, C11, C12, C13), Avrupa, Cezayir, Çin, Fas, Japonya, Kafkasya, Kanarya Adaları, Kuzey Amerika, Kuzey Asya, Madeira.
<i>Orthotrichum sprucei</i> Mont.
Yayılışı: Elazığ (Sivrice (5), Palu (1,3)), Türkiye (B9, C11), Belçika, Fransa, Hollanda, İspanya
<i>Orthotrichum stramineum</i> Hornsch. ex Brid.
Yayılışı: Elazığ (Fırat Üniversitesi Kampüsü (12)), Türkiye (A1, A2, B6, B7, C11, C13), Avrupa, Norveç, İzlanda, Kafkasya, Çin, K. Afrika, Ternöv, Newfoundland.
<i>Oxyrrhynchium hians</i> (Hedw.) Loeske.
Yayılışı: Elazığ (Baskil (4), Sivrice (8), Keban (1), Palu (1,3,4)), Türkiye (A1, A2, A3, A4, B6, C11, C12, C13), Avrupa, Azor Adaları, Cezayir, Çin, Faroe Adaları, İzlanda, Japonya, Kafkasya, Kıbrıs, Kuzey Afrika, Kuzey Amerika, Lübnan, Orta Asya, Madeira, Norveç, St. Helena.
<i>Oxyrrhynchium speciosum</i> (Brid.) Warnst.
Yayılışı: Elazığ (Palu (10)), Türkiye (A1, A2, A4, B6, B7, C11, C12, C13) Avrupa, Çin, İran, Kafkaslar, Kanaryalar, Kıbrıs, Makaronezya, Suudi Arabistan.
<i>Palustriella commutata</i> (Hedw.) Ochyra.

Yayılışı: Elazığ (Baskil (2), Sivrice (5), Keban (4), Palu (5), Fırat Üniversitesi Kampüsü (10)), Türkiye (A1, A2, A3, A4, B6, B7, B8, B9, B10, C11, C13, C15), Avrupa, Batı ve Orta Asya, Faroe Adaları, Grönland, İskandinavya, İzlanda, Japonya, Kafkasya, Kamçatka, Keşmir, Kore, Kuzey Afrika, Kuzey Amerika, Madeira, Tibet.
<i>Philonotis calcarea</i> (Bruch & Schimp.) Schimp.
Yayılışı: Elazığ (Baskil (1), Sivrice (1), Keban (4), Palu (5)), Türkiye (A1, A2, A3, A4, A5, B6, B7, B9, B10, C11, C12, C13), Avrupa, Cape Verde, Cezayir, Himalayalar, Irak, İran, Kafkaslar, Kuzey Asya, Kuzey Amerika, Rusya, Tibet.
<i>Physcomitrium pyriforme</i> (Hedw.) Bruch & Schimp.
Yayılışı: Elazığ (Fırat Üniversitesi Kampüsü (2,3,7,8,9)), Türkiye (A1, A4, B6, C11, C12), Avrupa, Avustralya, Çin, Kafkaslar, Kanada, Makaronezya, Meksika, Mısır, Rusya, Sibirya.
<i>Plasteurhynchium striatulum</i> (Spruce) M.Fleisch.
Yayılışı: Elazığ (Sivrice (1)), Türkiye (A1, A2, A4, C11, C13), Avrupa, İskandinavya, Kafkasya, Azor Adaları, Cezayir, Tenerife, Makaronezya.
<i>Pohlia wahlenbergii</i> (F.Weber & D.Mohr) A.L.Andrews.
Yayılışı: Elazığ (Baskil (1), Palu (5), Fırat Üniversitesi Kampüsü (2,8)), Türkiye (A2, A3, A4, B6, B10, C11, C12), Avrupa, İzlanda, Grönland, Kafkaslar, Asya, Kıbrıs, Cezayir, Amerika, Avustralya.
<i>Pohlia wahlenbergii</i> var. <i>calcarea</i> (Warnst.) E.F.Warb.
Yayılışı: Elazığ (Sivrice (4,6,12), Keban (4,6), Palu (5,6)), Türkiye (A1, A2, A3, A4, A5, B6, B7, B9, B10, C11, C12, C13), Avrupa. Ekolojisi: Asidofit; higrofit; fotofit; turf.
<i>Pseudocampylium radicale</i> (P.Beauv.) Vanderp. & Hedenäs
Yayılışı: Elazığ (Fırat Üniversitesi Kampüsü (1)), Türkiye (A4, A5, B9), Norveç, İsveç, İzlanda, Kırım, Japonya, Kuzey Amerika, Ekvador.
<i>Pseudocrossidium obtusulum</i> (Lindb.) H.A.Crum & L.E.Anderson
Yayılışı: Elazığ (Fırat Üniversitesi Kampüsü (5,9)), Türkiye (A1, B9, C15), Avrupa, Irak, Kuzey Amerika, Rusya.
<i>Pseudoleskeella rupestris</i> (Berggr.) Hedenäs & L.Söderstr.
Yayılışı: Elazığ (Baskil (2)), Türkiye (A4, A5, B7, B9), Finlandiya, Fransa, Almanya, İtalya, Norveç, Polonya, İspanya, İsveç, İsviçre, Svalbard, Sibirya, Kuzey Amerika, Grönland.
<i>Pterygoneurum ovatum</i> (Hedw.) Dixon

Yayılışı: Elazığ (Fırat Üniversitesi Kampüsü (4,11)), Türkiye (A1, A3, A4, A5, B6, B7, B8, B9, B10, C11, C12, C13, C14), Avrupa, Avustralya, Cezayir, Batı ve Güneydoğu Asya, Fas, Kafkaslar.
<i>Ptychostomum capillare</i> (Hedw.) Holyoak & N. Pedersen.
Yayılışı: Elazığ (Baskil (5,6), Sivrice (1,10), Keban (1,2), Palu (3)), Türkiye (A1, A2, A3, A4, A5, B6, B7, B8, B9, B10, C11, C12, C13), kozmopolit.
<i>Ptychostomum creberrimum</i> (Taylor) J.R.Spence & H.P.Ramsay
Yayılışı: Elazığ (Sivrice (2)), Türkiye (A2, A3, A4, B7, B8, B9, C11, C13), Avrupa, İzlanda, K. Amerika.
<i>Ptychostomum donianum</i> (Grev.) Holyoak & N. Pedersen
Yayılışı: Elazığ (Baskil (8), Fırat Üniversitesi Kampüsü (9)), Türkiye (A1, A2, A4, B6, C11, C12, C13, C14), Avrupa, Kıbrıs, Asya, Afrika.
<i>Ptychostomum funkii</i> (Schwägr.) J.R.Spence
Yayılışı: Elazığ (Baskil (1)), Türkiye (A2, B7, B9, C13, C15), Batı ve Orta Avrupa, İsveç, Kuzey ve Orta Asya, Türkiye.
<i>Ptychostomum imbricatulum</i> (Müll. Hal.) Holyoak & N. Pedersen.
Yayılışı: Elazığ (Baskil (1,2,3,5,6,8,9), Sivrice (10), Keban (3,4,5,6,7), Palu (1,5), Fırat Üniversitesi Kampüsü (6,7)), Türkiye (A1, A2, A3, A4, B6, B7, B8, B9, B10, C11, C12, C13, C14), kozmopolit.
<i>Ptychostomum moravicum</i> (Podp.) Ros & Mazimpaka.
Yayılışı: Elazığ (Baskil (1,2,5), Sivrice (1), Keban (1,4,8), Palu (1,3), Fırat Üniversitesi Kampüsü (1,8)), Türkiye (A1, A2, A3, A4, A5, B6, B7, B10, C11, C13), Asya, Avrupa, İzlanda, Kafkaslar, Kuzey Amerika, Kuzey Afrika.
<i>Ptychostomum pallens</i> (Sw. ex anon.) J.R.Spence
Yayılışı: Elazığ (Palu (10)), Türkiye (A1, A2, A3, A4, B6, B10, C11, C13), Avrupa, Faro Adaları, İzlanda, Kafkasya, Asya, İran, Nepal, Çin, Japonya, Tenerife, K. & O. Afrika, K. Amerika, Grönland, Ekvador, Peru, Tierra del Fuego.
<i>Ptychostomum pallescens</i> (Schleich. ex Schwägr.) J.R.Spence
Yayılışı: Elazığ (Fırat Üniversitesi Kampüsü (10)), Türkiye (A1, A2, A4, A5, B6, B7, B8, B9, B10, C11, C12, C13, C15), Avrupa, Svalbard, Faro Adaları, İzlanda, Kafkaslar, Kıbrıs, K. O. & B. Asya, Tenerife, K. O. & G. Amerika, Afrika, Grönland, Falkland Adaları.
<i>Ptychostomum torquescens</i> (Bruch & Schimp.) Ros & Mazimpaka
Yayılışı: Elazığ (Fırat Üniversitesi Kampüsü (3,5,6)), Türkiye (A1, A2, A4, B6, B8, B9, C11, C12, C13), Kıbrıs, Batı Asya, Pakistan, Nepal, Çin, Azor Adaları,

Kanarya Adaları, Kuzey ve Güney Afrika, Kenya, Kuzey Amerika, Meksika, Şili, Avustralya, Yeni Zelanda.
<i>Pylaisia polyantha</i> (Hedw.) Schimp.
Yayılışı: Elazığ (Sivrice (7)), Türkiye (A1, A2, A3, B6, B9), Avrupa, Kafkasya, Türkiye, Keşmir, Japonya, Kuzey Afrika, Tenerife, La Gomera, güney Amerika Birleşik Devletleri, Meksika.
<i>Rhynchostegiella tenella</i> (Dicks.) Limpr.
Yayılışı: Elazığ (Baskil (2), Sivrice (2), Keban (6)), Türkiye (A1, A2, A3, A4, A5, B6, B9, C11, C12, C13), Afganistan, Avrupa, Çin, Irak, İsrail, Kafkasya, Kıbrıs, Kuzey ve Orta Afrika, Lübnan, Makaronezya, Mısır, Ürdün.
<i>Rhynchostegium confertum</i> (Dicks.) Schimp.
Yayılışı: Elazığ (Sivrice (8)), Türkiye (A1, A2, A3, A4, B6, B10, C11, C12, C13), Afganistan, Avrupa, Cezayir, Çin, İskandinavya, Irak, İsrail, İzlanda, Kafkaslar, Kıbrıs, Makaronezya, Suriye.
<i>Rhynchostegium riparioides</i> (Hedw.) Cardot
Yayılışı: Elazığ (Baskil (1), Sivrice (2,4,5), Keban (4), Palu (4,5,10)), Türkiye (A1, A2, A3, A4, A5, B6, B7, B8, B9, B10, C11, C12, C13, C14), Amerika, Avrupa, Azor Adaları, Cezayir, Girit, Kıbrıs, Kosta Rika, Japonya, Lübnan, Madeira, Meksika, Misir, Suriye.
<i>Schistidium apocarpum</i> (Hedw.) Bruch & Schimp.
Yayılışı: Elazığ (Baskil (4,8,11), Sivrice (1), Keban (6), Palu (2,3,6)), Türkiye (A1, A2, A3, A4, A5, B6, B7, B8, B9, C11, C12, C13, C14), Altay, Avrupa'da kuzeyde Norveç'in batısına, Faroe Adaları, Kafkasya, Madeira, Newfoundland, Sibirya.
<i>Schistidium confertum</i> (Funck) Bruch & Schimp.
Yayılışı: Elazığ (Baskil (4,8), Sivrice (3), Keban (6), Fırat Üniversitesi Kampüsü (6)), Türkiye (A1, A2, A4, B6, B7, B8, B9, C11, C13, C14), Afganistan, Avrupa, Cezayir, Çin, İskandinavya, İzlanda, Kafkaslar, Kıbrıs, Makaronezya.
<i>Scleropodium cespitans</i> (Wilson ex Müll. Hal.) L. F. Koch.
Yayılışı: Elazığ (Sivrice (1)), Türkiye (A1, A2, B6, B7, C11, C12, C13), Belçika, Fransa, Hollanda, İspanya, İtalya, Korsika, Kuzey Amerika, Portekiz, Sardinya, Tenerife.
<i>Streblotrichum convolutum</i> (Hedw.) P.Beauv.
Yayılışı: Elazığ (Keban (1,2), Palu (2)), Türkiye (A1, A2, A3, A4, B6, B7, C11, C12, C13), Kuzey Yarımküre' de yaygın, Güney ve Orta Afrika, Yeni Zelanda.
<i>Syntrichia calcicola</i> J.J.Amann

Yayılışı: Elazığ (Fırat Üniversitesi Kampüsü (4,6)), Türkiye (A1, A2, B6, C11, C12), Avrupa, Rusya.
<i>Syntrichia caninervis</i> Mitt.
Yayılışı: Elazığ (Fırat Üniversitesi Kampüsü (3,4,7,11)), Türkiye (A1, A2, A3, A4, A5, B6, B7, B8, B9, B10, C11, C12, C13, C14, C15), İspanya, İran.
<i>Syntrichia laevipila</i> Brid.
Yayılışı: Elazığ Baskil (3,6), Keban (4,7), Palu (4,6), Fırat Üniversitesi Kampüsü (5,6,7,12), Türkiye (A1, A2, A3, A4, B6, B7, C11, C12, C13), Avrupa, İsveç, Kıbrıs, Asya, Azor Adaları, Kanarya Adaları, Cezayir, Fas, Kenya, G. Amerika, Avustralya, Yeni Zelanda, Antarktika.
<i>Syntrichia latifolia</i> (Bruch ex Hartm.) Huebener.
Yayılışı: Elazığ (Baskil (4)), Türkiye (A1, A2, B6, C11, C12), Batı ve Orta Avrupa, Kafkasya, Kuzey Amerika.
<i>Syntrichia minor</i> (Bizot) M.T.Gallego, J.Guerra, M.J.Cano, Ros & Sánchez-Moya
Yayılışı: Elazığ (Fırat Üniversitesi Kampüsü (3)), Türkiye (A2, A4, A5, B9), Kanarya Adaları, Kıbrıs, Yunanistan, Ürdün, Lübnan, İspanya.
<i>Syntrichia montana</i> Nees.
Yayılışı: Elazığ (Baskil (2)), Türkiye (A1, A2, A4, A5, B6, B7, B8, B9, B10, C11, C12, C13, C14, C15), Avrupa, İskandinavya, Kafkasya, Kıbrıs, Kuzey Asya, Kuzey Afrika, Kuzey ve Orta Amerika, Makaronezya.
<i>Syntrichia princeps</i> (De Not.) Mitt.
Yayılışı: Elazığ (Sivrice (1), Keban (6), Palu (6), Fırat Üniversitesi Kampüsü (3)), Türkiye (A1, A2, A4, B6, B7, B8, B10, C11, C12, C13, C14, C15), Avrupa'da İskandinavyanın kuzeyi, Avustralya, Cezayir, Çin, Kafkasya, Kanarya Adaları, Kıbrıs, Kuzey Amerika, Kuzey Asya, Madeira Adaları, Okyanusya, Yeni Zelanda.
<i>Syntrichia ruralis</i> (Hedw.) F.Weber & D.Mohr.
Yayılışı: Elazığ (Baskil (2,3,4,5,6,8,9,11,12,13,14), Sivrice (1,2,3,10,11,13), Keban (3,4,6,9), Palu (2,3,4,6,7,9,11,12,13,14,15,16,17), Fırat Üniversitesi Kampüsü (3,4,5,8,9,10)), Türkiye (A1, A2, A3, A4, A5, B6, B7, B8, B9, B10, C11, C12, C13, C14, C15), Asya, Afrika, Avrupa, Avustralya, Faroe Adaları, Grönland, İzlanda, Kafkasya, Kıbrıs, Kuzey Amerika, Makaronezya, Patagonya, Okyanusya, Svalbard.
<i>Syntrichia ruraliformis</i> (Besch.) Mans.

Yayılışı: Elazığ (Baskil (3,6), Keban (2,3,4,5,6,7, 8,11)), Türkiye (A1, A2, A4, B6, B7, B8, B9, B10, C11, C12, C13, C15), Asya, Avrupa, Cezayir, İzlanda, Kafkasya, Kıbrıs, Kuzey Amerika, Makaronezya.
<i>Syntrichia virescens</i> (De Not.) Ochyra.
Yayılışı: Elazığ (Baskil (2,3,4,7,8), Keban (5), Palu (3,6), Fırat Üniversitesi Kampüsü (5,8,12)), Türkiye (A1, A2, A4, A5, B6, B7, B10, C11, C12, C13), Avrupa, İskandinavya, Kafkaslar, Kanarya Adaları, Keşmir, Kuzey Amerika.
<i>Tortella tortuosa</i> (Hedw.) Limpr.
Yayılışı: Elazığ (Baskil (4)), Türkiye (A1, A2, A3, A4, A5, B6, B7, B8, C11, C12, C13), Afganistan, Cezayir, Fas, Grönland, Irak, İran, İsrail, Kafkaslar, Kanarya Adaları, Kıbrıs, Kuzey Amerika, Kuzey ve Orta Asya, Kuzey Avrupa, Madeira Adası, Peru, Suriye.
<i>Tortula acaulon</i> (With.) R.H.Zander
Yayılışı: Elazığ (Fırat Üniversitesi Kampüsü (10)), Türkiye (A1, A2, A3, B6, B7, B10, C11, C12, C14), Kutup çevresi, Avrupa, Türkiye, Asya, Madeira, Kanarya Adaları Cezayir, Fas, K. Amerika, Ekvador.
<i>Tortula inermis</i> (Brid.) Mont.
Yayılışı: Elazığ (B Keban (2,4,6,7,9), Palu (9,16), Fırat Üniversitesi Kampüsü (8)), Türkiye (A1, A2, A3, A4, B6, B7, B8, B9, B10, C11, C12, C13, C14, C15), Amerika, Asya, Avrupa, Kuzey Afrika, Makaronezya.
<i>Tortula muralis</i> Hedw.
Yayılışı: Elazığ (Baskil (1,5,8), Palu (10), Fırat Üniversitesi Kampüsü (8)), Türkiye (A1, A2, A3, A4, A5, B6, B7, B8, B9, B10, C11, C12, C13, C14, C15), kozmopolit.
<i>Tortula muralis</i> var. <i>aestiva</i> Hedw.
Yayılışı: Elazığ (Baskil (1)), Türkiye (A1, A2, B9, B10), İark, İsrail, İran, Ürdün, Suriye, Fransa.
<i>Tortula solmsii</i> (Schimp.) Limpr.
Yayılışı: Elazığ (Palu (9)), Türkiye (A1, B6, C13), Akdeniz ve Atlantik Avrupa, İngiltere, Macaronesia, Cezayir, Fas.
<i>Tortula subulata</i> Hedw.
Yayılışı: Elazığ (Baskil (3,4,5,8,10), Sivrice (2,1), Keban (2,8,10), Palu (3,14), Fırat Üniversitesi Kampüsü (4,5,7,8,12)), Türkiye (A1, A2, A3, A4, B6, B7, B8, C11, C12, C13), Avrupa, Cezayir, Çin, Faroe Adaları, Kafkaslar, Kanarya Adaları, Kuzeydoğu Amerika, Madeira Adası.
<i>Tortula vahliana</i> (Schultz) Mont.

Yayılışı: Elazığ (Keban (1), Palu (9), Fırat Üniversitesi Kampüsü (12)), Türkiye (A1, A2, B6, C11, C12,), Mediterran-Atlantik. İngiltere Adaları, Türkiye, Kıbrıs, Kanarya Adaları, K. Afrika, Şili.

Trichostomum brachydontium Bruch.

Yayılışı: Elazığ (Sivrice (8)), Türkiye (A1, A2, A3, A4, B6, B7, C11, C12, C13), Afrika, Çin, Güney ve Orta Amerika, Kuzey Avrupa, Faroe Adaları, İzlanda, Japonya, Kafkaslar, Kıbrıs, Makaronezya, Sibirya, Yeni Zelanda.

Kaynaklar

Abay, G., Uyar, G., Keçeli, T., & Çetin, B. (2009). Contributions to the bryoflora of the Kaçkar Mts (NE Anatolia, Turkey). *Phytologia Balcanica*, 15(3), 317-329.

Abay, G., Ursavaş, S., & Keçeli T. (2010). Türkiye'nin B7 karesinin bryophyta kontrol listesi. 20. *Ulusal Biyoloji Kongresi, Denizli, Türkiye, 21 - 25 Haziran 2010*, 134, 394-395.

Abay, G. (2014). Bryodiversity of Turkey. *Scientific and Technological Cooperation in the Field of Plant Diversity and Biotechnology Between Turkey and Germany, Artvin, Türkiye, 25-27 Eylül 2014*, 15.

Abay, G., Batan, N., & Özdemir T. (2016). Bryophyte checklist of Rize, North-East Turkey. *Arctoa*. 25, 386-392.

Akman, Y. (2011). *İklim ve Biyoiklim (Biyoiklim Metodları ve Türkiye İklimleri)*. Palme Yayıncılık. Ankara.

Alataş, M., Batan, N. & Hazer, Y. (2014). The Moss Flora of Elazığ-Sivrice (Turkey) Province. *Biological Diversity and Conservation*, 7(2), 148-153.

Alataş, M., & Batan, N. (2015). The Moss Flora of Keban (Elazığ/Turkey) District. *Biological Diversity and Conservation*, 8(2), 59-65.

Alataş, M., & Batan, N. (2017). The bryophyte flora of Baskil district (Elazığ/Turkey). *Biological Diversity and Conservation*, 10(1), 31-38.

Alataş, M., & Ursavaş, S. (2019). The bryophyte flora of Palu (Elazığ /Turkey) district. *Biological Diversity and Conservation*, 12(1), 81-88.

Alataş, M., & Ursavaş, S. (2021). The Bryophyte Check-List For B9 Square of Turkey. *Anatolian Bryology*, 7(1), 53-59.

Alataş, M., Ezer, T., Erata, H., & Batan, N. (2023). Notes on epiphytic bryophyte community *Orthotrichetum pumili* in Urban Area. *Anatolian Bryology*, 9(1), 24-30.

Alataş, M., Çambay, Z., & Şahin H. (2024). Fırat Üniversitesi Merkez Fırat Üniversitesi Kampüsü Karayosunu Florası (Elazığ-Türkiye). *Anatolian Bryology*, 10(1), 1-7.

Anşın, R. (1983). Türkiye'nin Flora Bölgeleri ve Bu Bölgelerde Yayılan Asal Vejetasyon Tipleri. *Karadeniz Üniversitesi Dergisi*, 6:2.

Barbey, W. (1890). *Lydie, Lycie, Carie 1842, 1883, 1887, Etudes Botaniques*. Lausanne.

Bornmüller, J. (1908). Florulae Lydiae. Mitteilungen des Thüringischen Botanischen Vereins. *Neue Folge*, 24, 1-140.

Bornmüller, J. (1909). Ergebnisse einer im Juni des Jahres 1899 nach dem Sultan-dagh in Phrygien unternommenen Reise nebst einigen anderen Beiträgen zur Kenntnis der Flora dieser Landschaft Inner- Anatoliens. Beihefte zum Botanischen Centralblatt. *Abteilung*, 24, 440-503.

Czeczott, H. (1939). A contribution to the knowledge of the flora and vegetation of Turkey. *Feddes Repertorium*, Beiheft, 107, 1-281.

Çetin, B. (1988a). Checklist of liverworts and hornworts of Turkey. *Lindbergia*, 14, 12-14.

Çetin, B. (1988b.) Checklist of the Mosses of Turkey. *Lindbergia*, 14, 15-23.

EÇDR, 2022. *Elazığ İli 2022 Yılı Çevre Durum Raporu*. Elazığ Valiliği Çevre, Şehircilik ve İklim Değişikliği İl Müdürlüğü.

Ellis, L.T., Afonina, O.M., Czernyadjeva, I.V., Alegro, A., Şegota, V., Boiko, M., Zagorodniuk, N., Burghardt, M., Alataş, M., Aslan, G., & Batan, N et al. (2022). New national and regional bryophyte records, 69. *Journal of Bryology*, 44(1), 87-102.

Fritsch, K. (1900). Beitrag zur flora von Constantinopel, Denkschr. *Denkschriften der Kaiserlichen Akademie der Wissenschaften*, Wien., 68, 219-250.

Gökler, İ., & Öztürk, M. 1986. Türkiye'de yayılış gösteren bazı ciğerotları (Hepaticae) üzerinde taksonomik araştırmalar I,

Jungermanniales anacrogynae ve J. Acrogynae. *Doğa Turk Biyoloji Dergisi*, 10(2), 163-170.

Hazer, Y. (2010). *Son Literatür ve Herbaryum Verilerine Göre Türkiye Karayosunlarının Floristik Dağılımı ve Elektronik Veri Tabanının Oluşturulması*. Doktora Tezi. Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Henderson, D.M. (1957). Contribution to the Bryophyte Flora of Turkey: II. *Notes Royal Botanic Garden, Edinburgh*, 22(3), 189-193.

Henderson, D.M. (1958). Contributions to the bryophyte flora of Turkey: III. *Notes Royal Botanical Garden, Edinburgh*, 22, 611-620.

Henderson, D.M. (1961a). Contributions to the bryophyte flora of Turkey: IV. *Notes from the Royal Botanic Garden, Edinburgh*, 23, 263- 278.

Henderson, D.M. (1961b). Contributions to the bryophyte flora of Turkey: V. Summary of present knowledge. *Notes from the Royal Botanic Garden, Edinburgh*. 23, 279-301.

Henderson, D.M. (1964). Contributions to the bryophyte flora of Turkey: VI. *Notes from the Royal Botanic Garden, Edinburgh*. 25, 279-291.

Henderson, D.M., & Muirhead C.W. (1955). Contribution to the bryophyte flora of Turkey. *Notes from the Royal Botanic Garden. Edinburgh*, 22, 29-43.

Henderson, D.M., & Prentice, H.T. (1969). Contributions to the bryophyte flora of Turkey VIII, *Notes, Royal Botanic Garden Edinburgh*, 29, 235-262.

Hodgetts, N.G., Söderström, L., Blockeel, T.L., Caspari, S., Ignatov, M.S., Konstantinova, N. A., Lockhart, N., Papp, B., Schröck ,C., & Sim-Sim, M. et al. (2020). An annotated checklist of bryophytes of Europe, Macaronesia and Cyprus. *Journal of Bryology*, 42(1), 1-116.

Jovet-Ast, S. (1957). *Riccia frostii* Aust. au Sahara et en Turquie. *Revue Bryologique et Lichénologique*, 26, 67-68.

Juratzka, J., & Milde, J. (1870). Beitrag zur Moosflora des Orientes. Kleinasien, das westliche Persien und den Caucasus umfassend. *Verhandlungen der Zoologisch-Botanischen Gesellschaft in Wien*, 20, 589-602.

Keçeli, T., & Ursavaş, S., & Abay, G. (2011). Türkiye'nin B6 karesinin bryophyta kontrol listesi. *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, 13, 14-24.

Kürschner, H., & Erdağ, A. (2005). Bryophytes of Turkey: An Annotated Reference List of the Species with Synonyms from the Recent Literature and an Annotated List of Turkish Bryological Literature. *Turkish Journal of Botany*, 29, 95-154.

Kürschner, H., & Frey, W. (2020). Liverworts, mosses and hornworts of Southwest Asia (Marchantiophyta, Anthocerotophyta, Bryophyta). *Nova Hedwigia*, 149, 1-267.

Özdemir, T. (2009). A revised checklist of Bryophytes of A4 square of Turkey. *International Journal of Botany*, 5, 1-35.

Özdemir, T., & Batan, N. (2017a). Bryophyte Checklist of Giresun, North East Turkey. *Anatolian Bryology*, 3(1), 1-8.

Özdemir, T., & Batan, N. (2017b). The Bryophyte Checklist of Trabzon province of Turkey. *Arctoa*, 26, 58-67.

Özenoğlu Kiremit, H., & Keçeli, T. (2009). An annotated check-list of the Hepaticae and Anthocerotae of Turkey. *Cryptogamie, Bryologie*, 30(3), 343-356.

Penther, A., & Zederbauer, E. (1905). Ergebnisse einer naturwissenschaftlichen Reise zum Erdschas - Dag. *Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien*, 20: 359-464.

Ros, R.M., Mazimpaka, V., Abou-Salama, U., Aleffi, M., Blockeel, T.L., Brugues, M., Cros, R.M., Dia M.G., Dirkse, G.M., Draper, I., Elsaadawi, W., Erdağ, A. & Ganeva, A. et al., (2013). Mosses of the Mediterranean, an Annotated Checklist. *Cryptogamie, Bryologie*, 34, 99-283.

Schiffner, V. (1896). Über die von Sintenis in Türkisch-Armenien gesammelten Kryptogamen. *Oesterreichische botanische Zeitschrift*, 46, 274-278.

Schiffner, V. (1897). Musci Bornmülleriani. *Oesterreichische botanische Zeitschrift*, 47, 125-132.

Schiffner, V. (1903). Bryophyta aus Mesopotamien und Kurdistan. *Ann. Nahist. Hofmus*, 27, 1-34.

Schiffner, V. (1908). Beiträge zur Kenntnis der Bryophyten von Persien und Lydien. *Oesterreichische botanische Zeitschrift*, 58, 341-349.

Akman, Y. (2011). *İklim ve Biyoiklim (Biyoiklim Metodları ve Türkiye İklimleri)*. Palme Yayıncılık. Ankara.

Smith, A.J.E. (1996). *The Liverworts of Britain and Ireland*. Cambridge University Press. London.

Smith, A.J.E. (2004). *The Moss Flora of Britain and Ireland*. Cambridge University Press. London.

Şahin, A., Ursavaş, S., & Abay, G. (2009a). Türkiye'nin A1 karesinin karayosunları (Musci) kontrol listesi. *I. Ulusal Batı Karadeniz Ormancılık Kongresi, Bartın, Türkiye, 5 - 7 Kasım 2009*, 2, 604-612.

Şahin, A., Ursavaş, S., & Abay, G. (2009b). Türkiye'nin A5 karesinin karayosunları (Musci) kontrol listesi. *I. Ulusal Batı Karadeniz Ormancılık Kongresi, Bartın, Türkiye, 5 - 7 Kasım 2009*, 2, 620-625.

Tchihatcheff, P.D. (1860). *Asie Mineure Vol. III. Botanique*, Tome, 2: 676.

URL 1. Climate Data. 2024. Website: <https://tr.climate-data.org/asya/tuerkiye/elaz%C4%B1g/elaz%C4%B1g-276/>. [Erişim: 23 Nisan 2024].

Ursavaş, S., & Abay, G. (2009). Türkiye'nin A2 Karesinin Karayosunları (Musci) Kontrol listesi. *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, 11(16), 33-43.

Ursavaş, S., Keçeli, T., & Abay, G. (2010). Türkiye'nin B8 karesinin bryophyta kontrol listesi. 20. *Ulusal Biyoloji Kongresi, Denizli, Türkiye, 21 - 25 Haziran 2010, 134, 392-393.*

Uyar, G., & Çetin, B. (2004). A new check-list of the mosses of Turkey. *Journal of Bryology, 26, 203-220.*

Walther K. 1967. Beitrage zur Moosflora Westanatoliens I. *Mitteilungen aus dem Staatsinstitut für Allgemeine Botanik in Hamburg, 12, 129-188.*

Walther, K. (1970). Beitrage zur Moosflora Westanatoliens II. *Mitteilungen aus dem Staatsinstitut für Allgemeine Botanik in Hamburg, 13, 167-180.*

Wettstein R. 1889. Beitrage zur Flora des Orientes. *Sitzungsberichte der Kaiserlichen Akademie der Wissenschaften, 98: 348-389.*

BÖLÜM 7

THE EFFECTS OF DIFFERENT CULTURE MEDIA ON THE GROWTH, ASTAXANTHIN, PROTEIN AND LIPID CONTENT OF *HAEMATOCOCCUS* *PLUVIALIS* MICROALGA SPECIES

GÖKÇE KENDİRLİOĞLU ŞİMŞEK¹

1. Introduction

Microalgae are photosynthetic organisms that naturally inhabit various aquatic environments and can survive across a wide temperature range, different pH levels, high salinity, and varying light intensities. As one of the oldest life forms on Earth, microalgal cells have undergone billions of years of evolution and adaptation, acquiring a diversity and complexity that enables various applications (Levasseur et al., 2020). These microorganisms can synthesize high-value bioactive compounds and serve as raw materials for industrial processes (Kumar et al., 2021; Premaratne et al., 2021).

¹ Dr., Firat University, Plant Tissue Culture Laboratory/ Elazig/ Turkey, Orcid: 0000-0001-8896-2893

The bioactive compounds derived from microalgae exhibit great diversity, among which astaxanthin is synthesized and accumulated at higher cellular concentrations in *Haematococcus pluvialis* compared to other microorganisms and plants. *H. pluvialis*, a unicellular green alga widely distributed in diverse freshwater habitats worldwide, is considered an efficient bioreactor for astaxanthin production. Under stress conditions, planktonic microalgal cells gradually transform into immobile cysts, during which the astaxanthin content can reach up to 4% of the dry weight (Panis & Carreon, 2016, p.175; Shah et al., 2016, p.531; Zhang et al., 2017, p.1205). Astaxanthin ($C_{40}H_{52}O_4$) is a ketocarotenoid recognized as one of the most potent antioxidants found in nature, possessing significant potential in the global economy and high market value (Liu et al., 2008, p.1736). Lipids are another extensively studied group of compounds extracted from microalgae (Maltsev & Maltseva, 2021, p.515). With the depletion of fossil fuels and the increasing environmental degradation, the demand for sustainable and renewable energy sources continues to rise. In this context, microalgae have garnered significant attention from researchers due to their high lipid content, rapid cell growth capacity, high photosynthetic efficiency, and the environmental benefits they offer for biofuel production and other high-value bioproducts (Aziz et al., 2020; Kong et al., 2020; Singh et al., 2020, p.223; Chua et al., 2022; Pang et al., 2019, p.450).

The main challenge in the commercialization of biofuel production from microalgae is the low biomass concentration, low lipid content, and the high costs associated with harvesting and lipid extraction (Hanifzadeh et al., 2018, p.989). The use of by-products from agro-industrial activities as substrates can reduce the cost of microalgal biomass production, making microalgal products more economically viable.

Therefore, the use of low-cost carbon sources, such as cellulosic materials or industrial waste sugars, instead of glucose, has been recommended for microalgal biomass production (Xu et al., 2006, p.499; Cheng et al., 2009, p.777; Jiang et al., 2009, p.3403). Among these substrates, one of the most promising is sugarcane molasses, a by-product of the sugar industry. Sugar beet molasses contains 23–26% water, 47–48% sugar, 9–14% minerals (Mg, Mn, Al, Fe, and Zn), and 8–12% nitrogenous compounds (amino acids, proteins, etc.) (Kalogiannis et al., 2007, p.249; Survase et al., 2007, p.1509; Yilmaztekin et al., 2008, p.34). However, molasses, one of the most heavily polluting wastes of the food processing industry, poses significant threats to human health and ecological balance due to its strong acidic nature, dark brown color, high chemical oxygen demand, and high concentrations of toxic metal ions. Therefore, utilizing molasses as a convertible substrate in microalgae cultivation provides significant advantages in terms of reducing environmental pollution and toxicity. As a factory by-product, molasses is rich in organic compounds such as aspartic, glutamic, and lactic acids, crude protein, monosaccharides, nitrogen, phosphorus, and micronutrients (K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+}), making it a potential culture medium for microalgae (Kalogiannis et al., 2007, p.249; Survase et al., 2007, p.1509; Yilmaztekin et al., 2008, p.34). Additionally, properly processed molasses has been identified as an efficient carbon source for the heterotrophic cultures of many microorganisms (Liu et al., 2008, p.1735; Sharma et al., 2008, p.3444; Jiang et al., 2009, p.3403; Yan et al., 2011, p.6487). The production of bioactive compounds from microalgae is closely related to the culture conditions to which these organisms are exposed. Numerous studies have evaluated how factors such as light, light intensity, photoperiod, salinity, temperature, pH, culture medium composition, nutrient availability, and medium characteristics significantly influence the production of specific bioactive compounds (Wahidin et al., 2013, p.7; Mandotra et al.,

2016, p.222). Whey, a by-product of cheese production, contains approximately 20% of the total milk protein and has rich chemical, physical, and functional properties.

However, studies using whey as a culture medium have shown that high concentrations negatively affect light transmittance, leading to poor growth of *Chlorella vulgaris* cultures. Among the by-products used in microalgae cultivation, whey has been reported as a good substrate by D'Imporzano et al. (2018), p.685. For algal biomass production, suitable growth media containing specific macro- and micronutrients are essential. Therefore, while maximizing production efficiency, cost-benefit analysis should also be taken into consideration

In this study, the aim is to establish a basis for biomass production of algae due to their high biotechnological potential, design an effective bioprocess to determine changes in cellular contents alongside cost-free production in industrial waste, and identify the optimal culture medium for enhancing cellular content, particularly astaxanthin production.

2. Materials and Methods

2.1. Materials

Haematococcus pluvialis is a unicellular green microalga that is globally distributed in various freshwater habitats. In this study, stock *Haematococcus pluvialis* cultures grown in BG11 medium were incubated at $23\pm1^{\circ}\text{C}$ under a 16-hour light/8-hour dark photoperiod with an illumination intensity of 3000 lux in a controlled incubator (Nüve ES 120/252). The cultures were inoculated into the media at a 1/1 (v/v) ratio.

2.2. Preparation of Culture Media

For the preparation of BG11 medium per 1000 ml; 75.0 g NaNO_3 ; 4.0 g K_2HPO_4 ; 7.5 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 3.6 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 0.10 g Na_2EDTA ; 2.00 g Na_2CO_3 ; 2.86 g H_3BO_3 ; 1.81 g $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; 0.22 g $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0.39 g $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 0.08 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; 0.05 g $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ were used. For the preparation of Jaworski's medium; 4.0 g $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; 2.48 g KH_2PO_4 ; 10.0 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 3.18 g NaHCO_3 ; 0.45 g FeNa-EDTA ; 0.45 g Na_2EDTA ; 0.496 g H_3BO_3 ; 0.278 g $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; 0.20 g $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; 0.008 g; Cyanocobalamin; 0.008 g Thiamine HCl; 0.008 g Biotin; 16.0 g NaNO_3 ; 7.2 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$. Stock solutions of these components were prepared, and 1 mL from each stock solution was added to distilled water to make a final volume of 1000 mL. For the molasses-based medium prepared at different concentrations, molasses was obtained from a sugar factory and diluted with distilled water to final concentrations of 1 g/L, 2 g/L, and 4 g/L. The whey used for the PAS medium was obtained from Akva LT. company. To prepare the PAS medium, 5 mL of whey was diluted with 1000 mL of distilled water. For the tap water medium, tap water was used as the culture medium. All prepared culture media were autoclaved at 121°C for 1.5 hours using a Nüve NC Laboratory Steam Sterilizer.

2.3. Analysis

For the optical density readings of *Haematococcus pluvialis*, the cultures were homogenized and 2 mL of each sample was taken with a micropipette and placed into quartz cuvettes. The readings were taken using a UV/VIS spectrophotometer (ISOLAB UV/VIS spectrophotometer) at a wavelength of 680 nm. All readings were performed for 10 days with three replicates for each measurement.

Protein analysis, 1 mL of the sample was taken, and 100 μ L of DOC (Sigma-Aldrich) solution was added. After thorough mixing, 100 μ L of TCA (Sigma-Aldrich) was added, and the mixture was centrifuged at 2000 rpm for 10 minutes. After discarding the supernatant, 1 mL of Lowry reagent was added to the pellet, and the mixture was allowed to stand for 20 minutes. Then, 1 mL of Folin & Fenol (Sigma-Aldrich) was added, and the samples were incubated for 30 minutes. The absorbance was measured at 750 nm. The protein concentrations in the samples were calculated according to the protein standard curve using Lowry's method (1951). Lowry et al.,1951, p.275).

For chlorophyll analysis, 2 mL of the sample was centrifuged at 2000 rpm for 10 minutes. After discarding the supernatant, the pellet was resuspended in 2 mL of 99.9% methanol and incubated in a dark environment at 45°C for 24 hours. After this period, the samples were centrifuged again at 2000 rpm, and the supernatant was collected for measurement at 665 nm and 652 nm. Carotenoid content was determined by measuring the samples at 470 nm according to Lichtenthaler (1987). The pigment concentrations were calculated using the following formulas: Chl-a (mg L^{-1}) = $16.72 A_{665.2} - 9.16 A_{652.4}$; Chl-b (mg L^{-1}) = $34.09 A_{652.4} - 15.28 A_{665.2}$; Caretenoid (mg L^{-1}) = $(1000 A_{470} - 1.63 \text{ Chl-a} - 104.9 \text{ Chl-b}) / 221$.(Lichtenthaler,1987, p.350).

For lipid analysis, 5 mL of the sample was mixed with an equal volume ($\frac{1}{2}$ ratio) of Methanol-Chloroform and 2 mL of 0.4% CaCl_2 was added. The mixture was filtered through filter paper (Schleicher & Schuell, 125 mm) into a pre-weighed round-bottom flask. The filtered samples were then dried at 105°C for 2 hours, with the flasks sealed to prevent air exposure, and kept in a dark environment for 24 hours. The next day, the upper layer of the methanol-water mixture was separated using a separating funnel.

The samples were placed in a water bath set at 80°C and then dried in an oven at 90°C for 1 hour to evaporate all chloroform. After cooling, the flasks were weighed using a sensitive scale, and the lipid content was calculated using the following formula (Bligh and Dyer, 1959, p.911).

Astaxanthin analysis, 5 mL of the sample was centrifuged at 2000 rpm for 10 minutes. The pellet was resuspended in 5 mL of 5% KOH and 30% methanol (v/v) and incubated at 65°C for 15 minutes. After centrifugation, the supernatant was discarded, and 5 mL of DMSO was added to the pellet. The sample underwent sonication at 3.0 kHz for 10 minutes using a Bandelin HD2070 Ultrasonic Homogenizer. This process was repeated until coloration was observed. The absorbance was measured at 490 nm using a spectrophotometer (Boussiba and Vonshak, 1991, p.1077). Astaxanthin concentration was calculated using the following formula (Davies, 1976, p.38).

2.4. Statistical analysis

All analyses were performed in triplicate. Data are presented as mean $\pm$ SD. The correlation heatmap shows the relationships between variables in the dataset. Each cell in this heatmap represents the correlation coefficient between two variables; the black and white colors represent the strength and direction of this correlation. In a correlation heatmap, the correlation coefficient ranges from -1 to 1.

A value of 1 indicates a perfect positive correlation, meaning that as one variable increases, the other variable also increases. A value of 0 indicates no relationship between the variables, meaning there is no correlation. A value of -1 indicates a perfect negative correlation, meaning that as one variable increases, the other decreases. All correlation heatmaps were created using Matplotlib.

3. Result and Discussion

3.1. Effect of Different Culture Media on The Growth of *Haematococcus pluvialis*

The study investigated changes in the growth parametre of *Haematococcus pluvialis* cultured for 10 days in six different culture media (BG11 medium, Jaworski's medium, tap water, whey, Melas 1 g/L, Melas 2 g/L and Melas 4 g/L).

Growth rates were similar in the BG11 and Jaworski media, with maximum cell densities observed on the 6th day, measuring 0.219 and 0.216, respectively. However, from the 8th day onward, a decreasing trend in optical density values was observed in both media. In the tap water medium, microalgae growth was limited, stabilizing at an optical density of 0.109 on day 6. In the 5 mL/L whey medium, the maximum value of 0.212 was reached on day 8, followed by a decline by day 10. In the Melas-containing media, growth was better. The 1 g/L Melas medium reached an optical density of 0.327 on day 6, while the 2 g/L Melas medium peaked at 0.405 on day 8. The 4 g/L Melas medium showed growth up to day 6 but declined thereafter.

In conclusion, the most suitable culture medium for microalgal growth was found to be the medium with 2 g/L Melas. This medium exhibited higher microalgal density compared to the other media, and the growth trend continued for a longer period.

Figure 1. Changes in Optical Density Values of *H. pluvialis* Inoculated in Different Culture Media over Ten Days

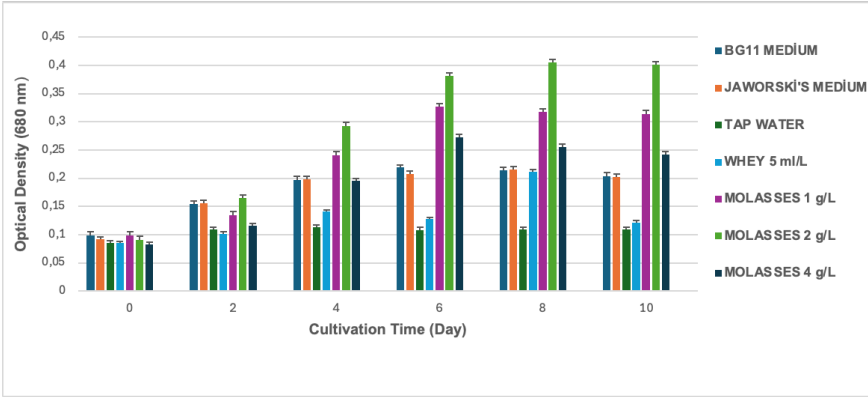
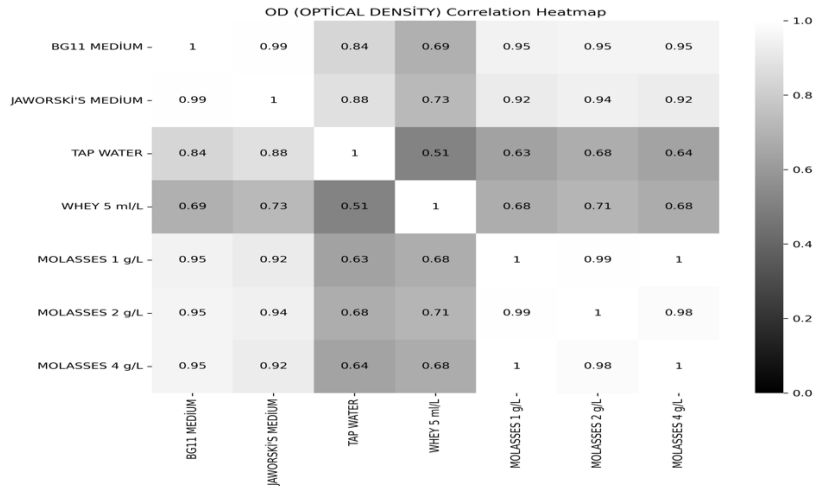


Figure 2. The Correlation Heatmap for Optical Density in *Haematococcus pluvialis* Species



3.2. Effect of Different Culture Media on the Protein Content of *Haematococcus pluvialis*

This study investigated the changes in the protein content of *Haematococcus pluvialis* cultured in different media. Throughout the experiment, an increase in protein content was observed in all culture media. In the BG11 and Jaworski media, the protein content gradually increased and reached the highest values of 1.313 (on day 8) and 1.222 (on day 8), respectively. However, a decrease in protein content was detected on the 10th day in both media. In the tap water medium, the protein content showed an increasing trend until the 8th day (1.102), but declined to 0.908 by the 10th day.

This suggests that tap water may lack sufficient nutrients for *H. pluvialis* growth and protein synthesis. In the medium containing whey, protein increase was observed until the 6th day (1.099), but the increase slowed down in subsequent days, and by the 10th day, the protein content decreased to 1.062. The media containing Melas were determined to provide the highest yield for protein synthesis. In the medium containing 1 g/L Melas, protein content showed a significant increase starting from day 4, with the highest value measured on day 6 (1.631). Although a slight decrease was observed on day 8 (1.595), the protein content remained at 1.393 on the 10th day. The medium with 2 g/L Melas yielded the highest protein content. Protein levels reached 1.467 on day 4, rose to 1.671 on day 6, and peaked at 1.693 on day 8.

Despite a slight decrease on day 10 (1.504), this value remained among the highest compared to the other media. In the medium containing 4 g/L Melas, a significant increase was recorded until day 4 (1.212), and the protein content rose to 1.363 by day 6. However, the increase in protein content stabilized on days 8 and 10 (1.365 and 1.272), indicating that high Melas concentrations may limit protein synthesis. The obtained data show that molasses is an effective carbon source for increasing protein synthesis in *H. pluvialis*. However, due to the potential limiting effects on protein synthesis at high concentrations, the medium containing 2 g/L molasses was determined to provide the optimal conditions for maximum production.

Figure 2. Changes in Protein Content of H. pluvialis Inoculated in Different Culture Media

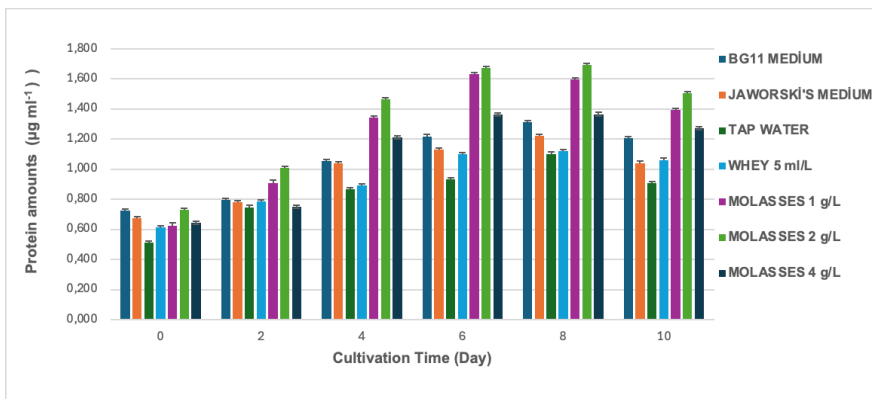
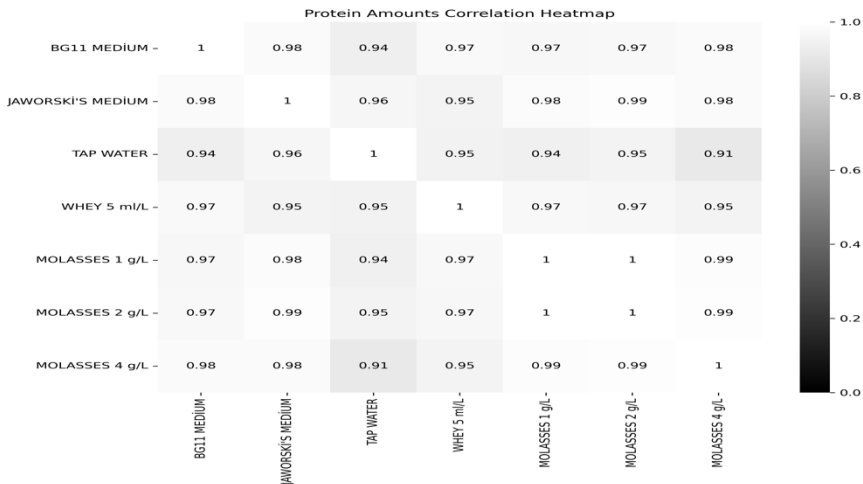


Figure.3 The Correlation Heatmap for Protein Amounts in Haematococcus pluvialis Species.



3.3. Effect of Different Culture Media and Concentrations on Astaxanthin Production in *H. pluvialis* Microalgae

The investigation of astaxanthin production under different culture media and concentrations plays a significant role in determining the optimal conditions for its production. In this context, in the BG11 medium, the initial astaxanthin concentration was measured at 0.652 $\mu\text{g/L}$. As the culture process progressed, the astaxanthin concentration increased to 2.588 $\mu\text{g/L}$ on day 6, then decreased to 2.329 $\mu\text{g/L}$ on day 8, and further declined to 2.139 $\mu\text{g/L}$ on day 10. This change indicates that, while the BG11 medium initially provided a significant increase in astaxanthin production, production declined in the following days. In Jaworski's medium, the initial astaxanthin concentration was measured at 0.648 $\mu\text{g/L}$, rising to 2.414 $\mu\text{g/L}$ on day 6. However, on day 8, it decreased to 2.118 $\mu\text{g/L}$, and by day 10, it further dropped to 2.022 $\mu\text{g/L}$.

Jaworski's medium exhibited a similar trend, with rapid production at first, but the increase slowed down in the subsequent days.

In the tap water medium, the initial astaxanthin concentration was measured at 0.603 $\mu\text{g/L}$ and rose to 1.903 $\mu\text{g/L}$ by day 6. However, by day 8, it decreased to 1.306 $\mu\text{g/L}$, and further declined to 1.080 $\mu\text{g/L}$ on day 10, resulting in lower levels of astaxanthin production compared to the other media. This medium showed limited increase in astaxanthin production. In the whey (5 mL/L) medium, the initial astaxanthin concentration was 0.605 $\mu\text{g/L}$, which increased to 1.821 $\mu\text{g/L}$ on day 6. However, on days 8 and 10, the concentration decreased to 1.216 $\mu\text{g/L}$ and 1.180 $\mu\text{g/L}$, respectively. The whey medium stands out as an environment with moderate levels of astaxanthin production. In the molasses 1 g/L medium, the initial astaxanthin concentration was 0.684 $\mu\text{g/L}$, which increased to 2.459 $\mu\text{g/L}$ on day 6. On days 8 and 10, the concentration decreased to 2.232 $\mu\text{g/L}$ and 2.383 $\mu\text{g/L}$, respectively.

The molasses 1 g/L medium shows that astaxanthin production remained at high levels, with a gradual decline following the initial increase. In the molasses 2 g/L medium, the initial astaxanthin concentration was 0.641 $\mu\text{g/L}$, which increased to 2.927 $\mu\text{g/L}$ on day 6. Astaxanthin production reached its peak in this medium, with concentrations dropping to 2.765 $\mu\text{g/L}$ on day 8 and 2.525 $\mu\text{g/L}$ on day 10.

This medium maintained high production levels, making molasses 2 g/L the most efficient medium for astaxanthin production. In the molasses 4 g/L medium, the initial concentration was 0.666 $\mu\text{g/L}$, which increased to 2.261 $\mu\text{g/L}$ on day 6, then decreased to 2.111 $\mu\text{g/L}$ on day 8, and to 2.207 $\mu\text{g/L}$ on day 10. Although molasses 4 g/L showed lower production levels compared to molasses 1 g/L and 2 g/L, it still demonstrated significant astaxanthin production.

These findings indicate that the molasses 2 g/L medium is the most productive for astaxanthin production, followed by molasses 1 g/L and molasses 4 g/L.

BG11 and Jaworski's media also showed high astaxanthin production, while tap water and whey media exhibited lower production levels. Overall, this study demonstrates that molasses-based media offer a potentially strong alternative for astaxanthin production, with the medium concentration playing a critical role in determining production levels.

Figure 3. Change in Astaxanthin Content of H. pluvialis Species Inoculated in Different Culture Media

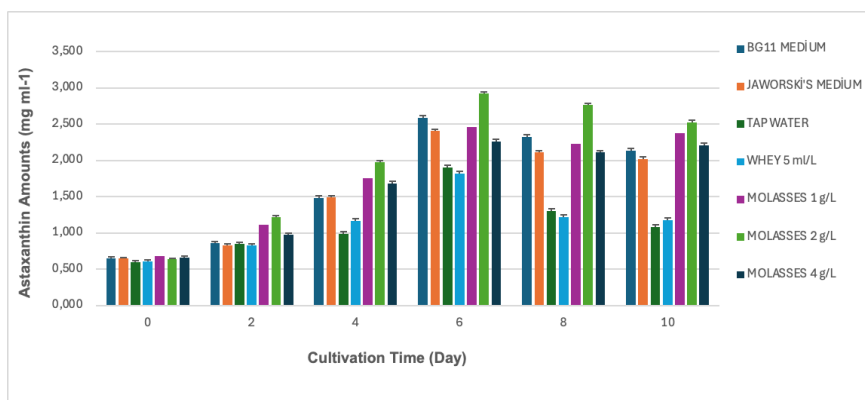
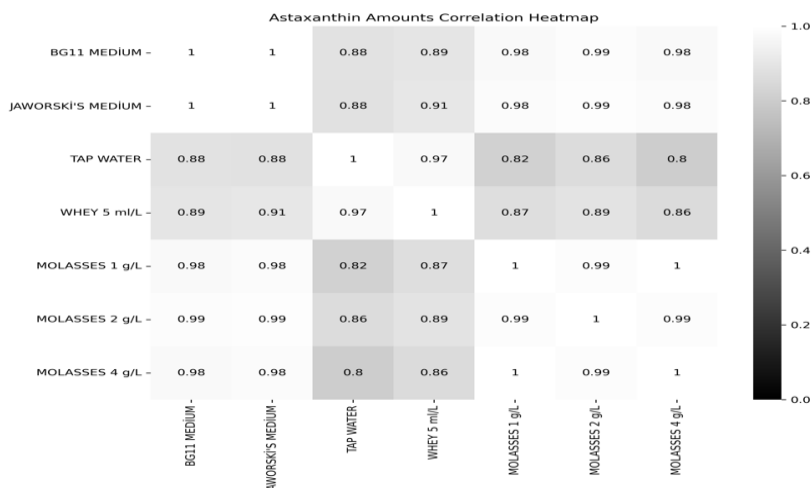


Figure 3. The Correlation Heatmap for Astaxanthin Amounts in *Haematococcus pluvialis* Species



3.4. Effect of Different Culture Media and Concentrations on Lipid Content of *H. pluvialis* Microalga Species

The lipid content was examined under different nutrient media and concentrations. In the BG11 medium, the lipid content, initially measured at 46.9 $\mu\text{g/L}$, showed an increase during the culture process, reaching 70.25 $\mu\text{g/L}$ on day 6. Lipid production in this medium steadily increased throughout the culture period, peaking on day 6; however, it decreased to 72.8 $\mu\text{g/L}$ on day 8 and 70.45 $\mu\text{g/L}$ on day 10. In the Jaworski medium, the initial lipid content of 46.15 $\mu\text{g/L}$ increased to 69.75 $\mu\text{g/L}$ on day 6, then remained relatively stable with values of 70.9 $\mu\text{g/L}$ and 69.6 $\mu\text{g/L}$ on days 8 and 10, respectively. Similarly, lipid production in the Jaworski medium showed an initial increase followed by stabilization.

In the tap water medium, the initial lipid content of 40.09 $\mu\text{g/L}$ increased to 61.05 $\mu\text{g/L}$ on day 6, but then decreased to 66.15 $\mu\text{g/L}$ on day 8 and 63.55 $\mu\text{g/L}$ on day 10. This trend indicates an initial increase in lipid production followed by a decline in subsequent days. In the whey medium, lipid content started at 41.6 $\mu\text{g/L}$ and reached 65.5 $\mu\text{g/L}$ on day 6. On days 8 and 10, lipid levels were 69.1 $\mu\text{g/L}$ and 65.1 $\mu\text{g/L}$, showing a temporary high level before a decline.

In the Molasses 1 g/L medium, the initial lipid production of 45.65 $\mu\text{g/L}$ increased to 76.45 $\mu\text{g/L}$ on day 6 and reached 78.3 $\mu\text{g/L}$ on day 8 and 77.7 $\mu\text{g/L}$ on day 10. Lipid production in this medium showed a continuous increase and remained high throughout the culture period. In the Molasses 2 g/L medium, the initial lipid content of 48.3 $\mu\text{g/L}$ increased to 80.45 $\mu\text{g/L}$ on day 6, peaking at 85.5 $\mu\text{g/L}$ on day 8 and then decreasing slightly to 83.15 $\mu\text{g/L}$ on day 10. The Molasses 2 g/L medium provided the highest lipid production, making it the most efficient medium for lipid production. In the Molasses 4 g/L medium, lipid content initially measured at 44.95 $\mu\text{g/L}$, increased to 68.85 $\mu\text{g/L}$ on day 6, and then decreased to 71.2 $\mu\text{g/L}$ on day 8 and 66.3 $\mu\text{g/L}$ on day 10. This medium showed an increase in lipid production but stabilized at a moderate level.

Overall, the Molasses 2 g/L medium provided the highest lipid production, followed by the Molasses 1 g/L and BG11 media. The Jaworski medium also showed high lipid production, whereas tap water and whey media exhibited lower production levels. These findings highlight the strong potential of molasses-based nutrient media for lipid production and demonstrate the impact of medium concentrations on production levels.

Figure 4. Changes in the Lipid Content of *H. pluvialis* Species Inoculated in Different Culture Media.

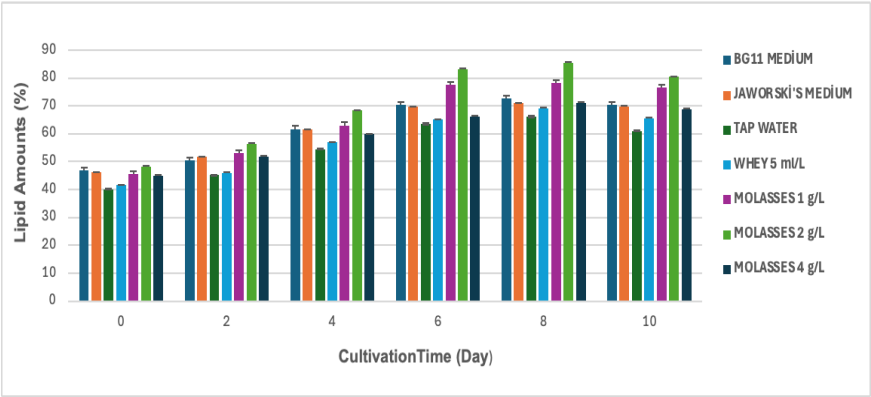
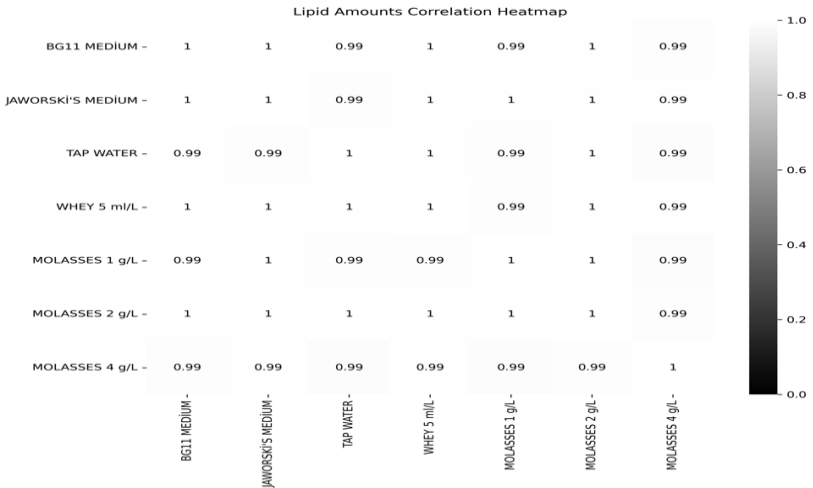


Figure 4. The Correlation Heatmap for Lipid Amounts in *Haematococcus pluvialis* Species.



3.5. The Effect of Different Culture Media and Concentrations on Chlorophyll a, Chlorophyll b and Carotenoid Content of *H. pluvialis* Microalgae

When examining the chlorophyll a content according to different culture media and concentrations, the initial value of 0.227 µg/L in the BG11 medium decreased to 0.935 µg/L on day 6, while in the Jaworski's medium, after an increase, it declined to 0.826 µg/L on day 10. In the tap water medium, the initial value of 0.226 µg/L increased to 0.615 µg/L on day 6, and then decreased. In the whey 5 ml/L medium, the initial value of 0.209 µg/L rose to 0.777 µg/L on day 6, followed by a decrease.

In the molasses 1 g/L medium, chlorophyll a reached 1.332 µg/L on day 6, and then declined to 1.105 µg/L on day 10. In the molasses 2 g/L medium, the initial value of 0.226 µg/L increased to 1.479 µg/L on day 6, and then decreased to 1.302 µg/L on day 10. In the molasses 4 g/L medium, chlorophyll a reached 1.191 µg/L on day 6, and then decreased to 0.970 µg/L on day 10.

The molasses 2 g/L medium provided the highest chlorophyll a production, while the other molasses media, as well as BG11 and Jaworski's medium, remained at moderate levels. Tap water and whey media showed lower production.

These results indicate that molasses-based media offer an effective option for chlorophyll a production.

Figure 5. Changes in the Chlorophyll a Content of H. pluvialis Species Inoculated in Different Culture Media

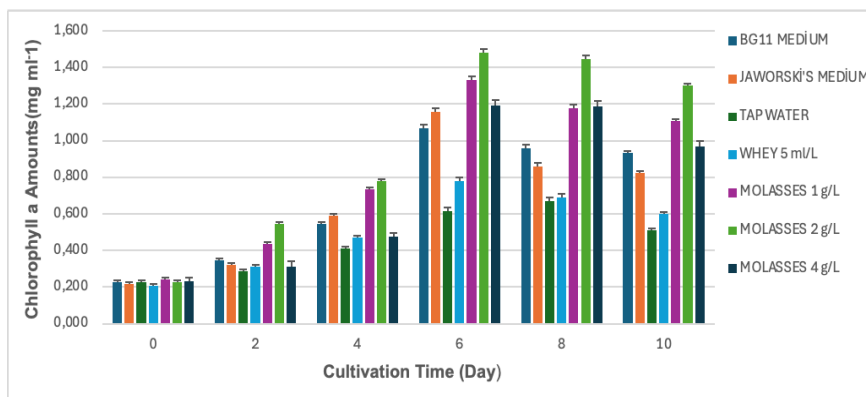
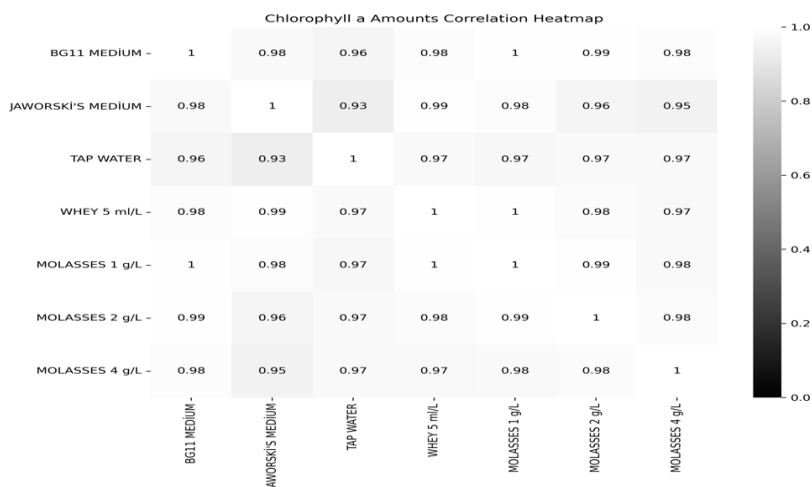


Figure.5. The Correlation Heatmap for Chlorophyll a Amounts in Haematococcus pluvialis Species.



Chlorophyll b content showed variation across different culture media and concentrations. In the BG11 medium, chlorophyll b, which was initially 0.315 µg/L, increased to 1.200 µg/L by day 6, but declined to 0.556 µg/L on day 10, showing a decreasing trend. In the Jaworski medium, chlorophyll b started at 0.344 µg/L, increased to 1.005 µg/L on day 6, and then dropped to 0.552 µg/L on day 10. In the tap water medium, chlorophyll b increased from 0.307 µg/L to 0.857 µg/L on day 6, but decreased to 0.504 µg/L on day 10, remaining at low levels. In the whey culture medium, the initial value of 0.348 µg/L increased to 0.848 µg/L on day 6, but declined to 0.494 µg/L on day 10, showing a similar decrease. In the molasses 1 g/L medium, the initial chlorophyll b value of 0.343 µg/L rose to 1.540 µg/L on day 6, then dropped to 0.784 µg/L on day 10.

In the molasses 2 g/L medium, chlorophyll b was initially measured at 0.377 µg/L, and increased to 1.664 µg/L on day 6, then decreased to 1.079 µg/L on day 10, providing the highest yield. In the molasses 4 g/L medium, the chlorophyll b content, initially 0.334 µg/L, increased to 1.537 µg/L on day 6, but decreased to 0.768 µg/L on day 10. These results demonstrate that molasses-containing media had a significant effect on chlorophyll b production, especially the 2 g/L concentration, which promoted chlorophyll b production.

Figure 6. Changes in the Chlorophyll b Content of *H. pluvialis* Species Inoculated in Different Culture Media

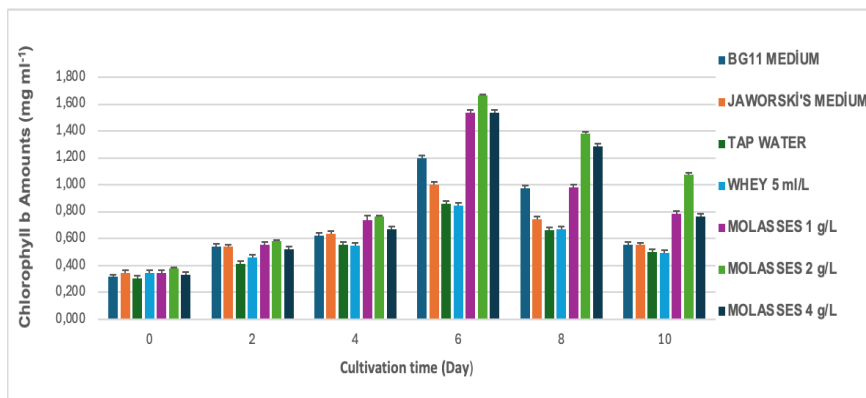
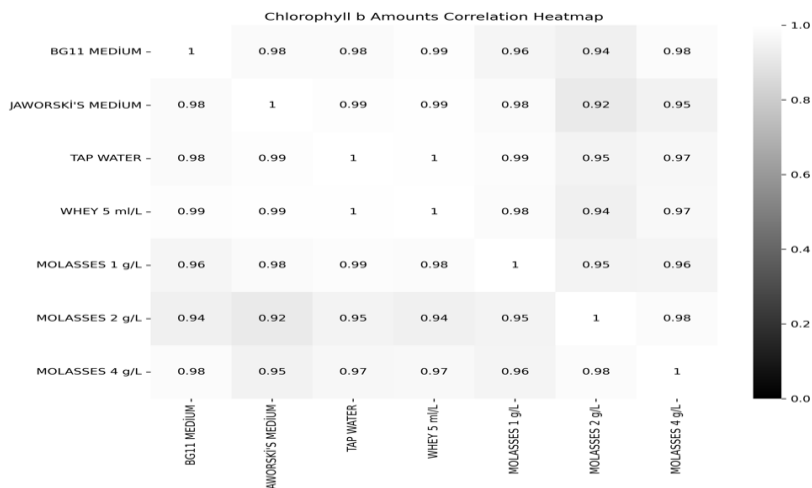


Figure 6. The Correlation Heatmap for Chlorophyll b Amounts in *Haematococcus pluvialis* Species



Analyses conducted in different culture media and concentrations revealed how carotenoid levels changed throughout the culture process. In the BG11 medium, the initial carotenoid content of 0.444 $\mu\text{g/L}$ increased to 1.665 $\mu\text{g/L}$ on day 6, then decreased to 0.88 $\mu\text{g/L}$ on day 10.

The carotenoid content showed a significant increase, especially on day 6. In the Jaworski medium, the initial carotenoid content of 0.445 $\mu\text{g/L}$ rose to 1.619 $\mu\text{g/L}$ on day 6, then dropped to 0.76 $\mu\text{g/L}$ on day 10. Carotenoid production peaked on day 6 here as well. In the tap water medium, the initial carotenoid content of 0.435 $\mu\text{g/L}$ increased to 1.116 $\mu\text{g/L}$ on day 6, and decreased to 0.665 $\mu\text{g/L}$ on day 10. In this medium, the increase in carotenoid content was noticeable on day 6, but a decrease was observed on day 10. In the whey 5 ml/L medium, the initial carotenoid content of 0.424 $\mu\text{g/L}$ rose to 1.02 $\mu\text{g/L}$ on day 6, then decreased to 0.643 $\mu\text{g/L}$ on day 10. A similar increase and decrease trend in carotenoid production was also observed in this medium. In the molasses 1 g/L medium, the initial carotenoid content of 0.465 $\mu\text{g/L}$ increased to 1.776 $\mu\text{g/L}$ on day 6, then dropped to 1.02 $\mu\text{g/L}$ on day 10.

Carotenoid production reached its highest level on day 6 in this medium. In the molasses 2 g/L medium, the initial carotenoid content of 0.447 $\mu\text{g/L}$ increased to 1.887 $\mu\text{g/L}$ on day 6, then decreased to 1.208 $\mu\text{g/L}$ on day 10. Again, carotenoid content peaked on day 6, followed by a decrease.

In the molasses 4 g/L medium, the initial carotenoid content of 0.457 $\mu\text{g/L}$ rose to 1.58 $\mu\text{g/L}$ on day 6, then decreased to 0.905 $\mu\text{g/L}$ on day 10. In this medium, an increase was observed on day 6, but a decrease was seen on day 10.

Figure 7. Changes in the Carotenoid Content of H. pluvialis Species Inoculated in Different Culture Media

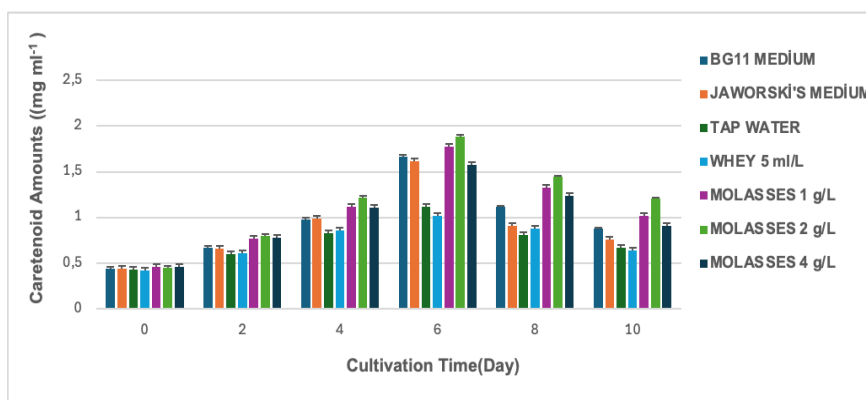
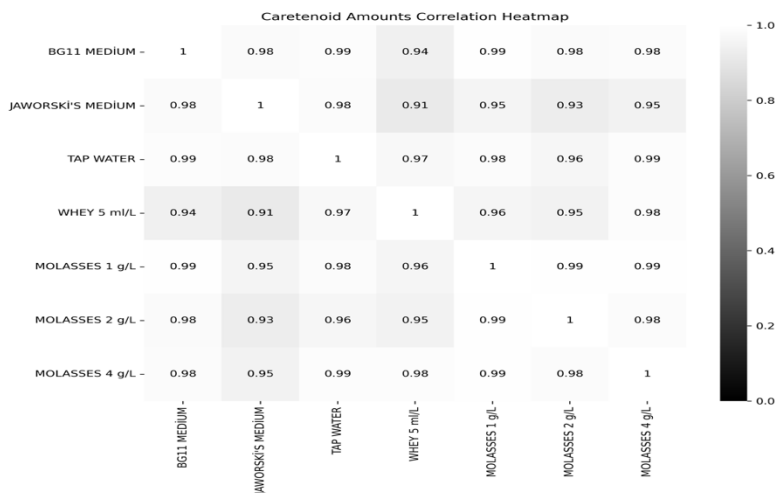


Figure 7. The Correlation Heatmap for Caretenoid Amounts in *Haematococcus pluvialis* Species



Overall, it was determined that higher carotenoid production occurred in molasses-containing media, with peak levels reached on day 6. Among the different media, the molasses 2 g/L medium provided the highest carotenoid production.

4. Conclusion

In this study, the effects of different culture media on the development, astaxanthin, protein, lipid, chlorophyll a, chlorophyll b, and carotenoid content of *Haematococcus pluvialis* were investigated. The results revealed that the culture media used had a significant impact on the microalgal development and production of metabolic compounds. Cell density increased throughout the culture period in all media.

Molasses-containing media resulted in the highest increase in cell density, allowing for faster growth of *Haematococcus pluvialis*. On day 6, the molasses 2 g/L medium reached the highest cell density, while the BG11 medium also showed good growth. Regarding astaxanthin production, the molasses-containing media achieved the highest yields. The molasses 2 g/L medium reached its peak in astaxanthin production on day 6, with the highest amount of astaxanthin compared to all other media. On day 10, a general decrease in astaxanthin levels was observed.

In terms of protein content, the molasses 2 g/L and molasses 1 g/L media resulted in the highest protein production. These media best supported the microalgal cell growth and metabolism, particularly on day 6, when a significant increase in protein content was observed. Compared to other media, molasses-containing media were more efficient for protein production. For lipid content, the molasses 2 g/L medium achieved the highest lipid production. In this medium, the increase in lipid content on day 6 was significantly high, and although a decrease occurred on day 10, high production continued. Chlorophyll a content followed a similar trend across all media, reaching high levels on day 6 and then decreasing. Molasses-containing media, especially the molasses 2 g/L medium, showed higher chlorophyll a production. Chlorophyll b content also exhibited a similar increase in molasses-containing media, but the increase in chlorophyll b levels was generally lower than chlorophyll a. The molasses 2 g/L medium reached higher levels of chlorophyll b production compared to other media. Regarding carotenoid content, molasses-containing media also yielded the highest production. The increase in carotenoid content on day 6 was notably high, and the molasses 2 g/L medium demonstrated the highest carotenoid production.

In conclusion, the development and metabolic compound production of *Haematococcus pluvialis* varied depending on the culture media used. Molasses-containing media exhibited higher levels of astaxanthin, protein, lipid, chlorophyll a, chlorophyll b, and carotenoid production compared to other media. Specifically, the molasses 2 g/L medium stood out as the most efficient for microalgal biomass and metabolic product production. As an industrial waste, molasses offers an economical alternative as a culture medium. Using this waste material as a medium can lower the production costs of *Haematococcus pluvialis* cultures, providing a more sustainable production process.

These findings highlight the significant potential for utilizing industrial waste and developing economic production processes. In this context, molasses-containing media may serve as a low-cost and environmentally friendly alternative in microalgal biotechnology.

5. References

Aziz, M. M. A., Kassim, K. A., Shokravi, Z., Jakarni, F. M., Liu, H. Y., Zaini, N., Tan, L. S., Islam, A. B. M. S., & Shokravi, H. (2020). Two-stage cultivation strategy for simultaneous increases in growth rate and lipid content of microalgae: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 119, 109621. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.109621>

Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37, 911–917.

Boussiba, S., & Vonshak, A. (1991). Astaxanthin accumulation in the green alga *Haematococcus pluvialis*. *Plant Cell Physiology*, 32, 1077–1082.

Cheng, Y., Zhou, W., Gao, C., Lan, K., Gao, Y., & Wu, Q. (2009). Biodiesel production from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) tuber by heterotrophic microalgae *Chlorella protothecoides*. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 84, 777–781.

Chua, S. Y., Cheng, Y. W., Man, K. L., Dasan, Y. K., & Lim, S. (2022). Microalgae cultivation for sustainable biofuel production. In *Value-Chain of Biofuels*.

Davies, B. H. (1976). Carotenoids. In T. W. Goodwin (Ed.), *Chemistry and biochemistry of plant pigments* (Vol. 2, pp. 38–166). Academic Press.

D’Imporzano, G., Veronesi, D., Salati, S., & Adani, F. (2018). Carbon and nutrient recovery in the cultivation of *Chlorella vulgaris*: A life cycle assessment approach to comparing environmental performance. *Journal of Cleaner Production*, 194, 685–694. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.05.174>

Hanifzadeh, M., Garcia, E. C., & Viamajala, S. (2018). Production of lipid and carbohydrate from microalgae without compromising biomass productivities: Role of Ca and Mg. *Renewable Energy*, 127, 989–997. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2018.05.012>

Jiang, L., Wang, J., Liang, S., Wang, X., Cen, P., & Xu, Z. (2009). Butyric acid fermentation in a fibrous bed bioreactor with immobilized *Clostridium tyrobutyricum* from cane molasses. *Bioresource Technology*, 100, 3403–3409.

Kalogiannis, S., Iakovidou, G., Liakopoulou-Kyriakides, M., Kyriakidis, D. A., & Skaracis, G. N. (2003). Optimization of xanthan gum production by *Xanthomonas campestris* grown in molasses. *Process Biochemistry*, 39, 249–256.

Kong, F., Ren, H.-Y., Pavlostathis, S. G., Nan, J., Ren, N.-Q., & Wang, A. (2020). Overview of value-added products bioelectrosynthesized from waste materials in microbial electrosynthesis systems. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 125, 109816. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2020.109816>

Kumar, B. R., Mathimani, T., Sudhakar, M. P., Rajendran, K., Nizami, A.-S., Brindhadevi, K., & Pugazhendhi, A. (2021). A state-of-the-art review on the cultivation of algae for energy and other valuable products: Application, challenges, and opportunities. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 138, 110649. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2020.110649>

Levasseur, W., Perré, P., & Pozzobon, V. (2020). A review of high value-added molecules production by microalgae in light of the classification. *Biotechnology Advances*, 41, 107545. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2020.107545>

Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic membranes. *Methods in Enzymology*, 148, 350–382.

Liu, Y.-P., Zheng, P., Sun, Z.-H., Ni, Y., Dong, J.-J., & Zhu, L.-L. (2008). Economical succinic acid production from cane molasses by *Actinobacillus succinogenes*. *Bioresource Technology*, 99, 1736–1742.

Maltsev, Y., & Maltseva, K. (2021). Fatty acids of microalgae: Diversity and applications. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*.515-547. <https://doi.org/10.1007/s11157-021-09571-3>

Mandotra, S. K., Kumar, P., Suseela, M. R., Nayaka, S., & Ramteke, P. W. (2016). Evaluation of fatty acid profile and biodiesel properties of microalga *Scenedesmus abundans* under the influence of

phosphorus, pH and light intensities. *Bioresource Technology*, 201, 222–229. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.11.042>

Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193, 265–275. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)52451-6)

Pang, N., Gu, X., Chen, S., Kirchhoff, H., Lei, H., & Roje, S. (2019). Exploiting mixotrophy for improving productivities of biomass and co-products of microalgae. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 112, 450–460. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.0>

Panis, G., & Carreon, J. R. (2016). Commercial astaxanthin production derived by green alga *Haematococcus pluvialis*: A microalgae process model and a techno-economic assessment all through production line. *Algal Research*, 18, 175–190. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.06.007>

Premaratne, M., Liyanaarachchi, V. C., Nimarshana, P. H. V., Ariyadasa, T. U., Malik, A., & Attalage, R. A. (2021). Co-production of fucoxanthin, docosahexaenoic acid (DHA) and bioethanol from the marine microalga *Tisochrysis lutea*. *Biochemical Engineering Journal*, 176, 108160. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2021.108160>

Sharma, A., Vivekanand, V., & Singh, R. P. (2008). Solid-state fermentation for gluconic acid production from sugarcane molasses by *Aspergillus niger* ARNU-4 employing tea waste as the novel solid support. *Bioresource Technology*, 99, 3444–3450.

Shah, M. M. R., Liang, Y. M., Cheng, J. J., et al. (2016). Astaxanthin producing green microalga *Haematococcus pluvialis*: From single cell to high value commercial products. *Frontiers in Plant Science*, 7, 531. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00531>

Singh, J., Jain, D., Agarwal, P., & Singh, R. P. (2020). Process Biochemistry. *Process Biochemistry*, 95, 223–234. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2020.02.012>

Survase, S. A., Saudagar, P. S., & Singhal, R. S. (2007). Use of complex media for the production of scleroglucan by *Sclerotium rolfsii* MTCC 2156. *Bioresource Technology*, 98, 1509–1512.

Wahidin, S., Idris, A., & 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.

Yan, D., Lu, Y., Chen, Y.-F., & Wu, Q. (2011). Waste molasses alone displaces glucose-based medium for microalgal fermentation towards cost-saving biodiesel production. *Bioresource Technology*, 102, 6487–6493.

Xu, H., Miao, X., & Wu, Q. (2006). High quality biodiesel production from a microalga *Chlorella protothecoides* by heterotrophic growth in fermenters. *Journal of Biotechnology*, 126, 499–507.

Yilmaztekin, M., Erten, H., & Cabaroglu, T. (2008). Production of isoamyl acetate from sugar beet molasses by *Williopsis saturnus var. saturnus*. *Journal of the Institute of Brewing*, 114, 34–38.

Zhang, C. H., Liu, J. G., & Zhang, L. T. (2017). Cell cycles and proliferation patterns in *Haematococcus pluvialis*. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 35(5), 1205–1211. <https://doi.org/10.1007/s00343-017-6103-8>

BÖLÜM 8

DİMETOAT ve SUCUL KAYNAKLAR ÜZERİNDEKİ TOKSİSİTESİ

YELİZ ÇAKIR SAHİLLİ¹

Giriş

Organofosfatlı bir böcek ilacı olan dimetoat, ilk olarak 1962'de akarlar, yaprak bitleri, sinekler ve bitki zararlıları gibi çeşitli böceklerin geniş şekilde kullanımı için geliştirilmiştir. Asetilkolinesteraz aktivitesini baskılayarak sinir hasarına ve o organizmanın ölümüne neden olur. Birçok organizmanın dimetoattan zarar gördüğü gözlemlenmiştir. Bunlar arasında, sucul organizmalar pestisitlere maruz kalmaları nedeniyle oldukça etkilenmektedir. Bunun sonucunda, oksidatif stres, nörotoksik etkiler ve davranışsal anormallikler gösterebilirler. Bu su organizmalarının birçoğu insanların temel besinlerinin bir parçasıdır. Bu nedenle, bu organizmalarda biriken pestisit kalıntıları insan vücuduna girer. Ayrıca, kalıntılarının yer altı sularına sızması sonucu insan vücuduna da girebilir.

Pestisitler, tarımsal zararlı kayıplarını en aza indirmede ve ürün çıktısını artırmada önemli bir rol oynamaktadır (Damalas &

¹ Doç. Dr. Munzur Üniversitesi, Tunceli Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Cihazlar ve Teknikler Bölümü, Orcid: 0000-0003-1905-5506

Khan, 2017:59). Organofosfatlı pestisitler (OP'ler), Aphididae, Acari, Aleyrodidae, Coleoptera, Coccidae, Collembola, Lepidoptera, Diptera, Pseudococcidae ve Thysanoptera familyaları dahil olmak üzere, ürünlerde, meyvelerde ve sebzelerde çok sayıda böcek zararlısını kontrol etmek için dünya çapında tarımsal uygulamalarda kullanılmaktadır (Saha & ark., 2021:10902; Saha & ark., 2022:180). Bazı OP'ler tarımda fungusit ve herbisit olarak da kullanılmaktadır (Myers & ark., 2016:19; Soltani & ark., 2017:971). Organofosfatlar, asetilkolinesteraz enziminin inhibitörleri olarak etki ederek aşırı nörotransmitter asetilkolin (ACh) birikimine neden olmaktadırlar. Vücuttaki bu ACh fazlası, kolinerjik toksisite ile ilişkili semptomların ortaya çıkmasına yol açmaktadır (Sidhu & ark., 2019:1135). OP'lerin artan kullanımı, %40'luk küresel OP hakimiyetine yol açmıştır ve bu, güvenilirliklerine, uygulanabilirliklerine ve uygun fiyatlı olmaları ile ilişkilendirilebilir (Montuori & ark., 2016:218).

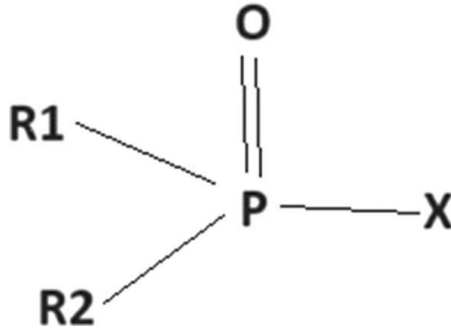
Diğer pestisit gruplarına benzer şekilde, OP'lerin aşırı ve uzun vadeli kullanımı, kalıcı yapıları ve ekotoksisiteyi nedeniyle insan nüfusunu, ekosistemleri ve biyolojik çeşitliliği tehlikeye atmaktadır (Kole, Banerjee, & Bhattacharyya, 2001:554). Yüksek konsantrasyon, homeostaz ve metabolizma dahil olmak üzere tipik vücut sistemlerini bozarak insanlar için tehlike oluşturur. OP'ler çevreye sprey sürüklenmesi, yüzey drenajı, topraktan emilim veya dökülmeler yoluyla girebilirler (Moss, 2008:659). Atmosfere rüzgar tarafından buharlaşma, sürüklenme veya aşınma yoluyla ulaşılabilir ve yağış yoluyla çevreye geri dönebilirler (Dubus, Hollis & Brown, 2000:331; Lushchak & ark., 2018:554).

Sonuç olarak, OP'ler suda, tortularda, canlıların bedenlerinde ve atmosferde bulunabilir. Sorumsuzca kullanılan pestisitler yeraltı suyu rezervuarlarına, havaya ve toprağa zarar verebilirler (Schafer & ark., 2012:691; Aktar, Sengupta & Chowdhury., 2009:1). Kümülatif ve çeşitli karakterleri nedeniyle

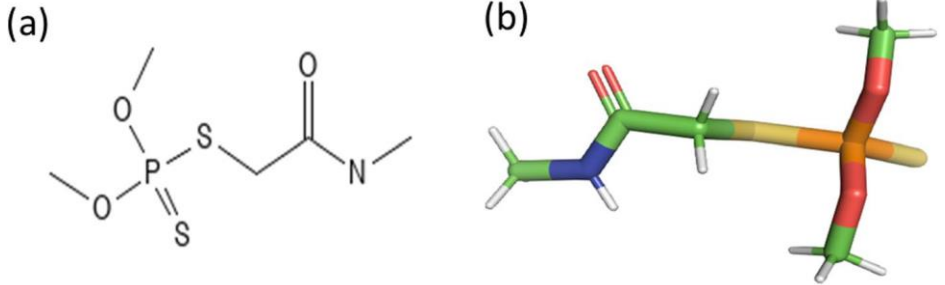
türlere, toksinlere karşı hassasiyete ve metabolik özelliklere göre besin zincirlerine girerler (Wilkinson & ark., 2000:30; Hodgson, 2010:893). Aril sübstitüe OP'lerin kalan yarı ömrü alkil sübstitüe OP'lerden daha uzundur ve bu da çevrede daha fazla stabilite ve kalıcılıkla sonuçlanır. Etil ve metil türevleri gibi daha karmaşık ve polar olmayan moleküllerde, suda çözünürlüğün azaldığı görülmektedir (Chiou, Peters & Freed 1979:831). Dahası, OP'ler yüksek biyolojik aktiviteleri nedeniyle anti-enzimatik bir role sahiptirler. Bu nedenle düzgün beyin işlevi için gerekli olan asetilkolinesteraz enziminin kalıcı olarak baskılanmasını sağlayabilirler (Galloway & Handy, 2003:345; Van der Oost, Beyer & Vermeulen, 2003:57).

Dimetoat, tarımda kullanılan en önemli OP'lerden biridir (Ahmad & ark., 2022:51383).  zellikleri nedeniyle bazı ülkede kullanımı kısıtlanmış olsa da, hala küresel olarak tarımsal ve kentsel alanlarda kullanılmaktadır. Dimetoat, suda kolayca çözünebilen ve toprakta sınırlı kalıcılı a sahip bir bileşiktir (Vogue, Kerle & Jenkins, 1994:1). Bu iki fizikokimyasal özelliği, pestisit'in tarımsal uygulamalar sonrası yüzey sularına taşınma potansiyelini artırmakta ve akuatik ekosistemleri özellikle hassas hale getirmektedir.

Şekil 1: R1'in bir alkil grubu, R2'nin bir aril grubu ve X'in bir değişken olduğu geleneksel bir organofosfat yapısı. X aromatik, alifatik veya heterosiklik olabilir.



Şekil 2: Dimetoatın kimyasal yapısı. (a) Dimetoatın 2B yapısı (b) Dimetoatın yapısının 3B görünümü



Böcek ilacı kullanımı

Dimetoat ilk olarak 1962'de tescil edildi ve o zamandan beri sinek, akar, yaprak biti ve bitki zararlısı gibi çeşitli böcekleri karşı yaygın olarak kullanıldı (Wexler & Anderson, 2005:35).

Avrupa Birliği'nde, dimetoatın bitki koruma ürünlerinin aktif maddesi olarak kullanılmasına ilişkin onay 2020'de sona erdi. Başvurunun değerlendirme aşamasında çeşitli endişeler tespit edildiği için, Dimetoat'ın onay yenilemesi henüz yapılmamıştır. Örneğin, dimetoatın ana metaboliti olan ometoatın bir in vivo

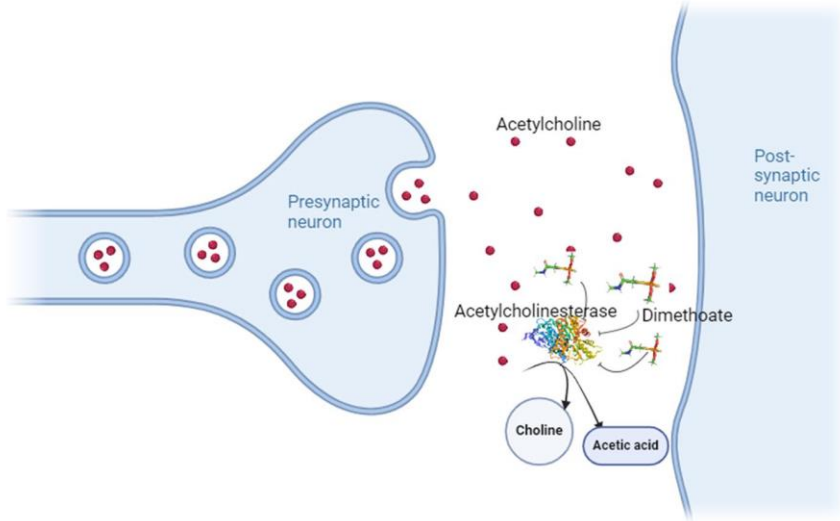
mutajen olduğu sonucuna varılmıştır. Dimetoatın kendisinin mutajenik potansiyeli göz ardı edilememiştir (Ahmad & ark., 2022:51383). Ayrıca, memeliler ve hedef olmayan eklembacaklılar ve bal arıları için yüksek risk oluşturabileceği sonucuna varılmıştır (Silva & ark., 2021:43274).

Çelişkili bir durum olarak, dimetoatın çevresel ve toksikolojik risklerine rağmen, özellikle Amerika Birleşik Devletleri'nde kullanımına geniş ölçüde izin verilmektedir. Bu pestisit, meyve, sebze, tahıl ve süs bitkileri gibi pek çok tarım ürününde yaygın olarak kullanılmakta; ayrıca peyzaj yönetimi ve yapısal haşere kontrolü gibi tarım dışı alanlarda da ruhsatlandırılmıştır (U.S. EPA, 2008). Yıllık olarak yaklaşık 816.466 kg dimetoatın, başta yonca, buğday, pamuk ve mısır olmak üzere çeşitli tarım arazilerine uygulandığı bildirilmektedir (Wang et al., 2022:1905).

Etki mekanizması

Dimetoat bir asetilkolinesteraz inhibitörüdür. İnhibisyon, sinir sinapslarında asetilkolin birikmesine neden olarak merkezi sinir sisteminin düzgün çalışması için gerekli olan kolinesteraz enzimini (şekil 3) engeller (Lundebye & ark., 1997:23). Sinapslarda asetilkolin birikimi sürekli kas aktivasyonuna neden olarak konvülsiyonlara, yorgunluğa ve ölüme yol açar. Aktif oksidatif metaboliti N-demetile edilmiş ometoattır. Hem hayvanlar hem de bitkiler dimetoatı bir okson metaboliti olan ometoata metabolize eder. Metabolik dönüşüm, dimetoatın çift bağlı sülfür atomunu bir oksijen atomu ile değiştirir (Pappas & Kyriakidis, 2003:23). Ometoat, asetilkolinesterazı inhibe etmede ana molekülden iki ila üç kat daha güçlüdür. Asetilkolinesteraz, nörotransmitter asetilkolinin inaktif kolin artı asetik aside hidrolizini başlatan bir enzim ailesidir (Fukuto, 1990:245).

Şekil 3: Dimetoatın etki mekanizması. Dimetoat, asetilkolinesterazı inhibe ederek sinaptik aralıkta asetilkolin birikmesine yol açar ve bu da postsinaptik nöron veya kasın sürekli aktivasyonuna neden olur



Dimetoatın çevredeki akıbeti ve taşınması

Dimetoat, tarımsal akış, yüzey akışı veya doğrudan uygulama sonucunda yeraltı sularına karışabilmektedir (Sharma et al., 2020:110812; Pathak et al., 2022:962619). Bu bileşik, düşük buhar basıncı (0,247 mPa) ve Henry yasası sabiti gibi fizikokimyasal özelliklerine bağlı olarak hem ıslak hem de kuru yüzeylerden yavaş buharlaşma eğilimi göstermektedir. Yapılan çalışmalar, dimetoat buharlaşmasının en yüksek düzeyde kumlu topraklarda, en düşük düzeyde ise balçıklı topraklarda gerçekleştiğini ortaya koymuştur. Buharlaşma, genellikle pestisitlerin çevresel ortamdan uzaklaştırılmasında ikincil bir dağılım yolu olarak kabul edilse de, diğer dağılım mekanizmalarının (örneğin süzülme, mikrobiyal bozunma) sınırlı

olduğu durumlarda, buharlaşma topraktan uzaklaşım sürecinde önemli bir rol oynayabilir (Van Scoy, Pennell & Zhang, 2016:53).

Yüzey ve yeraltı sularındaki dimetoat kalıntıları

Dimetoat, suda yüksek çözünürlüğü ve düşük toprak adsorpsiyon katsayısı nedeniyle toprakta minimum düzeyde tutulur. Bu özellikler, bileşiğin toprak içerisindeki dağılımını ve hareketliliğini doğrudan etkiler; özellikle toprak tipi ve nem içeriği bu süreçlerde belirleyici rol oynar (Van Scoy, Pennell & Zhang, 2016:53; Lima, Souza & Figueiredo, 2007:187). Dimetoat, su içerisinde yüksek çözünürlüğe sahip olmasına rağmen, yer altı suyuna sızma potansiyeli düşüktür. Ayrıca, uçucu bir bileşik olmasına karşın toprakta kalıcı değildir ve yüksek hareketlilik gösterir. Ancak, genellikle aerobik sucul sistemlerde hızlı bir şekilde bozunarak kalıcılık göstermez (Edwards, 1975:39; Prashar & Shah, 2016:331). Dimetoat'ın çevresel davranışı; suda çözünürlüğü, uçuculuğu ve kimyasal stabilitesi gibi özelliklerinin bir fonksiyonu olarak, topraktan sızıntı, adsorpsiyon ya da buharlaşma yoluyla taşınımı ile şekillenir (Perez-Lucas, 2019:360).

Dimetoatın bozunması

Dimetoat çevreye girdikten sonra, hem biyotik hem de abiyotik süreçlerle bozunur. Hidroliz ve fotoliz ana abiyotik yöntemlerdir, biyotik süreç ise mikrobiyal bozunma ile temsil edilir.

Su organizmaları üzerindeki etkisi ve biyoakümülyasyon potansiyeli

Su biyotası üzerindeki etkisi

Su kütlelerinde organik kirleticilerin varlığı, insan ve yaban hayatının akut maruziyetine işaret edebilir ve bu da su kaynaklarındaki bu kirleticilerin sürekli olarak gözetimini gerektirir (Maloschik & ark., 2007:88).

Balıklar Üzerindeki Etkileri

Dimetoatın çeşitli sucul organizmalar üzerindeki toksik etkileri üzerine yapılan çalışmalar, türler arasında belirgin duyarlılık farklılıkları olduğunu göstermektedir. Zebra balığı (*Danio rerio*), lepistes balığı (*Poecilia reticulata*) ve *Daphnia magna* üzerinde gerçekleştirilen deneylerde, dimetoatın emülsifiye edilebilir formülasyonuna karşı farklı düzeylerde duyarlılık gözlenmiştir. Bu çalışmalarda, 48 saatlik LC_{50} değerleri sırasıyla zebra balığı için 7 mg L^{-1} , lepistes balığı için 5 mg L^{-1} , ve *D. magna* için $0,83 \text{ mg L}^{-1}$ olarak belirlenmiştir. *D. magna* için bildirilen bir diğer 48 saatlik LC_{50} değeri ise $1,7 \text{ mg L}^{-1}$ 'dir (Beusen & Neven, 1989:126).

Zebra balığı ve lepistes balığı için yapılan 96 saatlik akut toksisite testlerinde, LC_{50} değerleri sırasıyla $7,3$ ve $11,53 \text{ mg L}^{-1}$ olarak saptanmıştır. Bununla birlikte, her iki tür de yüksek saflıktaki (%99) dimetoata 96 saat boyunca maruz bırakıldığında mortalite gözlenmemiştir. Bu durum, formülasyonda bulunan çözücü veya yardımcı maddelerin toksisiteye katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir.

Pandey ve Arkadaşları, yayın balığı *Heteropneustes fossilis* üzerinde $2,5$ ila $4,0 \text{ mg L}^{-1}$ aralığında konsantrasyonlarda maruziyet testleri gerçekleştirdiler ve değişen yüzme davranışı, artan yutkunma ve vücutta artan mukus üretimi ortaya çıkardılar. Ayrıca, balıklar düşük dozlara karşı aşırı duyarlıydı, 96 saatlik LC_{50} $2,9 \text{ mg L}^{-1}$ dir (Panday & ark., 2009:437).

Doğan ve Can, yetişkin erkek gökkuşağı alabalığı olan *Oncorhynchus mykiss*'i 5 , 15 veya 30 gün boyunca yarı statik koşullarda dimetoat konsantrasyonlarına maruz bıraktı. Kan ve karaciğer örnekleri toplandı. Testlere göre, dimetoatın testosteron seviyeleri üzerinde fark edilebilir bir etkisi yoktu. Ancak, 17 -estradiol seviyeleri 5 ve 15 günlük testlerde yükseldi, bu da

dimetoatın östrojene benzeyebileceğini düşündürmüştür. Ayrıca, karaciğer dokularının zar geçirgenliği azalmıştır. 96 saatlik LC₅₀ değeri 6,2 mg L⁻¹ (ABD EPA 2008) olarak tespit edilmiştir (Doğan & Can, 2011:39).

Lokhande ve Bais, Maharashtra'daki Latur bölgesindeki Manjara Nehri'nden toplanan *Rasbora daniconius* üzerinde dimetoat için akut bir toksisite testi gerçekleştirdi (Chellan & Ramanujam, 1999:397). 24, 48, 72 ve 96 saatlik LC₅₀ değerleri sırasıyla 11,63, 10,08, 10,54 ve 9,136 mg L⁻¹ olarak tespit edilmiştir. 96 saatlik LC₅₀'de, *Rasbora daniconius*'un solungaçlarında histopatolojik değişikliklere neden oldu. Değişiklikler arasında ikincil solungaç lamellerinin epitel dejenerasyonu, füzyon, vakuolleşme, ikincil solungaç lamellerinin kısalması ve kalınlığı yer alır. Ayrıca birincil ve ikincil solungaç lamellerinin füzyonuna da neden oldu (Chellan, Ramesh & Ramanujam, 1999:397; Lokhande & Bais, 2023:400). Daha sonra, Lokhande ve Pawale, 96 saatlik LC₅₀ öldürücü konsantrasyonunun (9.136 mg L⁻¹) ve dimetoat sublethal konsantrasyonunun (0.9136 mg L⁻¹) *Rasbora daniconius*'taki glikojen içeriği üzerindeki etkisini araştırdı. Bu deneyden glikojen içeriği kontrol grubunda elde edilen sonuçlar kas, karaciğer, solungaç ve böbrek dokularında sırasıyla 15.12, 55.14, 12.72 ve 14.11 mg/gm/wt olarak belirlenmiştir. Deney grubunda, ölümcül ve ölümcül olmayan konsantrasyonlar kaslarda 12,78 ve 14,08 mg/gm/wt doku, solungaçlarda 9,01 ve 10,22 mg/gm/wt doku, karaciğerde 42,30 ve 48,28 mg/gm/wt doku ve böbrekte 11,12 ve 12,01 mg/gm/wt doku olarak belirlenmiştir. Dimetoat zehirlenmesinden kaynaklanan biyokimyasal lezyonların glikojen profilinde bozulmaya yol açtığını gözlemlediler. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, tüm organlardaki glikojen seviyeleri ölümcül ve ölümcül olmayan konsantrasyonlarda daha düşüktü ve bu da toksik maddenin oluşturduğu glikojenolizi ve anoksik stresi artırabilirdi (Pawale & Lokhande, 2018:419).

Singh ve ark., dimetoatın yaygın sazan yavruları *Cyprinus carpio*'daki akut toksisitesini araştırdı. Yavrular için LC değerlerini belirlemek için 24, 48, 72 ve 96 saat boyunca dimetoata maruz bırakıldı ve sonuçlar sırasıyla 1,84, 1,78, 1,68 ve 1,61 mg L⁻¹ di ve artan yüzeye çıkma, düzensiz yüzme, bol miktarda mukus salgılanması, operküler hareket hızının azalması, çevikliğin azalması ve artan maruz kalma süresiyle normal duruşu ve dengeyi koruyamama olmuştur. Tüm dozlarda, maruz kalan balıkların oksijen tüketimi önemli ölçüde azaldı. Bulgulara göre, dimetoat yavrular için çok zehirlidir ve fizyolojileri ve davranışları üzerinde olumsuz bir etkiye sahiptir (Sing & ark., 2009:70).

Qayoom ve ark., dimetoatın genç *Cyprinus carpio*'daki akut toksisitesini inceledi. Statik bir biyolojik deney düzeneğinde, *Cyprinus carpio* için 96 saatlik LC₅₀ değeri 1,1 mg L⁻¹ olarak belirlendi. Balık, aşırı mukus salgılanması, koordine olmayan hareketler, konvülsiyonlar ve dengesiz yüzme gibi çeşitli davranışsal tepkiler üretti ve bunların sonucunda akvaryumun dibine düştü. Ölümden önce, soluk vücut rengi, pul erozyonu ve vücutta kanamalı alanlar gibi klinik göstergeler görüldü ve çalışmalar ilerledikçe bunlar giderek daha belirgin hale geldi. Çalışmanın bulguları, dimetoatın sazan yavrularında potansiyel toksisitesini öne sürerek, doğal su kütlelerinin besin zincirleri boyunca etkisini sınırlamak için düzenli olarak izlenmesi gerektiğini ima ediyor (Qayoom & ark., 2016:4726126). Sharma ve ark., dimetatin *Cyprinus carpio* üzerindeki akut ve kronik toksisitesini araştırdı. Dimetatin 24, 48 ve 72 saatlik LC₅₀ değerleri için gözlemlenen sonuçlar sırasıyla 1,89, 1,78 ve 1,70 mg L⁻¹ di. Diğer gözlemleri, 1,40 mg L⁻¹'e maruz kalan balıklarda ölüm oranı olmadan ve 2,10 mg L⁻¹'de %100 ölüm oranıyla davranış değişiklikleriydi (Sharma, Basumata & Katakya, 2022:46). Nazir ve ark., tarafından yapılan çalışmada, dimetoatın sazan balığı (*Cyprinus carpio*) böbrek hücreleri üzerindeki ultrastrüktürel

etkileri Transmission Elektron Mikroskobu (TEM) kullanılarak incelenmiştir. Bu çalışmada, balıklar 24, 48 ve 72 saat süreyle sırasıyla 0,005, 0,01 ve 0,015 mg/L konsantrasyonlarında dimetoata maruz bırakılmıştır. Elde edilen TEM görüntüleri, glomerulusta deformasyonlar, sitoplazma vakuolizasyonu, dejeneratif çekirdek yapısı ve hasarlı mitokondri gibi anormallikleri göstermiştir. Ayrıca, bu anormalliklerin konsantrasyon ve maruz kalma süresiyle paralel olarak arttığı gözlemlenmiştir. (Nazir & ark., 2022:177). Khan ve ark., tarafından yapılan çalışmada, dimetoatın sazan balığı (*Cyprinus carpio*) üzerindeki etkileri incelenmiştir. Balıklar, 96 saat süreyle sırasıyla 0,22, 0,44, 0,66, 0,88 ve 1,1 mg/L konsantrasyonlarında dimetoata maruz bırakılmıştır. Bu çalışma, dimetoatın balıklarda davranışsal değişikliklere ve genotoksik etkilere yol açtığını göstermektedir. Özellikle, yüzme hızında azalma, yüzme aktivitesinde düşüş ve operküler hareketlerde gecikme gibi davranışsal değişiklikler gözlemlenmiştir. Ayrıca, hematositlerde mikronükleus oluşumunun sıklığı artmış, bu da genotoksik bir yanıtın göstergesi olmuştur. Bu bulgular, dimetoatın balıklarda hem davranışsal hem de genetik düzeyde olumsuz etkiler oluşturduğunu ve su ekosistemlerinin pestisit kontaminasyonu için risk değerlendirme ve izleme programlarında biyobelirteç olarak kullanılabileceğini ortaya koymaktadır. (Khan & ark., 2022:1). Buna göre, yavruların yetişkinlerine göre dimetoattan daha fazla etkilendiğini söyleyebiliriz.

Narra (2017), *Clarias batrachus* türü üzerinde yürüttüğü çalışmada, dimetoatın 96 saatlik LC₅₀ değerini 12,45 mg/L olarak bildirmiştir (Narra, 2017:988). Benzer şekilde, Amaeze ve ark., tarafından yapılan çalışmada, *Clarias gariepinus* türü için 96 saatlik LC₅₀ değeri 2112,339 µg/L (yaklaşık 2,11 mg/L) olarak belirlenmiştir (Amaeze & ark., 2020:1).

Okoboshi ve ark., dimetoatın (%40 EC formülasyonu) juvenil *Clarias gariepinus* bireyleri üzerindeki subletal etkilerini

hepatosomatik indeks (HSI) ve hematolojik parametreler aracılığıyla değerlendirmiştir. Balıklar, 28 gün süresince 0,01, 0,15 ve 0,29 mg/L konsantrasyonlarına maruz bırakılmış; bu maruziyet sonucunda tüm gruplarda HSI değerlerinde anlamlı düşüşler kaydedilmiştir. Sırasıyla 0,29, 0,15 ve 0,01 mg/L'lik gruplarda HSI değerleri 2,36 g, 2,49 g ve 2,47 g olarak rapor edilmiştir. Ayrıca, toplam lökosit sayısında da dikkate değer değişiklikler gözlenmiş, bu da bağışıklık sisteminin dimetoat maruziyetinden etkilendiğini göstermiştir. Elde edilen bulgular, dimetoatın juvenil bireylerde potansiyel toksik etkiler oluşturabileceğini ortaya koymaktadır (Okoboshi & ark., 2022:17).

Aman ve ark., tarafından yürütülen başka bir çalışmada, *Oreochromis niloticus* (Nil tilapisi) türü 0,5, 1,0, 1,5 ve 2,0 mg/L konsantrasyonlarındaki dimetoat çözeltilerine maruz bırakılmıştır. Deneysel süreçte, 48 saatlik maruziyetin ardından 2,0 mg/L'lik konsantrasyonda maksimum mortalite oranı %8,30 olarak belirlenmiştir. Elde edilen 96 saatlik LC₅₀ değeri 4,84 mg L⁻¹'dir (Aman, Aftab & Ahmad, 2023:5137).

Bhandare ve ark., dimetoatın LC₅₀ değerini ve tatlı su balığı olan *Puntius stigma*'daki 24, 48, 72 ve 96 saatlik maruziyetten sonraki göreceli davranış değişikliklerini değerlendirmiştir. 24, 48, 72 ve 96 saat maruz kalan *P. stigma* için LC₅₀ değerleri sırasıyla 9, 8,31, 7,8 ve 7,1 mg L⁻¹'dir. Balıklarda çeşitli davranışsal değişiklikler görülmüştür; örneğin artan operküler moment, denge kaybı, artan yüzey aktivitesi, aşırı mukus salgılanması, düzensiz yüzme aktivitesi, hızlı sarsıntılı hareketler ve saldırganlık gibi (Bhandare & ark., 2011:149).

Kulshrestha ve ark., *Catla catla* için 96 saatlik LC₅₀ değerini 10,5 mg L⁻¹ olarak tespit etmişlerdir (Kulshrestha, Arora & Sharma, 1986:114). Hussain ve ark., *Catla catla* kanının dimetoat toksisitesine karşı akut toksisite biyoassayini, davranışsal reaksiyonunu ve biyokimyasal parametrelerini incelemişlerdir.

Çeşitli maruz kalma sürelerindeki LC₅₀ değerleri 84 saat için 21,0 mg L⁻¹, 72 saat için 21,5 mg L⁻¹, 60 saat için 22,0 mg L⁻¹, 48 saat için 22,5 mg L⁻¹; 48 saat için 23,0 mg L⁻¹; ve 24 saat için 23,5 mg L⁻¹ olarak tespit edilmiştir. Dimetoat zehirlenmesine yanıt olarak, *Catla catla* aşırı mukus salgılanması, koordinasyonsuz hareketler, konvülsiyonlar, düzensiz yüzme, denge kaybı, azalmış operküler hareketler, boğulma ve vücut pigmentasyonunda değişiklikler, kas seğirmesi, can çekişen uyuşukluk, beslenmeyi reddetme ve solunum sıkıntısı gözlenmiştir (Hussain, Kumar & Ahmad, 2016:322).

Kulshrestha ve ark., Rohu balığı, *Labeo rohita* için 96 saatlik LC₅₀ değerini 10,2 mg L⁻¹ olarak bildirmişlerdir. Ayrıca, Mrigal sazanı, *Cirrhinus mrigala* için 96 saatlik LC₅₀ değerini 10,1 mg L⁻¹ olarak tespit etmişlerdir (Kulshrestha, Arora & Sharma, 1986:114). Ali ve ark., *Channa punctatus* için dimetoatın 96 saatlik LC₅₀ değerini 19,10 µg L⁻¹ olarak belirlemişlerdir (Ali & ark., 2014:111).

Dimetoat kaynaklı oksidatif stres genotoksositeye neden olur

Oksidatif stres çeşitli mekanizmaları tetikleyerek memeli hücrelerine zarar veren ve zamanla karsinogenezi teşvik eden oksidatif bir dengesizliğe neden olabilir (Reuter & ark., 2010:1603; Quezada-Maldonado & ark., 2021:117313; Mukherjee & ark., 2022:155716). Bu, “oksidanların lehine olan antioksidanlar ve oksidanlar arasındaki bir dengesizlik, redoks sinyalleşmesinin ve kontrolünün bozulmasına ve/veya moleküler hasara neden olur” anlamına gelir (Sies, 2020). Reaktif oksijen türleri (ROS) seviyeleri, hepatik metabolizma süreçleri, P450 enzim ailesinin aktivitesi, mitokondriyal fonksiyonlar ve nikotinamid adenin dinükleotit fosfat hidrojen (NADPH) enzimlerinin aktiviteleri nedeniyle, hem endojen oksidatif stres kaynaklarından hem de çevresel kimyasal bileşiklerin etkisiyle artış gösterebilir. Artan ROS üretimi, hücrelerde DNA hasarına yol açarak gen mutasyonlarına

ve sinyal iletim yollarının bozulmasına neden olabilir. Bu durum, özellikle transdüksiyon mekanizmaları ve transkripsiyon faktörlerinin fonksiyonlarına müdahale ederek genotoksisiteye katkıda bulunur (Klaunig, 2018:4771).

Genetik hasarla karakterize edilen patobiyolojik süreç genotoksisite olarak bilinir. Bu nedenle, tehlikeli maddeler genetik materyal üzerindeki zararlı etkileri nedeniyle genotoksik olarak kabul edilir. Şimdiye kadar, endojen veya ekzojen kaynaklardan gelen çeşitli kimyasallar bilimsel çalışmalarda genotoksik olarak kabul edilmiştir (Ribeiro & ark., 2017:4017). Daha önce belirtildiği gibi, dimetoat toksisitesi üzerine çok sayıda çalışma yapılmıştır, ancak oksidatif strese bağlı genotoksisiteyi inceleyen birkaç çalışma vardır (Reuber, 1984:193; Van Scoy, Pennell & Zhang, 2016:53). Acquaroni ve ark., Brezilya kurbağası *Rhinella arenarum* larvalarında dimetoatın oksidatif stresini ve genotoksisitesini araştırmışlar (Acquaroni, Svartz & Perez, 2022:41772). Daha önce belirtildiği gibi, genotoksik yanıt *Cyprinus carpio* hematositlerinde mikronükleus oluşumunun sıklığıyla ölçülmüştür (Khan & ark., 2022:1). Dimetoatın tatlı su balığı benekli yılan balığı *Channa punctatus*'ta genotoksik etkilere sahip olduğu gösterilmiştir ve bunların her zaman oksidatif stresle ilişkili olduğu görülmüştür (Ali & ark., 2014:111). 5, 15 ve 30 gün boyunca Dimetoatın öldürücü olmayan dozlarıyla muamele edilen *Oncorhynchus mykiss* eritrositleri, beyin dokusunda glutatyon peroksidaz aktivitesini ve süperoksit dismutaz seviyelerini artırmıştır. Lipid peroksidasyonu, her iki dokuda da sonrası artmış ve maruz kalma süresiyle güçlü bir şekilde bağlantılı olduğu görülmüştür. Dogan ve ark., dimetoatın neden olduğu oksidatif stres durumuna yeterince tepki verilememiş olabileceği ve pestisitın genotoksisitesinin kesin bir klastojenik etkiyle, potansiyel olarak bir alkilasyon ajanı olarak hareket ederek veya reaktif türlerin oluşumunu teşvik ederek gösterildiği sonucuna varmıştır (Doğan & ark., 2011:157).

Diğer metallerle birlikte, örneğin kadmiyumla birlikte, *Galba truncatula* 0–400 µg L⁻¹ dimetoat ve 0–1000 µg L⁻¹ kadmiyum klorüre maruz bırakıldığında, süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (Gpx), glutatyon S-transferaz (GST), katalaz aktiviteleri ve malondialdehit (MDA) ve glutatyon (GSH) seviyeleri gibi bazı biyokimyasal parametrelerdeki değişikliklerin bir sonucu olarak dimetoat kaynaklı oksidatif stres ortaya çıktığı belirlenmiştir. Dimetoat ve kadmiyumun birlikte cüce gölet salyangozu *Galba truncatula* üzerinde daha büyük bir etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Dimetoatın oksidatif stresi artırarak salyangozlardaki kadmiyum biyokonsantrasyonunu artırdığını belirtmekte fayda vardır (Banaee & ark., 2019:62). Memeli hücrelerinde de benzer sonuçlar bildirilmiştir (Silva & ark., 2021:43274).

Diğer sucul organizmalar üzerindeki etkisi

Balık türleri dışında çeşitli sucul omurgalılar da dimetoatın toksik etkilerine karşı duyarlılık göstermektedir. Acquaroni ve ark., otokton bir amfibi türü olan *Rhinella arenarum* üzerinde gerçekleştirdikleri çalışmada, pestisit dimetoatın akut ve subletal toksisitesini hem embriyo hem de larva evrelerinde incelemiştir. Sürekli maruziyetin yanı sıra, kısa süreli fakat yüksek konsantrasyonlu pestisit temasını simüle eden darbeleri (pulse) maruziyet deneyleri uygulanmıştır. Bu tür maruziyet, doğada tarımsal ilaçlamayı takiben sucul ortamlarda ani kimyasal yükselmeleri taklit eder. Deney sonuçlarına göre, 24 ve 96 saatlik LC₅₀ değerleri sırasıyla 48,81 mg/L ve 38,86 mg/L olarak belirlenmiştir. Uzun süreli maruziyet koşullarında yapılan değerlendirmelerde, 504 saatlik LC₅₀ değerleri larvalar için 12,82 mg/L, embriyolar için ise 16,38 mg/L olarak hesaplanmıştır. Bu bulgular, larval evrenin embriyo evresine göre daha yüksek duyarlılık gösterdiğini ortaya koymuştur. 24 saatlik pulse maruziyet testlerinde, erken embriyonik aşamalarda belirgin toksisite artışı

gözlemlenmiş; gelişimin ilerleyen evrelerinde ise organizmaların yüksek ve sürekli bir duyarlılık düzeyi sergilediği belirlenmiştir. Dimetoat maruziyeti, *R. arenarum* bireylerinde teratogenez (doğumsal yapısal bozukluklar), morfolojik ve davranışsal değişiklikler, metamorfik sürecin kesintiye uğraması ve çeşitli kimyasal stres yanıtları gibi çok sayıda subletal etkiye neden olmuştur. Özellikle, bütirilkolinesteraz (BChE) enzim aktivitesi, 0,5 ve 1 mg/L'lik dimetoat konsantrasyonlarında anlamlı düzeyde azalmıştır. Çalışmanın ekolojik risk değerlendirmesi, dimetoatın *Rhinella arenarum*'un gelişimi ve yaşamsal süreçleri üzerinde önemli tehdit oluşturduğunu ve bu nedenle tarımsal ekosistemlerde bu türler açısından ciddi bir risk faktörü olduğunu ortaya koymuştur (Acquaroni, Svartz & Perez, 2022:142).

Serdar, tatlı su amfipodu *Gammarus pulex*'te pestisitlerin hedef olmayan türler üzerindeki etkilerini değerlendirmek için biyokimyasal reaksiyonlar kullanmıştır. LC₅₀ değeri, SOD, GST, GPx ve katalaz (CAT) aktiviteleri ile subletal miktarlara maruz bırakılan *G. pulex* organizmasının MDA ve GSH seviyeleri belirlenmiştir. *G. pulex*'in ortalama LC₅₀ değeri 167 µg L⁻¹ idi. GSH seviyeleri ve SOD, GPx, GST ve CAT enzimleri önemli ölçüde azalmış; ancak MDA seviyeleri önemli ölçüde yükselmiştir (Serdar, 2019:21905). Serdar ve ark., Tunceli Munzur Çayı'ndan elde edilen *Gammarus pulex* (L., 1758)'i akut toksisite testleri için dimetoat etken maddesinin farklı konsantrasyonlarına maruz bırakmış ve elde edilen LC₅₀ değerleri 170,51 ± 8,15 µg L⁻¹ (Serdar, Aydın & Aydın, 2022:384). Beusen ve Neven, yüksek saflıkta (%99 a.i.) dimetoat ve emülsifiye edilebilir bir konsantrasyonun (%10 a.i.) tatlı su balıkları ve *Daphnia magna* üzerindeki toksisitesini incelemiştir. 96 saatlik LC₅₀ değeri 3,32 mg L⁻¹ olarak tespit edilmiştir (Beusen & Neven; 1989:126).

Kumar ve ark., Finnis Nehri bölgesinden Avustralya tatlı su karidesi *Paratya australiensis*'i 0,05 ila 20 mg L⁻¹

konsantrasyonlarla muamele ederek insektisit in akut toksisitesini değerlendirmişler ve 96 saatlik LC_{50} 'yi $800 \mu g L^{-1}$ olarak belirlemişlerdir. Dahası, log-log modeli kullanarak bilim insanları karidesler için 21 günlük kronik öldürücülük değerini $89 \mu g L^{-1}$ olarak öngörmüşlerdir (Kumar ve ark., 2010:360).

Roast ve ark., mysid karidesi *Neomysis integer* türü üzerinde gerçekleştirdikleri çalışmada, dimetoatın 96 saatlik LC_{50} değerini $540 \mu g/L$ olarak belirlemişlerdir (Roast & ark., 1999:319). Satapornvanit ve ark., ise, tatlı su karidesi *Macrobrachium rosenbergii*'nin postlarval evresinde pestisit maruziyetinin etkilerini değerlendirmiştir. Araştırmada, $78-1250 \mu g/L$ aralığında değişen beş farklı dimetoat konsantrasyonu kullanılarak mortalite testleri gerçekleştirilmiş ve bu testler sonucunda 24 saatlik LC_{50} değeri $142 \mu g/L$, 48 saatlik LC_{50} değeri ise $103 \mu g/L$ olarak tespit edilmiştir. Subletal etkilerin değerlendirilmesinde ise, 24 saatlik EC_{50} değeri $269 \mu g/L$ olan bir beslenme oranı testi kullanılmıştır. Ancak, bu test herbisit in toksisitesini net biçimde ortaya koyamamıştır. Bunun nedeni, belirlenen subletal konsantrasyonunun, balıklar üzerinde öldürücü etki oluşturan konsantrasyonların üzerinde olmasıdır. Bu durum, beslenme oranı gibi davranışsal parametrelerin toksisite belirlemede her zaman yeterli duyarlılığa sahip olmadığını göstermektedir (Satapornvanit, Baird & Little, 2009:1209).

Pawar ve ark., tuzluluk ve sıcaklık koşullarının beyaz bacaklı karides *Litopenaeus vannamei*'nin post-larvaları ve yavruları üzerindeki dimetoatın akut toksisitesine etkilerini incelemişlerdir. Standart test koşullarında (sıcaklık: $27^{\circ}C$; tuzluluk: 20 Practical Salinity Unit (PSU)) yapılan 96 saatlik LC_{50} testi sonucunda, post-larvalar için dimetoatın LC_{50} değeri $257,84 \mu g/L$ olarak belirlenmiştir. Aynı koşullar altında, juvenillerin LC_{50} değeri ise $463,61 \mu g/L$ olarak tespit edilmiştir. Farklı sıcaklıklarda (15 , 25 ve $34^{\circ}C$) yapılan deneylerde 96 saatlik LC_{50} değerleri sırasıyla $103,11$, $321,26$ ve $182,76 \mu g/L$ olarak rapor edilmiştir.

Elde edilen veriler, çevresel parametrelerin, özellikle sıcaklık ve PSU, karideslerin pestisitlere karşı duyarlılığı üzerinde belirleyici etkiler oluşturduğunu göstermektedir (Pawar & ark., 2020:100240).

Patil ve Pathan, statik testlerde ve 24, 48, 72 ve 96 saat boyunca sürekli akışlı testlerde dimetoat maruz bırakılan tatlı su çift kabuklusu *Lamellidens corrianus*'un toksisite değerlendirmesini ve davranışsal çalışmalarını araştırdılar. Hem duragan hem de akışlı sistemde 24, 48, 72 ve 96 saat için LC₅₀ değerleri sırasıyla 15.6226 ve 10.6403 mg L⁻¹, 14.0224 ve 10.8611 mg L⁻¹, 11.1062 ve 08.6831 mg L⁻¹ ve 10.7645 ve 9.3264 mg L⁻¹ olarak bildirilmiştir. Böylece, LC₅₀ değerleri artan maruz kalma süreleriyle sürekli olarak azalmış ve düşük toksik madde konsantrasyonunun *Lamellidens corrianus* çift kabukluları için daha toksik olduğunu göstermiştir. Gözlenen 96 saatlik LC₅₀ değeri 9,8 mg L⁻¹ olarak gözlenmiştir (Patil & Pathan, 2019:232).

Kumar ve ark., tatlı su midyesi olan *Lamellidens marginalis*'te dimetoat için 96 saatlik akut toksisite testi gerçekleştirmiştir. Midyeler 35,00, 37,00, 39,00, 41,00, 43,00, 45,00, 47,00 ve 49,00 mg L⁻¹ ve kontrol konsantrasyonlarında dimetoata maruz bırakıldılar. Midyeler için Dimetoat LC₅₀ değerleri sırasıyla 24, 48, 72 ve 96 saat sonra 45,09, 40,52, 38,71 ve 36,35 mg L⁻¹ olarak belirlenmiştir. Midyeler, kabuk kapanma süresini artırarak, mukus üretimini artırarak ve oksijen tüketimini azaltarak maruziyetten sonra davranışsal reaksiyonlar göstermişlerdir (Kumar & ark., 2013:39).

Mu ve ark., siliyat *Urostyla grandis*'i dimetoat dozları ile muamele etmiştir. Dimetoata maruz kaldıktan sonra, LC₅₀ değeri dimetoat için 0,0685 mg L⁻¹ olmuştur (Mu & ark., 2018:697). Dişi yengeç *Barytelphusa guerini* de dimetoat toksisitesi açısından test edilmiş ve elde edilen 96 saatlik LC₅₀ değeri 3,50 mg L⁻¹ olmuştur (Desai, 2021:2368).

Su organizmaları arasında dimetoat için duyarlılık sırası şu şekildedir: *Channa punctatus*, *Urostyla grandis*'tir, *Gammarus pulex*, *Litopenaeus vannamei* (post-larva), *Litopenaeus vannamei* (juvenil), *Neomysis integer*, *Paratya australiensis*, *Cyprinus carpio* (genç), *Cyprinus carpio* (fingerling), *Clarias gariepinus*, *Heteropneustes fossilis*, *Daphnia magna*, *Barytelphusa guerini*, *Oreochromis niloticus*, *Onchorynchus mykiss*, *Puntius stigma*, *Danio rerio*, *Rasbora daniconius*, *Lamellidens corrianus*, *Cirrhinus mrigala*, *Labeo rohita*, *Catla catla*, *Poecilia reticulata*, *Clarias batrachus*, *Lamellidens marginalis* ve *Rhinella arenarum* 'dur.

Sonuç olarak, suda yaşayan omurgalılar, çoğu suda yaşayan omurgasız ve fotosentetik organizmaya göre dimetoat maruziyetine daha duyarlıdır.

Dimetoat kalıntıları çok sayıda ülkenin toprak, su ve kara sistemlerinin bazı kısımlarında keşfedilmiştir. Mevcut bulgulara rağmen, dimetoatın çevrede sürekli izlenmesi esastır. Dahası, bu tür zararlı maddelerin temizlenmesi için güvenli ve uygun maliyetli çözümlerin geliştirilmesi gerekmektedir. Topraklardan pestisit biyoremediasyonu avantajlıdır. Yeni nesil piretroitler gibi pestisitler, mitokondriyal kompleks inhibe edici pestisitler vb. organofosfatlardan daha güvenli olabilir. Nano bazlı pestisitlerdeki son gelişmeler, hedeflendiği varsayılan bu geleneksel yöntemlerin yerini alabilir. Bu nedenle, bu pestisit nano formülasyonu gelecekteki çalışmaların kapsamlı bir alanı olabilir. Pestisitlerin etkinliğini etkileyebilecek çevresel veya biyoklimatik parametrelere (tuzluluk ve sıcaklık bölgeleri) odaklanılarak, haşere kontrolü için uygulama dozunun azaltılması, dimetoatın ekotoksikolojik risk analizinin araştırılması için algılama göstergelerinin oluşturulması ve etkili haşere kontrol araçlarının geliştirilmesi için, daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır,

Kaynakça

Acquaroni, M., Svartz, G., & Pérez Coll, C. (2022). Acute, chronic and neurotoxic effects of dimethoate pesticide on *Rhinella arenarum* throughout the development. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 57(2), 142-152. <https://doi.org/10.1080/03601234.2022.2034459>.

Acquaroni, M., Peluso, J., Svartz, G., Aronzon, C., & Pérez Coll, C. (2021). Characterization of acute toxicity, genotoxicity, and oxidative stress of dimethoate in *Rhinella arenarum* larvae. *Environmental Science and Pollution Research*, 28, 41772-41779. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-13691-2>

Ahmad, S., Pinto, A.P., Hai, F.I., Badawy, M.E.T.I., Vazquez, R.R., Naqvi, T.A., Munis, F.H., Mahmood, T. and Chaudhary, H.J. (2022). Dimethoate residues in Pakistan and mitigation strategies through microbial degradation: a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(34), 51367-51383. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-20933-4>

Aktar, M. W., Sengupta, D., & Chowdhury, A. (2009). Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards. *Interdisciplinary Toxicology*, 2(1), 1. doi: 10.2478/v10102-009-0001-7

Ali, D., Gend Kumar, P., Kumar, S., & Ahmed, M. (2014). Evaluation of genotoxic and oxidative stress response to dimethoate in freshwater fish *Channa punctatus* (Bloch). *Chemical Speciation & Bioavailability*, 26(2), 111-118. <https://doi.org/10.1080/09542299.2014.11073965>

Amaeze, N. H., Komolafe, B. O., Salako, A. F., Akagha, K. K., Briggs, T. M. D., Olatinwo, O. O., & Femi, M. A. (2020). Comparative assessment of the acute toxicity, haematological and

genotoxic effects of ten commonly used pesticides on the African Catfish, *Clarias gariepinus* Burchell 1822. *Heliyon*, 6(8).

Aman, S., Aftab, B., & Ahmad, S. (2023). Assessment of piscicidal effect of five toxicants for the eradication of weed fish Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 74(1), 5137–5144. <https://doi.org/10.12681/jhvms.27201>

Banaee, M., Sureda, A., Taheri, S., & Hedayatzadeh, F. (2019). Sub-lethal effects of dimethoate alone and in combination with cadmium on biochemical parameters in freshwater snail, *Galba truncatula*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 220, 62-70. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2019.03.002>

Barres, B.A., & Stevens, B. (2012). Microglia sculpt postnatal neural circuits in an activity and complement-dependent manner. *Neuron*, 74(4), 691-705.

Beusen, J. M., & Neven, B. (1989). Toxicity of dimethoate to *Daphnia magna* and freshwater fish. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 42, 126-133.

Bhandare, R. Y., Pathan, T. S., Shinde, S. E., More, P. R., & Sonawane, D. L. (2011). Toxicity and behavioral changes in fresh water fish *Puntius stigma* exposed to pesticide (Rogor). 149-152. [http://idosi.org/aejts/3\(3\)11/9.pdf](http://idosi.org/aejts/3(3)11/9.pdf)

Chellam, B., Ramesh, M., & Ramanujam, R. M. (1999). Lethal and sublethal effects of a synthetic detergent on glucose-6-phosphate-dehydrogenase(G-6-P. D. H) enzyme activity in blood of a freshwater teleost *Labeo rohita* (Hamilton, 1822). *Indian Journal of Fisheries*, 46(4), 397-400.

Chiou, C. T., Peters, L. J., & Freed, V. H. (1979). A physical concept of soil-water equilibria for nonionic organic

compounds. *Science*, 206(4420), 831-832. DOI:
10.1126/science.206.4420.831

Damalas, C.A., Khan, M. (2017) RETRACTED: pesticide use in vegetable crops in Pakistan: insights through an ordered probit model (s.59-64). Elsevier, Netherlands

Desai, R.B. (2021) Effect of pesticide dimethoate on lethal concentration (LC₅₀) mortality on fresh water female crab *Barytelphusa guerini*. *International Research Journal of Modernization in Engineering Technology and Science*, 4(4), 2368-2371.

Dogan, D., & Can, C. (2011). Endocrine disruption and altered biochemical indices in male *Oncorhynchus mykiss* in response to dimethoate. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 99(2), 157-161.
<https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2010.11.012>

Dogan, D., Can, C., Kocyigit, A., Dikilitas, M., Taskin, A., & Bilinc, H. (2011). Dimethoate-induced oxidative stress and DNA damage in *Oncorhynchus mykiss*. *Chemosphere*, 84(1), 39-46.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.02.087>

Dubus, I. G., Hollis, J. M., & Brown, C. D. (2000). Pesticides in rainfall in Europe. *Environmental Pollution*, 110(2), 331-344. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(99\)00295-X](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(99)00295-X)

Edwards, C. A. (1975). Factors that affect the persistence of pesticides in plants and soils. In *Pesticide Chemistry*–3 (pp. 39-56). Butterworth-Heinemann.

European Food Safety Authority (EFSA). (2016). Assessment of the risk to human health through the pesticide active substance dimethoate and its metabolites in food. *EFSA Journal*, 14(4), 4461.

FAO. (2019). *FAOSTAT: Crops*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Statistics Division. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> (Erişim tarihi: 11 Nisan 2025)

Fukuto, T. R. (1990). Mechanism of action of organophosphorus and carbamate insecticides. *Environmental Health Perspectives*, 87, 245-254. <https://doi.org/10.1289/ehp.9087245>

Galloway, T., & Handy, R. (2003). Immunotoxicity of organophosphorous pesticides. *Ecotoxicology*, 12, 345-363.

Hodgson, E. (2010). Metabolism of pesticides. Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology (893-921). Elsevier.

Hussain, M. I., Kumar, B., & Ahmad, M. (2016). Effect of organophosphate insecticide, Dimethoate on physiology of common carp, *Catla catla* (Hamilton) and *Labeo rohita*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 5(5), 322-341.

Khan, S., Qayoom, I., Balkhi, M. H., Abubakr, A., Rashid, S., Alsaffar, R. M., & Rehman, M. U. (2022). Behavioural incongruities in juvenile *Cyprinus carpio* exposed to organophosphate compounds. *Heliyon*, 8(11).

Klaunig, J. E. (2018). Oxidative stress and cancer. *Current Pharmaceutical Design*, 24(40), 4771-4778. <https://doi.org/10.2174/1381612825666190215121712>

Kole, R. K., Banerjee, H., & Bhattacharyya, A. (2001). Monitoring of market fish samples for Endosulfan and Hexachlorocyclohexane residues in and around Calcutta. *Bulletin of Environmental Contamination & Toxicology*, 67(4), 554-559. DOI:10.1007/s001280159

Kulshrestha, S. K., Arora, N., & Sharma, S. (1986). Toxicity of four pesticides on the fingerlings of Indian major carps *Labeo rohita*, *Catla catla*, and *Cirrhinus mrigala*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 12(2), 114-119.

Kumar, A., Correll, R., Grocke, S., & Bajet, C. (2010). Toxicity of selected pesticides to freshwater shrimp, *Paratya australiensis* (Decapoda: Atyidae): Use of time series acute toxicity data to predict chronic lethality. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73(3), 360-369.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2009.09.001>

Kumar, S., Pandey, R. K., Das, S., & Das, V. K. (2013). Acute toxicity and behavioural responses of a freshwater mussel *Lamellidens marginalis* (Lamarck) to dimethoate exposure. *Recent Research in Science and Technology*, 4(11).

Lima, L. M., Souza, E. L. D., & Figueiredo, R. D. O. (2007). Dimethoate retention and its relation to pH, clay and organic matter contents by sediments in non saturated zone of a small catchment of the northeast Pará. *Acta Amazonica*, 37, 187-194. <https://doi.org/10.1590/S0044-59672007000200003>

Lokhande, M., & Bais, U. (2023). Studies on toxicity evaluation of dimethoate on the freshwater fish *rasbora daniconus* with special reference to the gill histopathology. *Int J Res Biosci, Agric Technol*, 2, 400-405.

Lundebye, A. K., Curtis, T. M., Braven, J., & Depledge, M. H. (1997). Effects of the organophosphorous pesticide, dimethoate, on cardiac and acetylcholinesterase (AChE) activity in the shore crab *Carcinus maenas*. *Aquatic Toxicology*, 40(1), 23-36.

Lushchak, V. I., Matviishyn, T. M., Husak, V. V., Storey, J. M., & Storey, K. B. (2018). Pesticide toxicity: a mechanistic approach. *EXCLI journal*, 17, 1101.

Maloschik, E., Ernst, A., Hegedűs, G., Darvas, B., & Székács, A. (2007). Monitoring water-polluting pesticides in Hungary. *Microchemical Journal*, 85(1), 88-97. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2006.05.002>

Montuori, P., Aurino, S., Garzonio, F., Sarnacchiaro, P., Polichetti, S., Nardone, A., & Triassi, M. (2016). Estimates of Tiber River organophosphate pesticide loads to the Tyrrhenian Sea and ecological risk. *Science of the Total Environment*, 559, 218-231. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.03.156>

Moss, B. (2008). Water pollution by agriculture. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 363(1491), 659-666. <https://doi.org/10.1098/rstb.2007.2176>

Mu, W., Warren, A., Pan, X., & Ying, C. (2018). Toxicity of Chlorpyrifos and Dimethoate to the Ciliate *Urostyle grandis*, with notes on their effects on cell ultrastructure. *Journal of Ocean University of China*, 17, 697-704. <https://doi.org/10.1007/s11802-018-3607-6>

Mukherjee, D., Saha, S., Chukwuka, A.V., Ghosh, B., Dhara, K., Saha, N.C., Pal, P., & Faggio, C. (2022). Antioxidant enzyme activity and pathophysiological responses in the freshwater walking catfish, *Clarias batrachus* Linn under sub-chronic and chronic exposures to the neonicotinoid, Thiamethoxam®. *Science of The Total Environment*, 836, 155716. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.155716>

Myers, J.P., Antoniou, M.N., Blumberg, B., Carroll, L., Colborn, T., Everett, L.G., Hansen, M., Landrigan, P.J., Lanphear, B.P., Mesnage, R. & Vandenberg, L.N. (2016). Concerns over use of glyphosate-based herbicides and risks associated with exposures: a consensus statement. *Environmental Health*, 15(1), 19. <https://doi.org/10.1186/s12940-016-0117-0>

Narra, M. R. (2017). Haematological and immune upshots in *Clarias batrachus* exposed to dimethoate and defying response of dietary ascorbic acid. *Chemosphere*, 168, 988-995. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.10.112>

Nazir, S., Ali, M.N., Tantray, J.A., Baba, I.A., Jan, A., Popescu, S.M., Paray, B.A., & Gulnaz, A. (2022). Study of ultrastructural abnormalities in the renal cells of *Cyprinus carpio* induced by toxicants. *Toxics*, 10(4), 177. <https://doi.org/10.3390/toxics10040177>

Okoboshi, A. C., Agaoru, C. G., Ezea, J., Ibeh, R., Udemé, J., & Ike, K. E. (2022). Hepatosomatic index and haematological profile: a bio monitoring tools for assessing african catfish juveniles (*clarias gariepinus*) exposed to dimethoate 40% ec toxicity. *Trop Freshw Biol*, 31(1), 17-29. DOI: <https://dx.doi.org/10.4314/tfb.v31i1.2>

Pandey, R. K., Singh, R. N., Singh, S., Singh, N. N., & Das, V. K. (2009). Acute toxicity bioassay of dimethoate on freshwater airbreathing catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch). *Journal of Environmental Biology*, 30(3), 437-440.

Pappas, C. J., & Kyriakidis, N. V. (2003). A comparison of dimethoate degradation in lemons and mandarins on the trees with two GC systems. *Food Chemistry*, 80(1), 23-28. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00230-3](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00230-3)

Pathak, V.M., Verma, V.K., Rawat, B.S., Kaur, B., Babu, N., Sharma, A., Dewali, S., Yadav, M., Kumari, R., Singh, S., & Mohapatra, A. (2022). Current status of pesticide effects on environment, human health and it's eco-friendly management as bioremediation: A comprehensive review. *Frontiers in Microbiology*, 13, 962619. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.962619>

Patil, P., & Pathan, T. (2019). Toxicity Evaluation And Behavioral Studies of Freshwater Bivalve Lamellidens Corrianus Exposed to Dimethoate. *Int. Journal of Universal Science and Technology*, 5(4), 232-237.

Pérez-Lucas, G., Vela, N., El Aatik, A., & Navarro, S. (2018). Environmental risk of groundwater pollution by pesticide leaching through the soil profile. In *Pesticides-use and Misuse and Their Impact in The Environment*. IntechOpen. DOI: 10.5772/intechopen.82418

Prashar, P., & Shah, S. (2016). Impact of fertilizers and pesticides on soil microflora in agriculture. *Sustainable Agriculture Reviews: Volume 19*, 331-361.

Pawar, A. P., Sanaye, S. V., Shyama, S., Sreepada, R. A., & Dake, A. S. (2020). Effects of salinity and temperature on the acute toxicity of the pesticides, dimethoate and chlorpyrifos in post-larvae and juveniles of the whiteleg shrimp. *Aquaculture Reports*, 16, 100240. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2019.100240>

Pawale, R. G., & Lokhande, M. V. (2018). Studies on status of some heavy metals in major drinking water reservoirs in Nanded district (Maharashtra) and its environmental impact. *The Pharma Innovation*, 7(5, Part F), 419-422.

Reuber, M. D. (1984). Carcinogenicity of dimethoate. *Environmental Research*, 34(2), 193-211.

Reuter, S., Gupta, S. C., Chaturvedi, M. M., & Aggarwal, B. B. (2010). Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked?. *Free Radical Biology and Medicine*, 49(11), 1603-1616. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.09.006>

Ribeiro, D.A., Yujra, V.Q., DE MOURA, C.F.G., Handan, B.A., Viana, M.D.B., Yamauchi, L.Y., Castelo, P.M., & AGUIAR,

O. (2017). Genotoxicity induced by dental materials: a comprehensive review. *Anticancer Research*, 37(8), 4017-4024.

Roast, S. D., Thompson, R. S., Donkin, P., Widdows, J., & Jones, M. B. (1999). Toxicity of the organophosphate pesticides chlorpyrifos and dimethoate to *Neomysis integer* (Crustacea: Mysidacea). *Water Research*, 33(2), 319–326.
[https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(98\)00239-9](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(98)00239-9)

Satapornvanit, K., Baird, D. J., & Little, D. C. (2009). Laboratory toxicity test and post-exposure feeding inhibition using the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Chemosphere*, 74(9), 1209-1215.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.11.033>

Saha, S., Chukwuka, A. V., Mukherjee, D., Dhara, K., Adeogun, A. O., & Saha, N. C. (2022). Effects of short-term sub-lethal diazinon® exposure on behavioural patterns and respiratory function in *Clarias batrachus*: inferences for adaptive capacity in the wild. *Chemistry and Ecology*, 38(2), 180-194.
<https://doi.org/10.1080/02757540.2022.2027924>

Saha, S., Chukwuka, A.V., Mukherjee, D., Patnaik, L., Nayak, S., Dhara, K., Saha, N.C. & Faggio, C. (2021). Chronic effects of Diazinon® exposures using integrated biomarker responses in freshwater walking catfish, *Clarias batrachus*. *Applied Sciences*, 11(22), 10902. <https://doi.org/10.3390/app112210902>

Serdar, O. (2019). The effect of dimethoate pesticide on some biochemical biomarkers in *Gammarus pulex*. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(21), 21905-21914.
<https://doi.org/10.1007/s11356-019-04629-w>

Serdar, O., Aydın, R., & Aydın, A. N. (2022). Determination of Letal Concentrations (LC₅₀) of Cyfluthrin, Dimethoate Insecticides on *Gammarus pulex* (L., 1758). *Acta Aquatica*

<https://doi.org/10.22392/actaquatr.1080270>

Schafer, D. P., Lehrman, E. K., Kautzman, A. G., Koyama, R., Mardinly, A. R., Yamasaki, R., ... & Stevens, B. (2012). Microglia sculpt postnatal neural circuits in an activity and complement-dependent manner. *Neuron*, 74(4), 691-705. DOI 10.1016/j.neuron.2012.03.026

Sharma, A., Shukla, A., Attri, K., Kumar, M., Kumar, P., Suttee, A., Singh, G., Barnwal, R.P., & Singla, N. (2020). Global trends in pesticides: A looming threat and viable alternatives. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 201, 110812. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110812>

Sharma, S., Basumata, C., & Katakya, A. (2022). Study on toxic effect of Dimethoate (Rogor) on *Ciprinus carpio* (common carp). *International Journal of Research in Engineering and Science*, 10(4): 46–50

Sidhu, G. K., Singh, S., Kumar, V., Dhanjal, D. S., Datta, S., & Singh, J. (2019). Toxicity, monitoring and biodegradation of organophosphate pesticides: a review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 49(13), 1135-1187. <https://doi.org/10.1080/10643389.2019.1565554>

Sies, H. (2020). Oxidative stress: Concept and some practical aspects. *Antioxidants*, 9(9), 852.

Silva, M.S., De Souza, D.V., Alpire, M.E.S., Malinverni, A.C.D.M., Da Silva, R.C.B., Viana, M.D.B., Oshima, C.T.F., & Ribeiro, D.A. (2021). Dimethoate induces genotoxicity as a result of oxidative stress: In vivo and in vitro studies. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(32), 43274-43286. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-15090-z>

Singh, R. N., Pandey, R. K., Singh, N. N., & Das, V. K. (2009). Acute toxicity and behavioral responses of common carp *Cyprinus carpio* (Linn.) to an organophosphate (Dimethoate). *World Journal of Zoology*, 4(2), 70-75.

Soltani, N., Hooker, D. C., Brinkman, J., & Sikkema, P. H. (2017). Effect of the addition of a fungicide to glyphosate applied postemergence on crop injury, disease control, and corn yield. *Canadian Journal of Plant Science*, 98(4), 971-974. <https://doi.org/10.1139/cjps-2017-0178>

Qayoom, I., Shah, F. A., Mukhtar, M., Balkhi, M. H., Bhat, F. A., & Bhat, B. A. (2016). Dimethoate induced behavioural changes in juveniles of *Cyprinus carpio* var. *communis* under temperate conditions of Kashmir, India. *The Scientific World Journal*, 2016(1), 4726126. <https://doi.org/10.1155/2016/4726126>

Quezada-Maldonado, E. M., Sánchez-Pérez, Y., Chirino, Y. I., & García-Cuellar, C. M. (2021). Airborne particulate matter induces oxidative damage, DNA adduct formation and alterations in DNA repair pathways. *Environmental Pollution*, 287, 117313. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117313>

Van der Oost, R., Beyer, J., & Vermeulen, N. P. (2003). Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental toxicology and pharmacology*, 13(2), 57-149. [https://doi.org/10.1016/S1382-6689\(02\)00126-6](https://doi.org/10.1016/S1382-6689(02)00126-6)

Van Scoy, A., Pennell, A., & Zhang, X. (2016). Environmental fate and toxicology of dimethoate. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology Volume 237*, 53-70.

Vogue, P. A., Kerle, E. A., & Jenkins, J. J. (1994). OSU extension pesticide properties database. *National Pesticide Information Centre*. npic@ace.orst.edu.

Wilkinson, C. F., Christoph, G. R., Julien, E., Kelley, J. M., Kronenberg, J., McCarthy, J., & Reiss, R. (2000). Assessing the risks of exposures to multiple chemicals with a common mechanism of toxicity: how to cumulate?. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 31(1), 30-43.
<https://doi.org/10.1006/rtph.1999.1361>

Wexler, P., & Anderson, B. D. (Eds.). (2005). *Encyclopedia of Toxicology* (Vol. 1). Academic Press.

Wang, L., Luo, Z., Li, L., Xie, J., Fudjoe, S. K., & Zechariah, E. (2022). Exploring optimal cropping system to improve the water use efficiency and soil water restoration after lucerne-to-crop conversion in the semiarid environment. *Agronomy*, 12(8), 1905.
<https://doi.org/10.3390/agronomy12081905>

BÖLÜM 9

INFLUENCE OF MURASHIGE AND SKOOG MEDIUM (MS MEDIUM) CONCENTRATION ON GROWTH, ASTAXANTHIN AND PROTEIN CONTENT OF MICROALGA *HAEMATOCOCCUS PLUVIALIS*

GÖKÇE KENDİRLİOĞLU ŞİMŞEK¹

1. Introduction

Microalgae are microscopic, photosynthetic organisms involved in the biosynthesis of various biomolecules such as proteins, amino acids, lipids, polyunsaturated fatty acids, and carotenoids. The biological compounds produced by these organisms are utilized in a wide range of fields including biotechnology, aquaculture, biochemistry, the pharmaceutical industry, nutraceutical applications, and bioenergy production (Katiyar et al., 2017, p.1-9). The basis of microalgae's potential in such applications lies in their ability to convert inorganic and organic compounds (using carbon dioxide through photosynthesis) into high value-added metabolites such as proteins, carbohydrates, lipids, amino acids, vitamins, and natural

¹ Dr., Firat University, Plant Tissue Culture Laboratory/ Elazig/ Turkey, Orcid:
0000-0001-8896-2893

pigments (Heo et al., 2017 p.1191-1197). Among these high-value compounds, carotenoids are naturally synthesized by microalgae and have garnered considerable attention due to their antioxidant properties. Among the more than 750 known natural carotenoids, astaxanthin, lutein, β -carotene, zeaxanthin, and canthaxanthin stand out for their strong antioxidant characteristics. Astaxanthin is a fat-soluble carotenoid with high antioxidant capacity and various biological activities, making it important for both health-related and industrial applications (Ulianova et al., 2020).

Studies have demonstrated that the antioxidant capacity of astaxanthin is approximately 10 times higher than that of β -carotene, zeaxanthin, canthaxanthin, and lutein, and about 1000 times higher than that of vitamin E (Patel et al., 2022). Chemically defined as 3,3'-dihydroxy- β -carotene-4,4'-dione, astaxanthin is a red-pigmented, natural keto-carotenoid containing two keto groups at the 4,4' positions and two hydroxyl groups at the 3,3' positions of the β -ionone rings (Ulianova et al., 2020). Astaxanthin, a ketocarotenoid with potent antioxidant activity, is widely used in the food, dietary supplement, and cosmetic industries. Owing to its notable health benefits, astaxanthin is known to protect cells against oxidative damage and plays a positive role in the prevention of various diseases such as cardiovascular disorders, gastrointestinal issues, liver diseases, and cancer. Its anticancer effects are attributed to its ability to suppress cancer cell proliferation and modulate immune responses against tumor cells. Moreover, due to its anti-aging and protective effects against cardiovascular diseases and diabetes, astaxanthin finds extensive application in food, aquaculture, cosmetics, and particularly in medical care and the pharmaceutical sector (Davinelli et al., 2018; Gong & Bassi, 2016 p.1396-1412). Among microalgae, *Haematococcus pluvialis* is one of the most efficient natural producers of astaxanthin (Wayama et al., 2013, p.529-535). The life cycle of *H. pluvialis* consists of two main phases: a green vegetative growth phase and a red cyst phase. Biomass accumulation during the green phase has a direct impact on astaxanthin accumulation in the subsequent red cyst phase, indicating a positive correlation between these stages. Accordingly, various stress-based strategies such as light stress, salinity stress, and nutrient limitation have been developed and

applied to enhance astaxanthin production (Acheampong et al., 2024; Li et al., 2023). The production levels of metabolites in microalgae vary depending on culture conditions (Mustafa et al., 2013 p.472-478). Research has shown that parameters such as light quality and intensity, photoperiod, salinity, temperature, pH, and the type, quantity, and quality of nutrients in the medium significantly affect the biosynthesis of target compounds (Wahidin et al., 2013 p.7-11; Mandotra et al., 2016, p.201-207; Shen et al., 2016, p.1275-1287). Culture media are chemically diverse depending on the presence or absence of specific nutrients (e.g., nitrogen, phosphorus, potassium, or organic carbon sources) and their concentrations. In particular, variations in the carbon/nitrogen ratio can activate certain metabolic pathways, which in turn directly influence microalgal biomass growth rate, biochemical composition, and productivity. Minerals are also key components of culture media and allow for numerous combinations of macro- and micro-elements. The Murashige and Skoog (MS) medium, developed by Murashige and Skoog (1962), is widely used in plant tissue culture studies and remains the most common medium for in vitro micropropagation of many plant species. Its popularity is due to its high salt content and richness in elements such as nitrogen, potassium, boron, and manganese, which most plant cells respond favorably to (Murashige & Skoog, 1962, p.473-497; Adelberg et al., 2010, p.227-233). The MS medium is notable for its high inorganic nitrogen content (approximately 60 mM), balanced N/P/K ratio (48:1:16), and a rich composition of micro- and macro-elements (Doğan, 2022). Compounds such as ammonium nitrate and potassium nitrate serve as nitrogen sources, while sucrose (3%) functions as both a carbon source and osmotic stabilizer. Moreover, the medium is enriched with vitamins and organic compounds such as myo-inositol, glycine, thiamine, nicotinic acid, and pyridoxine (Nartop, 2018; Doğan, 2022). These properties make the MS medium highly effective for promoting cell growth, proliferation, and morphogenesis (George et al., 2008; Fadel et al., 2010, p.688-698).

The aim of this study is to evaluate the effects of different concentrations of MS medium characterized by its high nitrogen and potassium content and balanced micro- and macro-element composition on the growth and metabolite content of *Haematococcus pluvialis*. In addition, the MS

medium was compared with BG11 in terms of metabolite production. For this purpose, *H. pluvialis* cultures were grown in various MS concentrations, and changes in astaxanthin, lipid, protein, chlorophyll a, and chlorophyll b contents were analyzed. Given its strong antioxidant capacity and wide range of biotechnological applications, maximizing astaxanthin production is of great importance for developing efficient and sustainable production strategies. Therefore, the findings of this study are expected to contribute to enhancing astaxanthin yield through culture condition optimization.

2. Materials and Methods

2.1 Materials

The *Haematococcus pluvialis* microalgae strain used in this study was obtained from the Algal Biotechnology Laboratory of Firat University. The stock cultures were maintained in BG11 medium under controlled conditions in an incubator (Nüve ES 120/252) set at $23 \pm 1^\circ\text{C}$ with a photoperiod of 16 hours light and 8 hours dark and an illumination intensity of 3000 lux. Inoculation into the experimental media was performed using a 1:1 (v/v) ratio of these stock cultures.

2.2 Preparation of Culture Media

For the preparation of BG11 medium, the following stock solutions were used per 1000 mL of distilled water: 75.0 g NaNO_3 , 4.0 g K_2HPO_4 , 7.5 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 3.6 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0.10 g Na_2EDTA , 2.00 g Na_2CO_3 , 2.86 g H_3BO_3 , 1.81 g $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0.22 g $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.39 g $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0.08 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, and 0.05 g $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. One milliliter of each stock solution was added, and the final volume was brought to 1000 mL with distilled water. For the MS media (Murashige & Skoog Basal Medium with vitamins; Phytotechlab), different concentrations were prepared as follows: 4.4 g of MS powder for full-strength MS medium, 2.2 g for 1/2 MS, 1.1 g for 1/4 MS, and 0.55 g for 1/8 MS, each dissolved in 1000 mL of distilled water. All media were sterilized in an autoclave at 121°C for 1.5 hours.

It is noteworthy that no visible growth was observed after the second day in cultures inoculated into the full-strength MS medium.

2.3 Biochemical Analyses

To determine the optical density of *Haematococcus pluvialis* cultures, samples were thoroughly homogenized prior to measurement. Then, 2 mL aliquots were transferred into quartz cuvettes using a micropipette, and optical density was measured at 680 nm wavelength using an ISOLAB UV/VIS spectrophotometer. Measurements were conducted in triplicate over a period of 10 days.

For protein quantification, 100 μ L of Deoxycholate Solution (DOC, Sigma-Aldrich) was added to each 1 mL sample and mixed, followed by the addition of 100 μ L Trichloroacetic Acid (TCA, Sigma-Aldrich). The mixtures were centrifuged at 2000 rpm for 10 minutes. After discarding the supernatant, 1 mL of Lowry reagent was added to the pellet and incubated for 20 minutes. Then, 1 mL of Folin & Phenol reagent (Sigma-Aldrich Total Protein Kit) was added and samples were incubated for 30 minutes. Absorbance was measured at 750 nm, and protein concentrations were calculated using a standard curve based on the Lowry (1951) method (Lowry et al., 1951, p.265-275)

For pigment analysis, 2 mL of each sample was centrifuged at 2000 rpm for 10 minutes. The supernatant was discarded, and 2 mL of 99.9% pure methanol was added to the pellet. Samples were incubated in a dark incubator at 45°C for 24 hours. After incubation, samples were centrifuged again and the supernatant was used for absorbance measurements at 665 nm and 652 nm for chlorophylls and 470 nm for carotenoids. Pigment concentrations were calculated using the equations proposed by Lichtenthaler (1987):

$$\text{Chlorophyll a (mg L}^{-1}\text{)} = 16.72 \times A_{665.2} - 9.16 \times A_{652.4}$$

$$\text{Chlorophyll b (mg L}^{-1}\text{)} = 34.09 \times A_{652.4} - 15.28 \times A_{665.2}$$

$$\text{Carotenoids (mg L}^{-1}\text{)} = (1000 \times A_{470} - 1.63 \times \text{Chl-a} - 104.9 \times \text{Chl-b})/221$$

(Lichtenthaler, 1987, p.350-382)

For lipid determination, each 5 mL sample was mixed with a methanol–chloroform solution in a 1:0.5 volume ratio. Then, 2 mL of 0.4% CaCl₂ solution was added and homogenized. The resulting suspension was filtered through Schleicher & Schuell filter paper (125 mm), and the filtrate was dried in an oven at 105°C for 2 hours. The samples were left in the dark for 24 hours. On the following day, the upper methanol–water phase was removed using a separating funnel, and the remaining mixture was evaporated in a water bath at 80°C, followed by drying in an oven at 90°C for 1 hour to completely remove the chloroform (Bligh & Dyer, 1959, p.911-917). The lipid content was determined gravimetrically using the following formula:

$$\text{Lipid (\%)} = \frac{[(\text{Weight of tube} + \text{Lipid}) - \text{Weight of empty tube}] \times 100}{\text{Sample weight (g)}}$$

For astaxanthin determination, 5 mL of culture was centrifuged at 2000 rpm for 10 minutes. The pellet was mixed with 5 mL of a 5% KOH and 30% methanol (v/v) solution and incubated at 65°C for 15 minutes. After centrifugation, the supernatant was discarded, and 5 mL of DMSO was added to the pellet. Sonication was carried out using a Bandelin HD2070 ultrasonic homogenizer at 3.0 kHz for 10 minutes. This process was repeated until color formation was observed (Boussiba & Vonshak, 1991, p.1077-1082). Astaxanthin concentration was calculated according to the following formula based on absorbance at 490 nm (Davies, 1976, p.38-166): $c \text{ (mg L}^{-1}\text{)} = 4.5 \times A_{490} \times V_a / V_b$

2.4 Statistical Analyses

All experimental analyses were performed in triplicate. The results were reported as mean $\pm$ standard deviation (SD). Correlation analyses were visualized using a correlation heatmap to depict relationships among variables. Each cell in the heatmap represents the correlation coefficient between two variables, ranging from -1 to +1. A value of +1 indicates a perfect positive correlation (both variables increase together), 0 indicates no correlation, and -1 indicates a perfect negative correlation (as one increases, the other decreases). Matplotlib version 3.7.5 was used for the visualization of the correlation matrices.

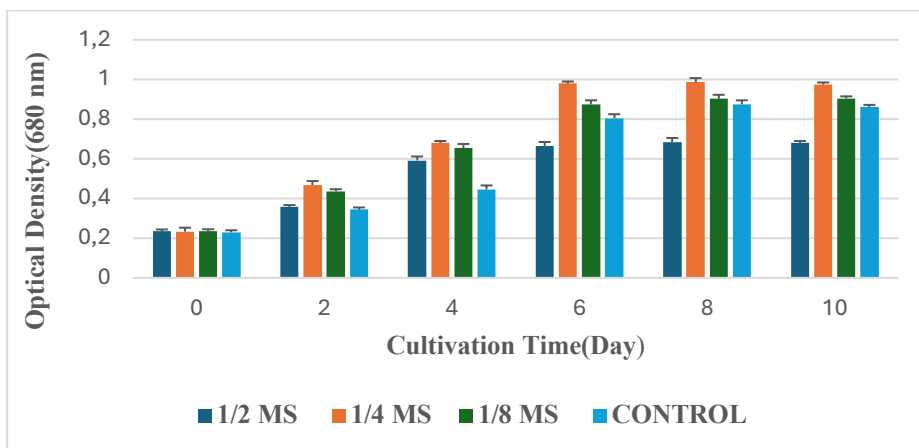
3. Result and Discussion

3.1 The Effect of Different Concentrations of Murashige and Skoog (MS) Medium on the Growth of the Microalgae *Haematococcus pluvialis*

In this study, the effects of different concentrations of MS medium (1/2, 1/4, 1/8) on the growth of *Haematococcus pluvialis* cultures were evaluated based on optical density (OD 680 nm) measurements taken on days 0, 2, 4, 6, 8, and 10. Initially (day 0), OD values were similar across all groups, approximately 0.23 (680 nm). Over time, increases in OD values were observed as a result of culture growth. Notably, in the 1/4 MS concentration medium, a significant and consistent increase in cell growth was observed. From day 4 onward, *Haematococcus pluvialis* cultures inoculated in this medium exhibited superior growth compared to all other groups, reaching an OD value of 0.975 (680 nm) on day 10. This value was approximately 13–14% higher than those recorded for the control and other MS concentration groups, indicating that the 1/4 MS concentration provided optimal growth conditions for *H. pluvialis*.

Although growth was also observed in the 1/2 MS and 1/8 MS media, the increase was neither as high nor as stable as in the 1/4 MS group. In the control group (BG11 medium), growth was more limited compared to the MS media, with a final OD value of 0.862 recorded on day 10 (Fig. 1).

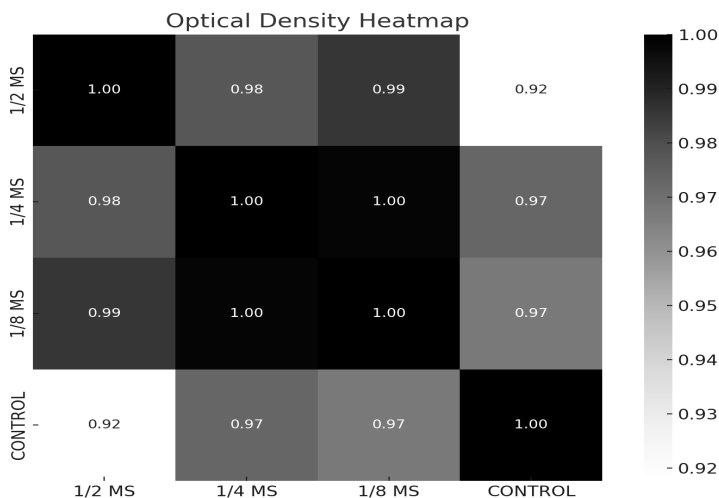
Figure 1. The effect of different MS medium concentrations (1/2, 1/4, 1/8) on the growth of Haematococcus pluvialis.



As a result, the 1/4 MS medium concentration provided a more favorable growth environment for *Haematococcus pluvialis* cultures, exhibiting superior performance in terms of both cell density and growth rate compare to other treatments.

In a master's thesis conducted in South Texas, a study on local microalgal species reported that significantly higher microbial growth was achieved in 1/2 MS medium supplemented with Gamborg's B5 vitamins, compared to full-strength MS medium. This finding suggests that diluted MS medium concentrations may offer a more suitable nutritional balance for photosynthetic algae (Peña, 2021).

Figure 2. Correlation Heatmap Based on Optical Density Measurements Under Different MS Medium Concentrations



Correlation analysis based on the optical density values of *Haematococcus pluvialis* samples cultured in different concentrations of MS (Murashige and Skoog) medium revealed strong relationships between the groups. Measurements were evaluated using time-series optical density data collected from day 0 to day 10, and the resulting correlations were visualized through a heatmap. The correlation matrix indicated that all groups exhibited strong positive correlations. In particular, the correlation coefficient between the 1/4 MS and 1/8 MS media was calculated as 1.00, indicating a highly similar trend in cell density increase in these two treatments. Likewise, the correlation between 1/2 MS and 1/8 MS media was 0.99, while the correlation between the 1/4 MS and the control group was found to be 0.97. Despite differences in nitrogen and mineral concentrations across media, the patterns of cellular growth appeared largely parallel. However, the lowest correlation (0.92) was observed between the 1/2 MS and the control group. This suggests that the higher concentration of MS medium exerted a different influence on cell proliferation compared to the control group, particularly resulting in a more distinct separation in growth curves during the initial phase. This deviation may stem from the high salt content and ionic imbalance in the medium, which could impose osmotic stress on the algal cells (Chojnacka & Noworyta, 2004, p.461-465).

Overall, the correlation analysis demonstrated that the different MS media exhibited similar effects on the growth performance of *H. pluvialis*. However, the 1/4 and 1/8 MS concentrations emerged as the most synchronized groups in terms of growth trends, suggesting that these two media formulations induced comparable physiological responses under the tested culture conditions.

3.2 The Effect of Different Concentrations of Murashige and Skoog (MS) Medium on the Protein Content of *Haematococcus pluvialis*

Haematococcus pluvialis is a microalgal species notable for its high protein content and valuable biochemical constituents. According to the literature, the protein content of *H. pluvialis* can range between 20% and 40%, depending on the culture conditions (Garcia-Malea et al., 2005). Protein synthesis is significantly influenced by environmental factors such as nitrogen availability and light intensity. By optimizing culture conditions, protein production can be enhanced, thereby expanding the biotechnological potential of *H. pluvialis*.

In this study, nitrogen-rich MS medium was used at different concentrations to promote protein accumulation in *H. pluvialis* cultures, and the changes in protein levels were monitored over a ten-day period. Initially, protein concentrations across all groups were similar, ranging from 0.706 to 0.775 µg/mL. Over time, protein synthesis increased, with variations observed depending on the MS medium concentration. In the 1/4 MS group, protein accumulation was rapid and prominent, reaching a peak of 2.445 µg/mL on day 6. This value was approximately 34% higher than that of the control group, which measured 1.828 µg/mL on the same day. However, a slight decline was observed in the 1/4 MS group on days 8 and 10, with the value decreasing to 2.113 µg/mL by day 10. In cultures treated with 1/2 MS, a more stable increase in protein levels was noted, reaching 2.203 µg/mL on day 10. Similarly, the 1/8 MS group achieved a comparable protein concentration of 2.205 µg/mL by the end of the experiment. In contrast, the control group (BG11 medium) showed a more limited increase in protein content, reaching only 1.807 µg/mL on day 10.

These findings suggest that the 1/4 MS concentration strongly stimulates early-stage protein synthesis in *H. pluvialis* cultures (Fig. 3).

Figure 3. Variations in protein content of *Haematococcus pluvialis* cultured in different MS medium concentrations over a 10-day period

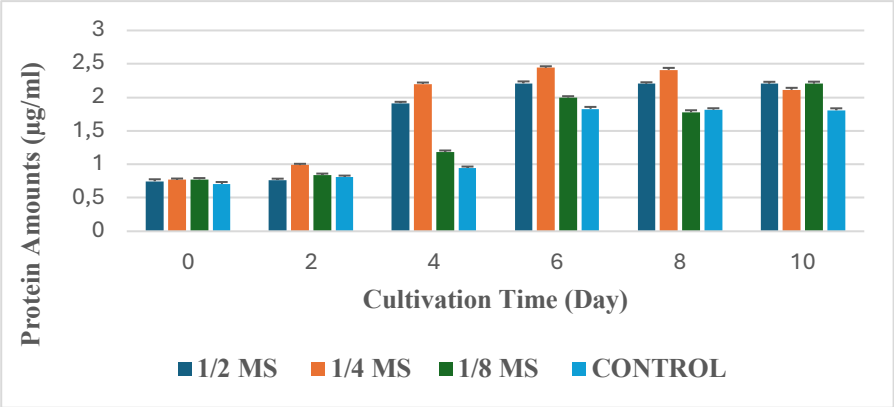
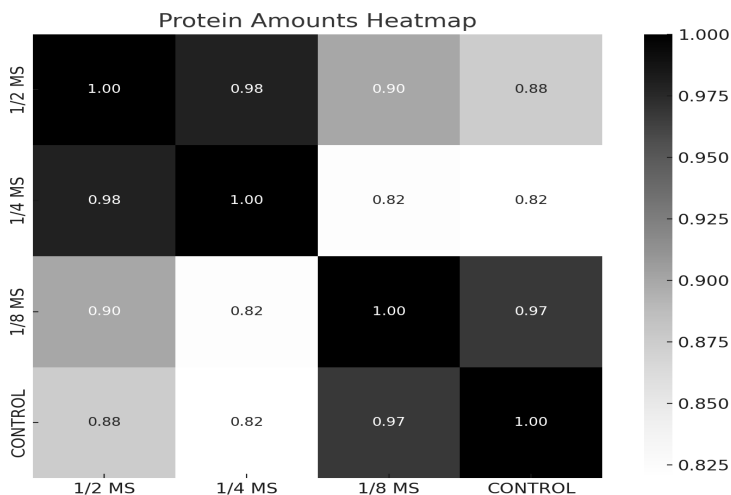


Figure 4. Protein Amounts Correlation Heatmap in *Haematococcus pluvialis* Cultured with MS Variants



Correlation analysis of protein content measured over a 10-day monitoring period in *Haematococcus pluvialis* cultures grown in different MS (Murashige and Skoog) medium concentrations revealed varying degrees of similarity in growth responses among the media. The correlation matrix allowed for a comparative evaluation of how these different media compositions influenced protein production trends. The results showed a very high correlation coefficient between the 1/2 MS and 1/4 MS media ($r = 0.98$), suggesting that the nutrient composition in these two media had a largely similar effect on the cells' protein synthesis response. In both conditions, the nitrogen and mineral balance appeared to support protein metabolism and resulted in parallel production profiles.

However, correlation coefficients between the 1/4 MS and the 1/8 MS as well as the control group were found to be relatively lower ($r = 0.82$), indicating that the higher protein synthesis observed in the 1/4 MS medium may be related to a distinct metabolic response. The 1/4 MS concentration likely created a stimulatory effect on protein biosynthesis due to its optimal nutrient balance. This also suggests that cellular responses to the media vary depending on nutrient saturation levels.

A strong correlation ($r = 0.97$) was observed between the 1/8 MS and the control group, indicating similar protein production trends over time and comparable physiological responses to lower nutrient levels. Overall, the correlation analysis demonstrated that protein production in *H. pluvialis* cultures is sensitive to MS medium concentration and that different nutrient levels influence cellular metabolism to varying extents. It was concluded that moderate MS concentrations (particularly 1/4 MS) had a positive and consistent impact on protein synthesis, highlighting their potential as reference points for developing optimized culture conditions (Fig. 4).

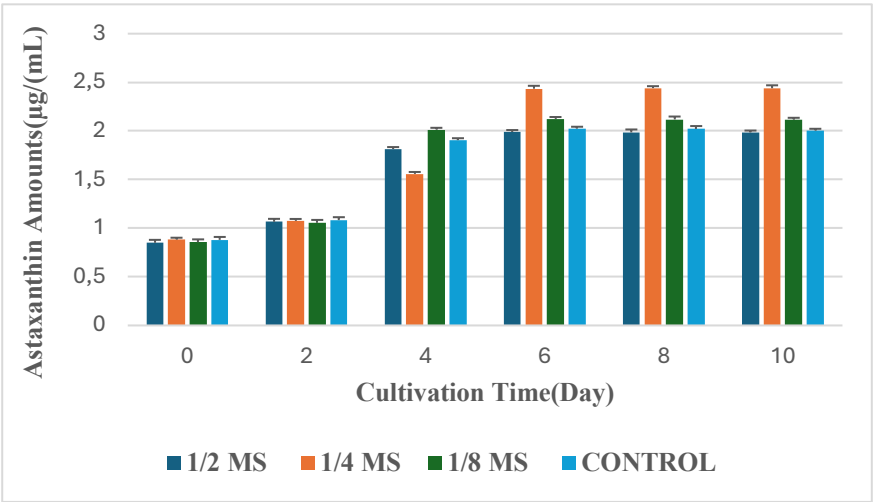
3.3 Effects of Different Concentrations of Murashige and Skoog (MS) Medium on Astaxanthin Synthesis in *Haematococcus pluvialis*

It has been reported that the balance of nitrogen, phosphorus, and micronutrients in the culture medium can significantly alter the metabolic responses of *Haematococcus pluvialis*, thereby influencing astaxanthin accumulation (Del Río, Riquelme, & Rivas, 2008, p.310-317). In this context, the MS (Murashige and Skoog, 1962) medium, rich in nitrates and micronutrients, may serve as a suitable base for promoting intracellular metabolic pathways and enhancing pigment production by triggering stress-response mechanisms in microalgae. At the beginning of the experiment, astaxanthin levels were similar across all groups, ranging between 0.85–0.882 $\mu\text{g/L}$. However, over time, the effects of medium concentration became apparent, with significant differences among groups observed from Day 4 onward. Among all concentrations tested, the 1/4 MS medium supported the highest astaxanthin accumulation. In this group, a marked increase was observed beginning on Day 4, and the astaxanthin content peaked at 2.434 $\mu\text{g/L}$ on Day 6. These high levels were maintained on Days 8 and 10, with concentrations of 2.440 and 2.439 $\mu\text{g/L}$, respectively. These results indicate that the 1/4 MS concentration provides optimal conditions for astaxanthin biosynthesis. The 1/8 MS medium also supported relatively high levels of astaxanthin accumulation, surpassing 2 $\mu\text{g/L}$ from Day 4 onward. Astaxanthin levels remained stable, measuring 2.123, 2.118, and 2.115 $\mu\text{g/L}$ on Days 6, 8, and 10, respectively, indicating sustained production.

In contrast, the 1/2 MS group exhibited lower astaxanthin synthesis, with the increase plateauing after day 6. On day 10, the astaxanthin concentration in this group was measured at 1.984 µg/L significantly lower than those observed in the 1/4 and 1/8 MS media. The control group also yielded lower astaxanthin levels, reaching 2.002 µg/L by day 10.

In conclusion, the 1/4 MS medium emerged as the most effective concentration for enhancing astaxanthin synthesis in *Haematococcus pluvialis* cultures. The nutrient balance in this medium likely induced a favorable stress response that stimulated carotenoid production. Thus, the 1/4 MS concentration can be considered the most efficient condition for maximizing astaxanthin yield in biotechnological applications (Fig. 5).

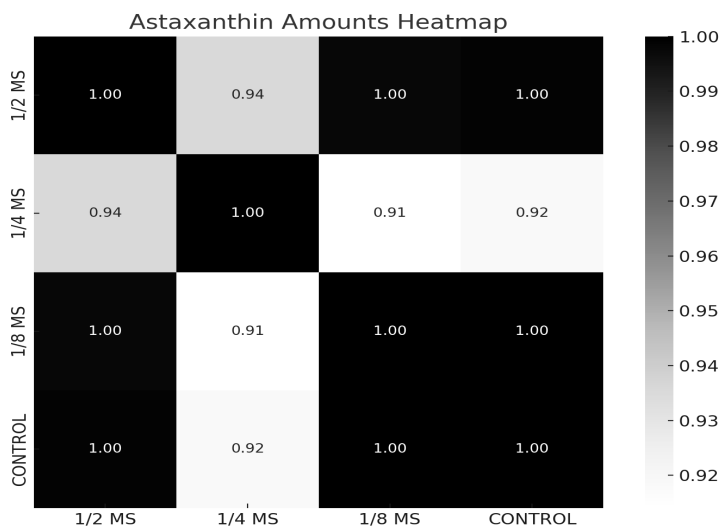
Figure 5. Changes in Astaxanthin Content of *Haematococcus pluvialis* Cultured in Different MS Medium Concentrations



The Murashige and Skoog (MS) medium, widely used in plant tissue culture due to its rich composition, has also been shown to significantly influence the growth and metabolic activities of microalgae, owing to its high nitrate content and abundance of micro- and macro-elements. In a related study, an optimized medium containing 18 different nutrient elements, similar to the components of the MS medium, was reported to

increase cell density in *Haematococcus pluvialis* cultures by approximately threefold, thereby providing a favorable foundation for enhanced astaxanthin production (Fábregas et al.,2000, p.530-535). Similarly, our study demonstrated that MS culture media significantly stimulated astaxanthin production compared to the control group.

Figure 6. Correlation Heatmap of Astaxanthin Accumulation in *Haematococcus pluvialis* Under Different MS Medium Concentrations



A correlation analysis was conducted to evaluate the effects of different Murashige and Skoog (MS) medium concentrations on astaxanthin accumulation in *Haematococcus pluvialis* cultures. The results revealed a high degree of similarity in production patterns across the different media. The correlation matrix was generated using time-dependent astaxanthin measurements and visualized with a black-and-white heatmap illustrating the statistical relationships among the groups. The analysis showed extremely high correlations among the 1/2 MS, 1/8 MS, and control groups ($r = 1.00$), indicating that astaxanthin synthesis followed a similar temporal

trend in these three media. In particular, the similar stress responses induced by the lower nutrient contents in the 1/8 MS and control groups appeared to drive parallel astaxanthin accumulation patterns. In contrast, the correlation coefficients between the 1/4 MS group and the other groups were lower (e.g., 1/4 MS and 1/8 MS: $r = 0.91$; 1/4 MS and control: $r = 0.92$). This suggests that the 1/4 MS group initiated astaxanthin production earlier and at higher levels compared to the other conditions.

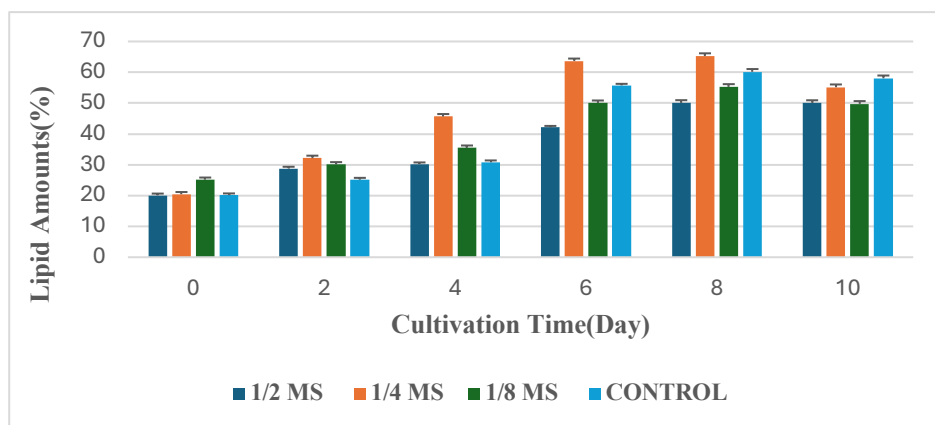
The moderate nitrogen and mineral balance in the 1/4 MS medium may have triggered a metabolic response that promoted pigment synthesis. These differences demonstrate that not only the total astaxanthin yield but also the temporal dynamics of its accumulation can be influenced by the salt and nitrogen concentrations in the MS medium. Overall, the correlation analyses indicated that while the different MS media exerted broadly similar effects on astaxanthin production, the 1/4 MS concentration exhibited a more distinct production profile. This finding suggests that 1/4 MS should be prioritized in optimization strategies aimed at enhancing astaxanthin production (Fig. 6).

3.4 The Effect of Different Concentrations of Murashige and Skoog (MS) Medium on the Lipid Content of the Microalga *Haematococcus pluvialis*

The effect of different MS medium concentrations on total lipid accumulation in *Haematococcus pluvialis* cultures was evaluated based on lipid content (%) measured on days 0, 2, 4, 6, 8, and 10. Initially, lipid percentages were similar across all groups, ranging from 20.05% to 25.15%. As the cultivation progressed, lipid content increased in all groups; however, the extent and sustainability of this increase varied between treatments. Notably, the 1/4 MS concentration group exhibited a significant increase starting from day 4 and reached the highest lipid content of 65.25% on day 8. This value exceeded that of the control group (60.15%) on the same day, representing the maximum accumulation among all concentrations tested. However, by day 10, a decrease to 55.15% was observed, suggesting that high lipid accumulation may decline after a certain period.

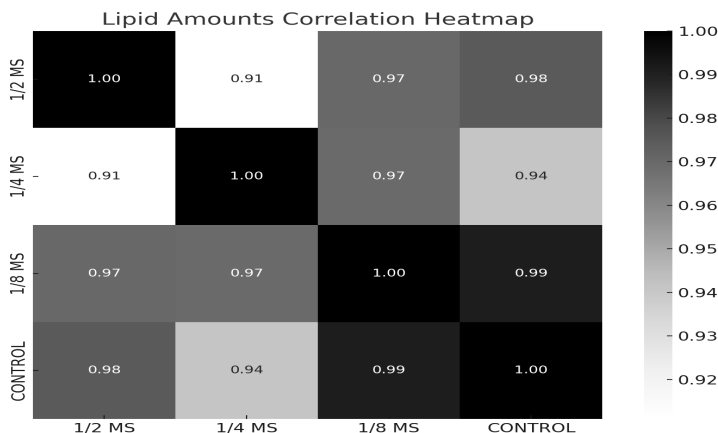
Although the 1/8 MS group initially had the highest lipid level (25.15%) among all groups, the subsequent increase was limited, and by day 10, the lipid content was measured at 49.75%. In the 1/2 MS group, lipid content increased steadily, reaching 50.05% on day 8 and remaining stable at 50.02% on day 10. The control group showed a sharp rise to 55.75% on day 6 and ultimately reached 58.05% on day 10, marking the second-highest lipid level after the 1/4 MS treatment (Fig. 7).

Figure 7. Effect of different concentrations of MS medium on the lipid content of the microalga Haematococcus pluvialis.



These findings indicate that the 1/4 MS medium concentration provided the highest lipid accumulation in *Haematococcus pluvialis* cultures and represented the most efficient condition for lipid biosynthesis. Moreover, while this concentration effectively stimulated lipid production during the early to mid-culture phases, its stimulatory effect appeared to decline in extended cultivation periods. Supporting this observation, a master's thesis involving isolated microalgae species reported that supplementation of 1/2 MS medium with Gamborg's B5 vitamins led to an approximately 18% increase in lipid accumulation compared to full MS, Hoagland, and B5 media (Peña, 2021).

Figure 8. Correlation Heatmap of Lipid Accumulation in *Haematococcus pluvialis* Cultured with Different MS Medium Concentrations



The effects of different MS (Murashige and Skoog) medium concentrations on lipid accumulation in *Haematococcus pluvialis* cultures were evaluated through correlation analysis based on time-dependent measurements. The resulting correlation matrix reflects the statistical relationships between the lipid accumulation patterns over time in each medium group. The analysis revealed strong positive correlations across all treatments ($r > 0.90$). In particular, a very high correlation coefficient was observed between the 1/8 MS and the control group ($r = 0.99$), indicating a highly similar lipid synthesis trend in these two conditions. Likewise, high correlation values were found between the 1/2 MS and control group ($r = 0.98$), as well as between 1/2 MS and 1/8 MS ($r = 0.97$). These findings suggest that low and moderate MS concentrations lead to similar lipid accumulation dynamics in *H. pluvialis* cells.

On the other hand, the 1/4 MS condition exhibited lower correlation values compared to the other media, distinguishing itself from the rest. Notably, the correlation coefficients between 1/4 MS and the control ($r = 0.94$), and between 1/4 MS and 1/2 MS ($r = 0.91$), indicate that lipid synthesis under

this condition followed a different metabolic response. Indeed, lipid accumulation in the 1/4 MS group occurred earlier and more intensely, showing a steeper increase compared to the other groups. This may be attributed to a stronger stress response triggered by the moderate nutrient concentration, which in turn stimulated lipid biosynthesis. Overall, the correlation heatmap analyses indicate that variations in MS medium concentrations significantly affect lipid production patterns, and that the 1/4 MS condition presents a distinct profile. These findings suggest that the 1/4 MS concentration may serve as a promising strategy in optimization studies aiming to enhance lipid production in *H. phuvialis* (Fig. 8).

3.5 Effect of Different Murashige and Skoog (MS) Medium Concentrations on the Carotenoid Content of *Haematococcus pluvialis*

In this study, the effects of different concentrations of Murashige and Skoog (MS) medium (1/2 MS, 1/4 MS, 1/8 MS, and control) on the total carotenoid content of *Haematococcus pluvialis* cultures were evaluated. The findings revealed that carotenoid accumulation varied significantly depending on both the duration of cultivation and the concentration of the nutrient medium used. At the beginning of the experiment (day 0), all groups showed similarly low carotenoid levels. However, as the culture period progressed, noticeable increases in carotenoid levels were observed, with the 1/4 MS treatment exhibiting the most pronounced enhancement.

By day 6, the total carotenoid content in the 1/4 MS group reached 1.618 µg/mL, the highest level among all treatments. This elevated level was sustained on days 8 and 10, with values of 1.612 and 1.601 µg/mL, respectively. These results indicate that the 1/4 MS medium provides optimal conditions for carotenoid biosynthesis. In contrast, the control group reached a total carotenoid content of 1.380 µg/mL on day 6, which then stabilized at 1.373 and 1.374 µg/mL on days 8 and 10, respectively, suggesting lower carotenoid production compared to the 1/4 MS group. In the 1/2 MS treatment, a peak carotenoid content of 1.289 µg/mL was observed on day 6, followed by a slight decline in subsequent days, with the value dropping to 1.182 µg/mL by day 10. This suggests that the high mineral and nitrogen content of the 1/2 MS medium may have suppressed

carotenoid synthesis by keeping the cells in nutrient-excess conditions. In the 1/8 MS group, carotenoid accumulation was more limited, reaching a maximum of 1.102 $\mu\text{g/mL}$ on day 6 and remaining relatively stable (1.103 $\mu\text{g/mL}$) through day 10. Overall, it can be concluded that the 1/4 MS concentration had the most favorable effect on total carotenoid accumulation in *Haematococcus pluvialis*, indicating that this medium most effectively promoted carotenoid biosynthesis (Fig. 9).

Figure 9. Time-Dependent Effects of Different MS Medium Concentrations on the Total Carotenoid Content of *Haematococcus pluvialis*

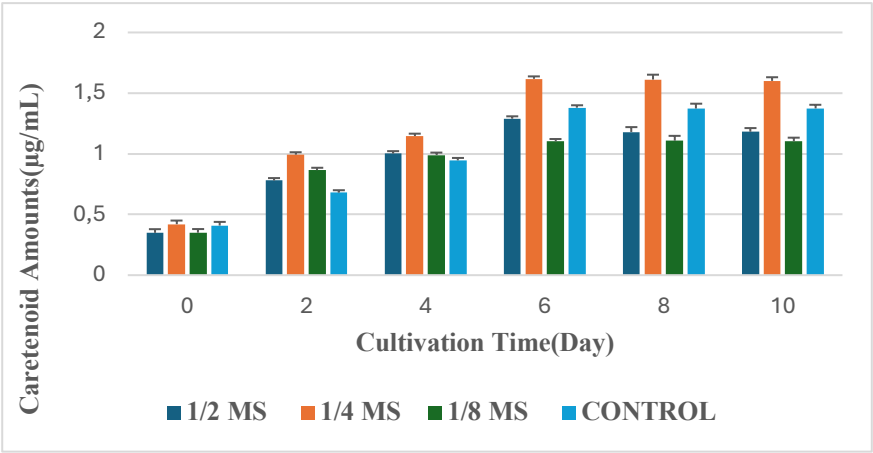
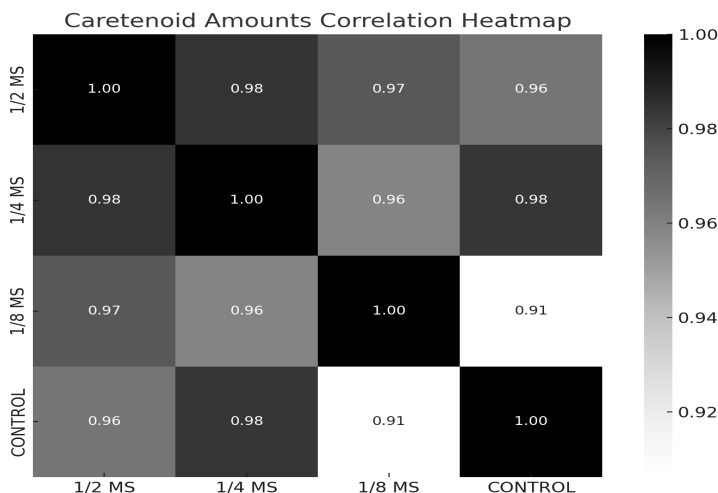


Figure 10. Correlation Heatmap of Carotenoid Accumulation in *Haematococcus pluvialis* Under Varying MS Medium Concentration



The correlation between carotenoid contents measured over time in *Haematococcus pluvialis* cultures grown in different concentrations of Murashige and Skoog (MS) medium was evaluated through correlation heatmap analysis. The resulting correlation matrix statistically illustrates the effect of MS medium concentrations on carotenoid accumulation patterns and visualizes the degree of similarity in production dynamics. The analysis revealed strong positive correlations across all treatment groups. The correlation coefficient between the 1/4 MS and 1/2 MS media was found to be as high as $r = 0.99$, indicating almost identical carotenoid biosynthesis dynamics between these two conditions. Similarly, a very high correlation was observed between the 1/8 MS and control groups ($r > 0.97$), suggesting that similar metabolic responses were induced under media with lower mineral content.

Notably, although the 1/4 MS condition yielded the highest carotenoid accumulation, it still maintained strong correlations with other treatments, demonstrating a stable and efficient biosynthetic response. This synchronization in carotenoid production may be attributed to the optimal availability of nitrate, potassium, and micronutrients that promote stress responses (Del Campo et al., 2007, p.289-295; Gómez-Serrano et al., 2018, p.110-117).

In conclusion, the correlation heatmap analysis revealed that similar biochemical responses emerged across different dilutions of MS medium, but particularly highlighted the 1/4 MS medium as a condition that not only maximized carotenoid production but also retained strong correlations with other media. This finding supports the use of 1/4 MS medium in culture optimization studies to stimulate carotenoid metabolism (Fig. 10)

3.6 The Effect of Different Concentrations of Murashige and Skoog (MS) Medium on the Chlorophyll a and b Content of the Microalga *Haematococcus pluvialis*

Chlorophyll *a* is one of the primary indicators of photosynthetic activity and physiological status in microalgae. Pigment production is directly associated with nutrient balance and light conditions in the growth environment (García-Malea et al., 2005, p.373-380). In this study, the effect of different concentrations of Murashige and Skoog (MS) medium on chlorophyll *a* synthesis in *Haematococcus pluvialis* cultures was evaluated. At the beginning of the experiment (Day 0), chlorophyll *a* levels were similar across all groups (0.129–0.145 µg/mL), indicating equivalent starting conditions. However, as the culture period progressed, significant differences in pigment accumulation were observed depending on medium concentration. Among all groups, the 1/4 MS concentration resulted in the highest chlorophyll *a* production. In this group, the chlorophyll *a* level reached 0.380 µg/mL on Day 2, 0.565 µg/mL on Day 4, and peaked at 0.695 µg/mL on Day 6, maintaining high values on Days 8 and 10 (0.690 and 0.692 µg/mL, respectively). These results suggest that this medium, with a moderate level of nitrogen and minerals, maintains a balanced physiological state that supports optimized chlorophyll *a* synthesis. Indeed, previous studies have reported that nitrogen plays a structural role in chlorophyll biosynthesis and that its availability at sufficient—but not excessive—levels promotes pigment production (Ramos et al., 2011, p.10261-10267). In the control group, chlorophyll *a* levels reached 0.600 µg/mL on Day 6 and remained around 0.602 and 0.600 µg/mL on Days 8 and 10, respectively. Although these values indicate substantial pigment production, they are lower than those in the 1/4 MS group, suggesting that while the control medium supports chlorophyll synthesis, it is not as

effective as the optimized condition. In the 1/2 MS group, chlorophyll *a* levels reached 0.582 µg/mL on Day 6 and then stabilized at 0.580 µg/mL by Day 10. The high salt and nitrogen content of this medium may have negatively affected the cells, thereby limiting pigment synthesis. Previous studies have also emphasized that excessive nutrient concentrations can suppress pigment production (Li et al., 2008, p.629-636). In the 1/8 MS group, pigment accumulation was the lowest. Chlorophyll *a* content measured 0.550 µg/mL on Day 6 and slightly decreased to 0.540 µg/mL by Day 10. The low nutrient content likely caused nitrogen deficiency, limiting the structural components required for chlorophyll biosynthesis.

These findings underline that sufficient nitrogen and mineral availability in the medium is critical for optimal pigment production and that the 1/4 MS concentration provides the most favorable conditions for chlorophyll *a* synthesis in *Haematococcus pluvialis* (Fig. 11).

Figure 11. Time-Dependent Variation in Chlorophyll a Content of Haematococcus pluvialis: A Comparison of Different MS Medium Concentrations

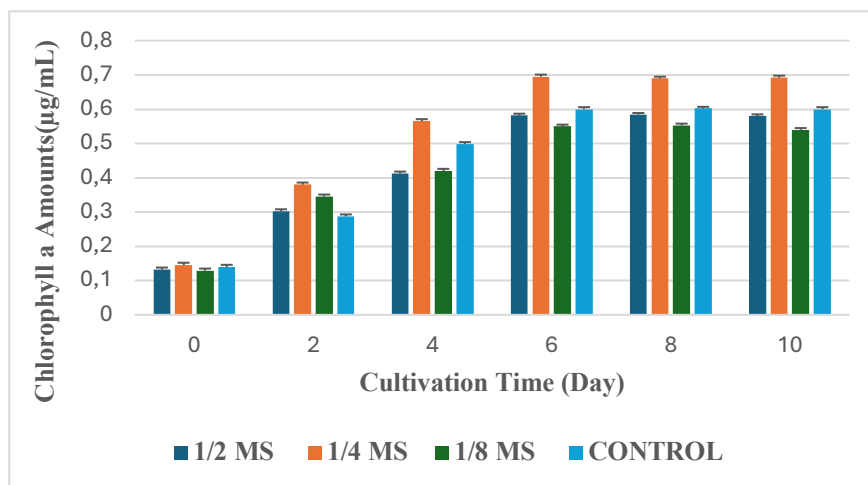
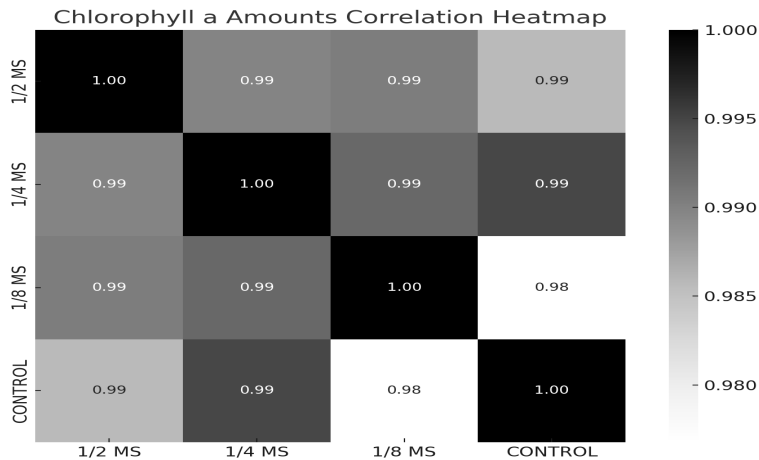


Figure 12. Comparative Correlation of Chlorophyll a Production in MS medium



The time-dependent variation in chlorophyll *a* (Chl *a*) levels of *Haematococcus pluvialis* cultured in different MS medium concentrations was assessed using correlation analysis to reveal the similarity in photosynthetic pigment accumulation across treatment groups. The resulting correlation heatmap indicated a generally strong positive correlation ($r > 0.95$) among the diluted MS medium variants and the control group. Notably, a correlation coefficient of $r = 0.99$ between the 1/4 MS and control groups demonstrated highly similar Chl *a* accumulation dynamics, suggesting that both media provided a metabolically comparable environment for photosynthetic pigment biosynthesis. Similarly, a strong correlation was observed between 1/2 MS and 1/8 MS ($r = 0.98$), indicating analogous temporal patterns in pigment accumulation. Overall, the high correlation values suggest that *H. pluvialis* maintained its chlorophyll *a* levels within a physiologically balanced range despite variations in MS medium concentrations, exhibiting a homeostatic response in its primary light-harvesting pigment synthesis. However, the 1/4 MS medium distinguished itself by reaching the highest absolute Chl *a* levels, with earlier and more intense accumulation, implying that moderate nutrient stress may enhance photosynthetic capacity. This finding supports the use of intermediate MS concentrations as an optimal condition

for pigment accumulation. In conclusion, correlation heatmap analysis revealed temporally similar responses in Chl *a* biosynthesis across MS concentrations, with the 1/4 MS treatment yielding the most stable and elevated pigment accumulation, highlighting its applicability in photopigment production strategies (Fig. 12).

Chlorophyll *b* (Chl *b*) is another fundamental component of the photosynthetic system, functioning alongside Chl *a* in light-harvesting complexes to expand the absorption spectrum. As such, Chl *b* synthesis is considered a key biomarker of photosynthetic capacity and physiological state (Lichtenthaler, 1987, p.350-382). This study also evaluated the effects of different MS medium concentrations on Chl *b* accumulation in *H. pluvialis*. Initial Chl *b* levels across all groups ranged from 0.23 to 0.247 µg/mL, indicating similar starting conditions. However, pigment accumulation patterns diverged significantly over time depending on the culture medium. The 1/4 MS medium resulted in the highest Chl *b* levels throughout the culture period, reaching 0.645 µg/mL by day 4, and peaking at 0.880 and 0.885 µg/mL on days 6 and 8, respectively. This high level was maintained through day 10 (0.883 µg/mL), suggesting that the 1/4 MS formulation provided an optimal nutrient balance for Chl *b* synthesis adequate in nitrogen and micronutrients, yet not overly stressful. The 1/8 MS medium also supported substantial Chl *b* accumulation, with levels reaching 0.850 µg/mL on day 6, 0.862 µg/mL on day 8, and 0.858 µg/mL on day 10. Despite its lower nutrient content, the cells appeared to adaptively maintain pigment levels, likely as a stress response. In contrast, the 1/2 MS group reached 0.803 µg/mL on day 6, dropping slightly to 0.794 µg/mL by day 10, indicating a comparatively reduced pigment production, possibly due to inhibitory effects from excess salts and nitrogen. In the control group, Chl *b* levels peaked at 0.756 µg/mL on day 6, followed by 0.777 µg/mL on day 8 and 0.764 µg/mL on day 10 lower than both the 1/4 and 1/8 MS treatments. Collectively, these results identify the 1/4 MS medium as the most effective formulation for promoting Chl *b* biosynthesis in *H. pluvialis*. This medium enhanced cellular photosynthetic capacity and pigment synthesis without inducing excessive stress. These findings reinforce the critical role of medium composition, particularly nitrogen in regulating pigment biosynthesis and demonstrate that proper nutrient

formulation can support optimal development of the photosynthetic apparatus (Markou & Nerantzis, 2013, p.1532-1542).

Figure 13. Time-Dependent Effect of Different MS Medium Concentrations on the Chlorophyll b Content of *Haematococcus pluvialis*

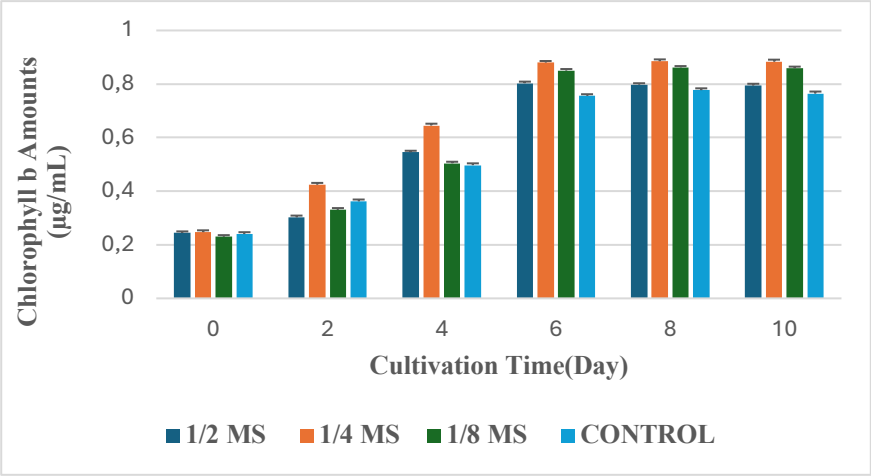
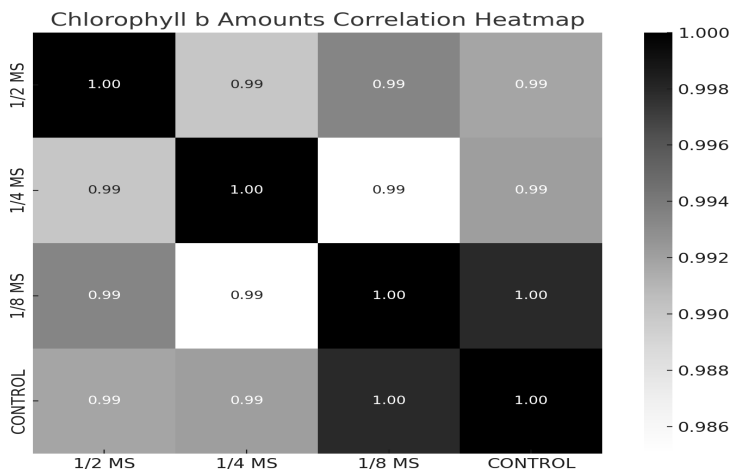


Figure 14. Correlation Matrix of Chlorophyll b amounts in MS Medium Variation



In this study, a correlation analysis was performed on the chlorophyll *b* levels measured between day 0 and day 10 in *Haematococcus pluvialis* cultures grown in different MS medium concentrations. The resulting heatmap visualization reveals the relationships between chlorophyll *b* accumulation dynamics over time across different media. Overall, high positive correlations ($r > 0.95$) were observed among all treatments. The strongest correlation was found between the 1/4 MS and 1/8 MS media ($r \approx 0.99$), indicating that these two medium concentrations exerted highly similar effects on the biosynthesis of chlorophyll *b* in *H. pluvialis*. Similarly, a strong correlation ($r \approx 0.98$) was observed between the 1/2 MS medium and the control group, suggesting that media with lower mineral loads induce more synchronized chlorophyll *b* production patterns. Notably, the 1/4 MS medium yielded the highest absolute chlorophyll *b* levels, which may be attributed to the optimal balance of nitrogen and micronutrients provided by this concentration. The moderate MS concentration appears to support photosynthetic pigment production without inducing excessive stress, which likely contributes to both higher production and stronger correlation levels. In conclusion, the correlation heatmap analysis indicates that different MS concentrations lead to similar trends in chlorophyll *b* accumulation. Among them, the 1/4 MS medium exhibited the most robust response in terms of both production levels and

correlation values, supporting its suitability for pigment-focused culture optimization studies (Fig. 14).

4. Conclusion

This study clearly demonstrates the relationship between biomass development and biochemical compound production in *Haematococcus pluvialis* cultured in various MS (Murashige and Skoog) medium concentrations. Specifically, the 1/4 MS medium emerged as the most effective condition in stimulating the algal metabolic responses, optimizing both cell growth and target compound synthesis. According to experimental results, samples cultured in 1/4 MS achieved the highest astaxanthin accumulation (2.439 $\mu\text{g/mL}$), lipid content (55.15%), and protein level (2.113 mg/mL). In addition, chlorophyll *a* (0.692 mg/mL) and chlorophyll *b* (0.883 mg/mL) contents reached their maximum levels in this medium. Carotenoid concentration was recorded at 1.601 mg/mL , indicating the highest level of photopigment synthesis under this condition.

Correlation analyses revealed strong interrelationships among these parameters ($r > 0.95$), indicating synchronized and efficient cellular metabolism in the 1/4 MS medium. This finding suggests that moderate nutrient limitation can stimulate secondary metabolite production without causing excessive stress to the cells. Today, the sustainable production of high-value microbial compounds such as natural astaxanthin, lipids, and proteins holds strategic importance from both biotechnological and economic perspectives. In industries such as food, pharmaceuticals, cosmetics, and aquaculture where the demand for natural antioxidants is rapidly increasing developing efficient microalgae production systems is a top priority. In this context, culture conditions with balanced nutrient compositions such as the 1/4 MS medium may serve as a suitable foundation for high-yield, cost-effective, and scalable production processes.

In summary, this study highlights the 1/4 MS medium as a strong candidate for enhancing metabolite yields in the biotechnological production of *Haematococcus pluvialis*, and suggests its potential as a standard medium for the commercial-scale production of compounds with high market value, such as astaxanthin.

5. References

- Adelberg, J., Simpson, E., & Shafer, W. (2010). Predicting nutrient and explant influence on biomass and cost of *Hypericum perforatum* shoot cultures in fed-batch bioreactors. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 103, 227–233. <https://doi.org/10.1007/s11240-010-9775-1>
- Acheampong, A., Pham, D. T., Zhang, H., & Yang, L. (2024). Current progress and future perspectives of stress-based strategies for enhancing astaxanthin accumulation in *Haematococcus pluvialis*: A review. *Bioresource Technology Reports*, 25, 101558. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2024.101558>
- Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37(8), 911–917. <https://doi.org/10.1139/o59-099>
- Boussiba, S., & Vonshak, A. (1991). Astaxanthin accumulation in the green alga *Haematococcus pluvialis*. *Plant and Cell Physiology*, 32(7), 1077–1082. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a078248>
- Chojnacka, K., & Noworyta, A. (2004). Evaluation of *Spirulina sp.* growth in photoautotrophic, heterotrophic and mixotrophic cultures. *Enzyme and Microbial Technology*, 34(5), 461–465. <https://doi.org/10.1016/j.enzmietec.2003.10.021>
- Davinelli, S., Nielsen, M. E., & Scapagnini, G. (2018). Astaxanthin in skin health, repair, and disease: A comprehensive review. *Nutrients*, 10(4), 522. <https://doi.org/10.3390/nu10040522>
- Davies, B. H. (1976). Carotenoids. In T. W. Goodwin (Ed.), *Chemistry and biochemistry of plant pigments* (Vol. 2, pp. 38–166). London: Academic Press.
- Del Campo, J. A., Rodríguez, H., Moreno, J., Vargas, M. A., Rivas, J., & Guerrero, M. G. (2007). Lutein production by *Muriellopsis sp.*

in an outdoor tubular photobioreactor. *Journal of Biotechnology*, 85(3), 289–295. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(00\)00353-3](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(00)00353-3)

Del Río, M. J., Riquelme, C. E., & Rivas, J. (2008). The effects of culture medium and light intensity on *Haematococcus pluvialis* Flotow (Chlorophyceae) pigment accumulation. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 68(3), 310–317.

Doğan, T. (2022). *Bitki doku kültürü çalışmalarında Murashige-Skoog (MS) ortamı kullanımı ve içerik analizi* (Yüksek Lisans Tezi). Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.

Fábregas, J., Domínguez, A., Regueiro, M., Maseda, A., & Otero, A. (2000). Optimization of culture medium for the continuous cultivation of the microalga *Haematococcus pluvialis*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 53(5), 530–535. <https://doi.org/10.1007/s002530051649>

Fadel, M., Hassanein, N., Elshafei, A., & Mostafa, Y. (2010). Optimization of growth and astaxanthin production in *Haematococcus pluvialis* using different culture media. *Journal of Applied Sciences Research*, 6(6), 688–698.

García-Malea, M. C., Acién, F. G., Fernández, J. M., & Molina, E. (2005). Continuous production of *Haematococcus pluvialis* astaxanthin under illumination with light-emitting diodes. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 68(3), 373–380. <https://doi.org/10.1007/s00253-004-1830-x>

George, E. F., Hall, M. A., & De Klerk, G. J. (2008). *Plant propagation by tissue culture* (3rd ed.). Springer.

Gómez-Serrano, C., Sánchez-González, I., & Fernández, I. (2018). Influence of nitrate concentration on carotenoid and chlorophyll content in *Haematococcus pluvialis*. *Algal Research*, 33, 110–117. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.05.013>

Gong, M., & Bassi, A. (2016). Carotenoids from microalgae: A review of recent developments. *Biotechnology Advances*, 34(8), 1396–1412. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2016.10.005>

Heo, J., Kang, D. H., & Chang, Y. K. (2017). Comparative transcriptomic analysis of *Haematococcus pluvialis* for astaxanthin accumulation and lipid biosynthesis. *Bioresource Technology*, 245, 1191–1197. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.148>

Katiyar, R., Gurjar, M., & Nema, P. K. (2017). Microalgae: A sustainable source of nutraceuticals. *Frontiers in Life Science*, 10(1), 1–9. <https://doi.org/10.1080/21553769.2016.1274867>

Li, L., Pan, Y., Li, Y., & Gu, W. (2023). Strategies to improve astaxanthin production in *Haematococcus pluvialis*. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 11, 1168429. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.1168429>

Li, Y., Horsman, M., Wang, B., Wu, N., & Lan, C. Q. (2008). Effects of nitrogen sources on cell growth and lipid accumulation of green alga *Neochloris oleoabundans*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 81(4), 629–636. <https://doi.org/10.1007/s00253-008-1681-0>

Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic membranes. *Methods in Enzymology*, 148, 350–382. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1)

Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193, 265–275. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)52451-6)

Mandotra, S. K., Kumar, P., Suseela, M. R., Ramteke, P. W., & Pandey, A. K. (2016). Evaluation of biomass, lipid productivity and biochemical composition of microalga *Scenedesmus abundans*

under different cultivation conditions. *Bioresource Technology*, 215, 201–207. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.03.086>

Markou, G., & Nerantzis, E. (2013). Microalgae for high-value compounds and biofuels production: A review with focus on cultivation under stress conditions. *Biotechnology Advances*, 31(8), 1532–1542. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.07.011>

Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473–497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>

Mustafa, E. M., Phang, S. M., & Chu, W. L. (2013). Use of an alternative medium for the mass cultivation of microalgae. *Bioresource Technology*, 130, 472–478. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.12.138>

Nartop, P. (2018). *Bitki doku kültürü ortamlarında vitaminlerin rolü* (Yüksek Lisans Tezi). Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.

Patel, A., Sharma, A., Chauhan, R., Ghosh, T., & Dasgupta, C. N. (2022). Bioactive carotenoids from microalgae: A review of extraction, characterization, and health benefits. *Algal Research*, 62, 102605. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102605>

Peña, A. (2021). *Isolation and cultivation of local microalgae species for biodiesel production* (Master's thesis, Texas A&M University–Kingsville). Texas Digital Library. <https://hdl.handle.net/1969.6/89850>

Ramos, A., Coesel, S., Marques, A., Rodrigues, M., Baumgartner, A., Noronha, J., & Barreira, L. (2011). Effect of nitrogen depletion on the production of bioactive compounds in *Chlorella vulgaris*. *Bioresource Technology*, 102(2), 10261–10267. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.08.088>

Shen, Y., Yuan, W., Pei, Z. J., Wu, Q., & Mao, E. (2016). Microalgae mass production methods. *Transactions of the ASABE*, 52(4), 1275–1287. <https://doi.org/10.13031/2013.27709>

Ulianova, M., Zhila, N., Kalacheva, G., & Volodina, M. (2020). Astaxanthin production by *Haematococcus pluvialis*: Recent trends and future prospects. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 36, 131. <https://doi.org/10.1007/s11274-020-02880-9>

Wahidin, S., Idris, A., & 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. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.11.032>

Wayama, M., Ota, S., Muto, M., & Kawano, S. (2013). A novel methodology for quantitative evaluation of astaxanthin accumulation in *Haematococcus pluvialis*. *Bioresource Technology*, 129, 529–535. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.11.079>

BÖLÜM 10

INVESTIGATION INTO THE EFFECTS OF DIFFERENT VITAMIN E CONCENTRATIONS ON GROWTH, PROTEIN AND ASTAXANTHIN AMOUNTS IN MICROALGA *HAEMATOCOCCUS PLUVIALIS*

GÖKÇE KENDİRLİOĞLU ŞİMŞEK¹

1. Introduction

Astaxanthin is a red-colored ketocarotenoid with a chemical structure of 3,3'-dihydroxy- β,β' -carotene-4,4'-dione. It is a highly bioactive natural compound that has attracted significant attention in the pharmaceutical, food, and cosmetic industries due to its potent antioxidant, anti-inflammatory, and antitumor properties (Aflalo et al., 2007, p.300-305; Palozza et al., 1992, p.291-295). In natural ecosystems, astaxanthin is primarily synthesized by microalgae and phytoplankton; it is subsequently transferred from these primary producers to zooplankton and crustaceans, eventually reaching higher marine organisms through the trophic chain (Ambati et al., 2014, p.128-152). However, the low purity levels and

¹ Dr., Firat University, Plant Tissue Culture Laboratory/ Elazig/ Turkey, Orcid:
0000-0001-8896-2893

insufficient production quantities of astaxanthin derived from natural sources fail to meet global demand, making it imperative to enhance efficiency in biotechnological production processes (Borowiak et al., 2021). In this context, increasing the amount of astaxanthin produced per unit volume and improving product purity are considered key goals for sustainable production strategies.

Astaxanthin can be synthesized by certain yeast, bacteria, and microalgal species. Among them, *Haematococcus pluvialis*, a member of the Chlorophyta group, stands out due to its high astaxanthin biosynthesis capacity, with the ability to accumulate astaxanthin up to approximately 5% of its cellular dry weight (Valduga et al., 2009, p.2429-2436; Kim et al., 2015, p.238-246). Owing to this characteristic, it is regarded as one of the most preferred microalgal species for industrial astaxanthin production. With broad application potential in fields such as food, aquaculture, health, and cosmetics, this microalga is considered a significant natural source of astaxanthin due to its strong antioxidant properties (Acheampong et al., 2024).

H. pluvialis is distinguished by its exceptionally high astaxanthin productivity compared to other known natural sources, and is thus described as a “powerhouse of natural astaxanthin production” (Mota et al., 2022, p.598-609). Culture studies conducted on this species have revealed that environmental parameters such as light, temperature, pH, nutrient type and concentration, and aeration have critical effects on both cell growth and astaxanthin accumulation. The growth performance and metabolic activity of microalgae are not only influenced by environmental conditions but are also closely linked to the type and concentration of micro- and macronutrients in the culture medium (Becker, 2007, p.207-210). In addition to essential nutrients such as carbon, nitrogen, and phosphorus, microalgae also require various vitamins. These vitamins act as cofactors in metabolic processes and play crucial roles in the regulation of cellular functions (Croft et al., 2006 p.1175-1183). Water-soluble B-group vitamin particularly thiamine (B1), biotin (B7), and cobalamin (B12) are vital for the growth and survival of microalgae. Research has shown that vitamin B12 deficiency can negatively affect microalgal development and limit pigment production (Helliwell et al., 2011, p.2921-2933).

Croft et al. (2005) reported that approximately 50% of freshwater microalgal species are dependent on B12, indicating the vitamin's critical role in supporting growth (Croft et al., 2005, p.90-93). In addition, deficiencies in biotin and thiamine have been reported to cause functional disruptions in carbon metabolism and cellular respiration mechanisms (Droop, 2007, p.107-113). Therefore, supplementing microalgal culture media with essential vitamins is important not only for enhancing biomass production but also for the efficient synthesis of valuable metabolites such as astaxanthin, lipids, and pigments. On the other hand, vitamin E, a fat-soluble antioxidant, protects cell membranes against oxidative stress by preventing lipid peroxidation. In both microalgae and plant cells, it plays a critical role in stabilizing chloroplast membranes, thereby contributing to the sustainability of the photosynthetic system. Beyond its antioxidant role within and between cells, vitamin E is also actively involved in cell regeneration and the formation of new cells. Studies involving the supplementation of culture media with vitamin E have shown significant improvements in the survival rates of aquatic organisms (Halver, 2002, p.61-141)

This study aims to comprehensively evaluate the effects of vitamin E, known for its antioxidant properties, on the growth performance, protein, lipid, astaxanthin, and chlorophyll a and b contents of the valuable microalgal species *Haematococcus pluvialis* under different concentrations. Given that *H. pluvialis* is among the most promising organisms for astaxanthin production, understanding its interaction with bioactive compounds such as vitamin E is highly important for culture optimization. The findings of this study are expected to contribute to the development of sustainable and efficient production strategies aimed at increasing natural astaxanthin yield. By promoting biosynthesis in microalgal cultures, natural compounds such as vitamin E may support the high-yield production of astaxanthin and other valuable metabolites, thereby enabling the advancement of sustainable biotechnological applications. Accordingly, this study aims to identify the optimal concentrations of vitamin E that enhance microalgal growth and metabolite production, ultimately supporting the efficient production of astaxanthin and other high-value biotechnological products

2. Materials and Methods

2.1. Microalgal Culture Conditions and Preparation of Culture Media Containing Different Vitamin E Concentrations

The microalgae specie *Haematococcus pluvialis* was obtained from the stock cultures of the Algal Biotechnology Laboratory at Firat University. The cultures were incubated in BG11 medium at 23 ± 1 °C under a 16:8 h light/dark photoperiod with an illumination intensity of 3000 lux in an incubator (Nüve ES 120/252). Experimental cultures were prepared in 250 mL volumes by inoculating the BG11 medium with stock cultures at a 1:1 (v/v) ratio. The BG11 medium composition per 1000 mL included: 4.0 g K_2HPO_4 , 7.5 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 3.6 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0.10 g Na_2EDTA , 2.00 g Na_2CO_3 , 2.86 g H_3BO_3 , 1.81 g $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0.22 g $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.39 g $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0.08 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0.05 g $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, and 75.0 g NaNO_3 . Different concentrations of vitamin E (1 mL/L, 2 mL/L, 5 mL/L, and 10 mL/L) were prepared using distilled water, and 1 mL of each vitamin E solution was added to the culture media. All media were autoclaved at 121 °C for 1.5 hours.

2.2 Analyses for growth, protein, lipid, astaxanthin and chlorophlly, caretenoids

For optical density measurements of *Haematococcus pluvialis*, cultures were homogenized and 2 mL samples were transferred into quartz cuvettes using a micropipette. Measurements were performed at 680 nm using a UV/VIS spectrophotometer (ISOLAB UV/VIS) for 10 days in triplicates.

In the protein analysis, 100 μL of Deoxycholate Solution (DOC, Sigma-Aldrich) was added to 1 mL of sample and mixed thoroughly, followed by the addition of 100 μL Trichloroacetic Acid (TCA, Sigma-Aldrich). The samples were then centrifuged at 2000 rpm for 10 minutes. After discarding the supernatant, 1 mL of Lowry reagent was added to the pellet and incubated for 20 minutes. Then, 1 mL of Folin & Phenol reagent (Sigma-Aldrich Total Protein Kit) was added, and the mixture was

incubated for an additional 30 minutes. Absorbance was measured at 750 nm. Protein content was calculated using a protein standard curve based on absorbance values (Lowry et al., 1951 p.265-275)

For chlorophyll analysis, 2 mL of sample was centrifuged at 2000 rpm for 10 minutes, and the supernatant was discarded. Then, 2 mL of 99.9% methanol was added to the pellet, and the samples were incubated in an oven at 45 °C in the dark for 24 hours. After incubation, the samples were centrifuged again, and absorbance of the supernatant was measured at 665 nm and 652 nm. Carotenoid content was determined by measuring absorbance at 470 nm (Lichtenthaler, 1987, p.350-380) Pigment contents were calculated using the following formulas:

$$\text{Chlorophyll a (mg L}^{-1}\text{)} = 16.72 \times A_{665.2} - 9.16 \times A_{652.4}$$

$$\text{Chlorophyll b (mg L}^{-1}\text{)} = 34.09 \times A_{652.4} - 15.28 \times A_{665}$$

$$\text{Carotenoids (mg L}^{-1}\text{)} = (1000 \times A_{470} - 1.63 \times \text{Chl-a} - 104.9 \times \text{Chl-b}) / 221$$

In lipid analysis, 5 mL of sample was mixed with methanol–chloroform (1:2, v/v), followed by the addition of 2 mL of 0.4% CaCl₂ solution. The mixture was filtered through Schleicher & Schuell filter paper (125 mm), then incubated in an oven at 105 °C for 2 hours and left in the dark for 24 hours. The next day, the methanol-water upper phase was removed using a separating funnel. The remaining phase was incubated in a hot water bath at 80 °C, followed by heating at 90 °C in an oven for 1 hour to evaporate all chloroform (Blight & Dyer, 1959, p.911-917). After cooling, the tubes were weighed with a precision balance, and the lipid content was calculated using the formula below:

$$\text{Lipid content (\%)} = \frac{(\text{Weight of flask + lipids}) - \text{Weight of flask}}{(\text{Weight of flask + lipids}) - \text{Weight of flask}} \times 100 / \text{Sample weight (g)}$$

For astaxanthin analysis, 5 mL of sample was centrifuged at 2000 rpm for 10 minutes. The pellet was mixed with 5 mL of 5% KOH in 30% methanol (v/v) and incubated at 65 °C for 15 minutes. After centrifugation, the supernatant was discarded, and 5 mL of DMSO was added to the pellet. Samples were then sonicated using a 3.0 kHz ultrasonic homogenizer (Bandelin HD2070) for 10 minutes. This process was repeated until visible

coloration of the samples was achieved (Boussiba&Vonshak, 1991 p.1077-1082). Astaxanthin concentration was then measured at 490 nm and calculated using the following formula; $c \text{ (mg/L)} = 4.5 \times A_{490} \times V_a / V_b$ (Davies, 1976 p.38-166).

2.3. Statistical analysis

All analyses were performed in triplicate. Data are presented as mean $\pm$ SD. The correlation heatmap shows the relationships between variables in the dataset. Each cell in this heatmap represents the correlation coefficient between two variables; the black and white colors represent the strength and direction of this correlation. In a correlation heatmap, the correlation coefficient ranges from -1 to 1.

A value of 1 indicates a perfect positive correlation, meaning that as one variable increases, the other variable also increases. A value of 0 indicates no relationship between the variables, meaning there is no correlation. A value of -1 indicates a perfect negative correlation, meaning that as one variable increases, the other decreases. All correlation heatmaps were created using Matplotlib.

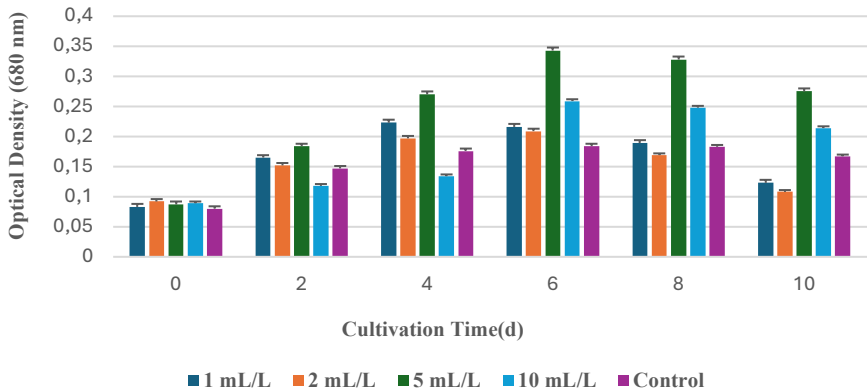
3. Result and Discussion

3.1. Effects of Different Vitamin E Concentrations on the Growth of *Haematococcus pluvialis*

In this study, changes in the growth of the microalga *Haematococcus pluvialis* were investigated over a 10-day period in culture media supplemented with four different concentrations of vitamin E (1 mL/L, 2 mL/L, 5 mL/L, and 10 mL/L). It was observed that vitamin E applications induced distinct effects on *H. pluvialis* depending on the concentration used. Notably, the application of 5 mL/L vitamin E resulted in the highest optical density (OD 680 nm) values, reaching 0.343 on day 6 and 0.328 on day 8, thereby emerging as the most effective concentration in promoting cell growth. This indicates that the 5 mL/L concentration lies within a stimulatory range for microalgal development. When compared to the control group (BG11 medium without vitamin supplementation), the 1

mL/L and 2 mL/L vitamin E concentrations exhibited similar trends in OD increases, suggesting that these lower concentrations did not significantly differ from the untreated group in terms of promoting growth. On the other hand, while the 10 mL/L concentration initially exhibited lower OD values, an increase was noted on days 6 and 8 (0.259 and 0.248, respectively). However, this increase was less pronounced compared to the 5 mL/L group. These findings suggest that high concentrations of vitamin E may exert inhibitory effects on cell growth (**Fig. 1**).

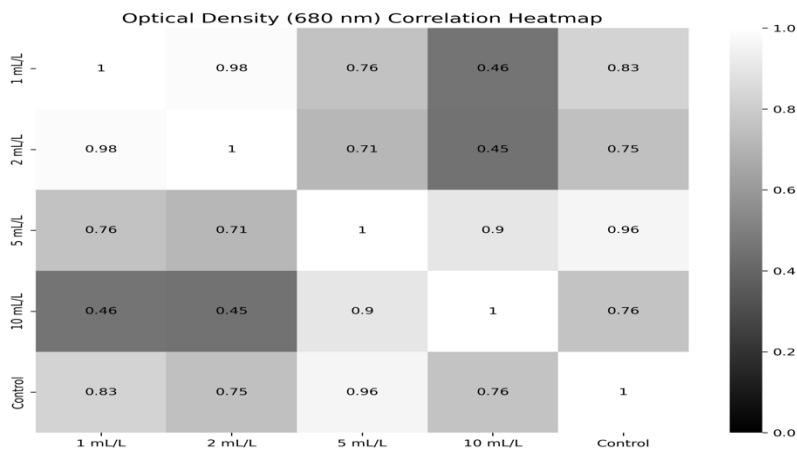
Figure 1. Changes in the optical density (OD 680 nm) of Haematococcus pluvialis cultures over 10 days under different vitamin E concentrations (1, 2, 5, and 10 mL/L).



In a study conducted by Carlucci and Silbernagel (1969), marine algae species *Cyclotella nana*, *Monochrysis lutheri*, and *Amphidinium carterae* were cultured under limited concentrations of vitamins (vitamin B₁₂, thiamine, and biotin). The results showed that both cell numbers and biomass increased depending on the vitamin concentrations (Carlucci&Silbernagel, 1969). In another study, the effects of various vitamins on the growth characteristics of the microalga *Haematococcus pluvialis* were investigated. Experiments with different concentrations of

thiamine (B₁), biotin (B₇), and vitamin B₁₂ revealed that the use of thiamine alone was more effective compared to the vitamin mixture Göksan et al.,2011, p.377-383). In a separate study on the microalga *Chlorella vulgaris*, the effects of different concentrations of thiamine (B₁), riboflavin (B₂), pyridoxine (B₆), and ascorbic acid (C) were examined. The results demonstrated that all vitamin supplements enhanced biomass production, pigment content, and total protein and carbohydrate levels of the species. Notably, the highest growth rates were observed with thiamine at a concentration of 0.08 µg/L (Hamouda et al., 2022). Similarly, in the present study, vitamin E was also found to have a positive effect on the development of the microalga *Haematococcus pluvialis*, consistent with previous research on vitamin supplementation.

Figure 2. The Correlation Heatmap for Optical Density in *Haematococcus pluvialis* Species



In the OD measurements, cultures prepared with a 5 mL concentration exhibited greater variability in the assessed parameters compared to other concentrations.

Notably, the low correlation coefficients observed between the 2 mL/L and 10 mL/L (0.45), as well as between the 1 mL/L and 10 mL/L (0.46)

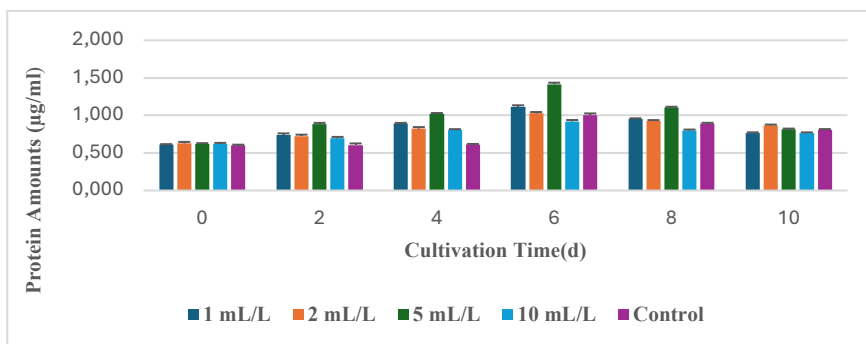
treatments, indicate that cell density responded in a more irregular and dose-dependent manner to the supplementation of vitamin E (**Fig.2**).

3.2. Effect of Different Vitamin E Concentrations on Protein Content in *Haematococcus pluvialis*

In this study, the effects of different Vitamin E concentrations on the protein content of *Haematococcus pluvialis* were evaluated through measurements taken on days 0, 2, 4, 6, 8, and 10. The results indicated that Vitamin E supplementation had a significant impact on cellular protein synthesis. On the day of inoculation, protein levels across all groups were similar, with values ranging from 0.600 to 0.627 $\mu\text{g/mL}$. Over time, protein levels increased at varying rates depending on the concentration. Notably, the 5 mL/L Vitamin E concentration stood out as the most effective in promoting protein synthesis. On day 6, the species inoculated with 5 mL/L Vitamin E reached a protein concentration of 1.415 $\mu\text{g/mL}$, which was the highest recorded across all experimental groups and time points. High protein values of 1.022 $\mu\text{g/mL}$ on day 4 and 1.105 $\mu\text{g/mL}$ on day 8 in the same treatment group further supported the idea that this dose most effectively supports cellular protein metabolism. Additionally, it was observed that high-dose applications had a negative impact on protein synthesis. In particular, with the 10 mL/L Vitamin E concentration, the protein content measured on day 6 was only 0.918 $\mu\text{g/mL}$, the lowest value observed among all concentrations on that day (**Fig. 3**).

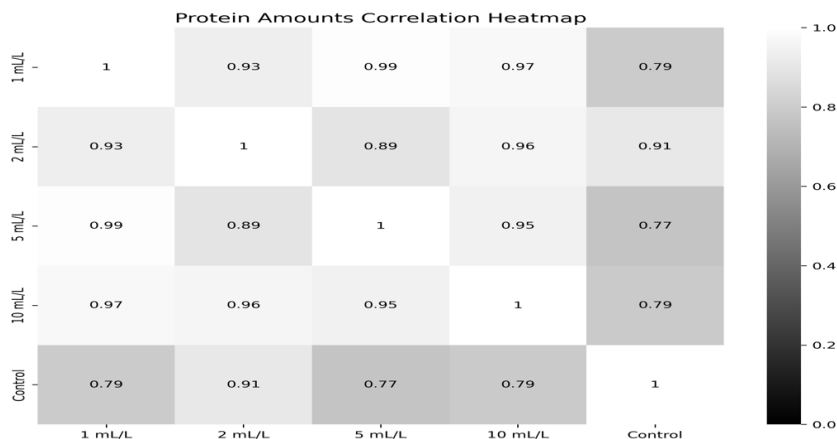
In conclusion, Vitamin E supplementation resulted in significant changes in the protein content of *H. pluvialis*. The 5 mL/L concentration provided optimum biological activity, supporting the highest protein production, while both insufficient and excessive dosages limited protein synthesis. A study on *Chlorella vulgaris* also investigated the effects of adding various concentrations of vitamins such as thiamine (B_1), riboflavin (B_2), pyridoxine (B_6), and ascorbic acid (C). The results showed that all vitamin supplements increased biomass production, pigment content, and the total protein and carbohydrate levels of the algae (Hamouda et al., 2022).

Figure 3. Impact of Various Vitamin E Concentrations on Protein Content in Haematococcus pluvialis Cultures



The strong correlations observed between the 1 mL/L and 5 mL/L concentrations (0.99), as well as between the 2 mL/L and 10 mL/L concentrations (0.96), suggest a dose-dependent and consistent regulation of protein synthesis in response to increasing vitamin E levels. In contrast, the relatively lower correlations between the control group and the 5 mL/L (0.77) and 1 mL/L (0.79) treatments indicate that the absence of vitamin E in the culture medium may lead to a distinct metabolic dynamic affecting protein production (**Fig. 4**).

Figure.4 Correlation Heatmap of Protein Content in Haematococcus pluvialis Under Different Vitamin E Concentrations

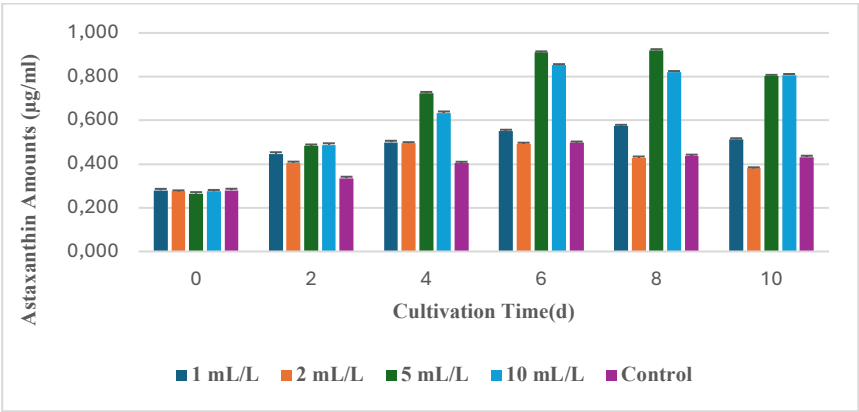


3.3 Effects of Different Vitamin E Concentrations on Astaxanthin Content in *Haematococcus pluvialis*

The effects of different vitamin E (α -tocopherol) concentrations on the astaxanthin content of *Haematococcus pluvialis* were evaluated, and it was observed that, in all vitamin E-treated groups, the astaxanthin levels generally increased over time. However, this increase varied depending on the applied concentration. The most notable increase in astaxanthin accumulation was recorded in the culture with a 5 mL/L vitamin E concentration. In this group, a rapid increase was observed from day 4, reaching a maximum level on day 8 (0.921 $\mu\text{g/ml}$). Although a slight decrease was observed on day 10 (0.803 $\mu\text{g/ml}$), the astaxanthin level remained high. These findings suggest that the 5 mL/L concentration is the most effective level for inducing astaxanthin production. A similar trend of increase was observed at the 10 mL/L concentration, with the astaxanthin amount peaking on day 8 (0.821 $\mu\text{g/ml}$). However, this value was lower compared to the 5 mL/L application, indicating that while higher vitamin E concentrations support astaxanthin accumulation, excessive levels may not provide the optimal conditions for production. In the 1 mL/L application, an increase in astaxanthin was recorded up to day 6 (0.552 $\mu\text{g/ml}$), reaching a maximum value on day 8 (0.575 $\mu\text{g/ml}$), followed by a decrease on day 10 (0.513 $\mu\text{g/ml}$). This suggests that lower concentrations

have a limited effect. In the 2 mL/L group, generally lower astaxanthin levels were observed, indicating that the inducible effect of this concentration is weak. Although astaxanthin accumulation was also observed in the control group, it lagged behind the treated groups, especially from day 6 onward. In conclusion, the 5 mL/L vitamin E concentration was determined to be the most effective for maximizing astaxanthin production in *H. pluvialis*. This finding suggests that astaxanthin biosynthesis can be optimized with appropriate antioxidant supplementation (**Fig. 5**).

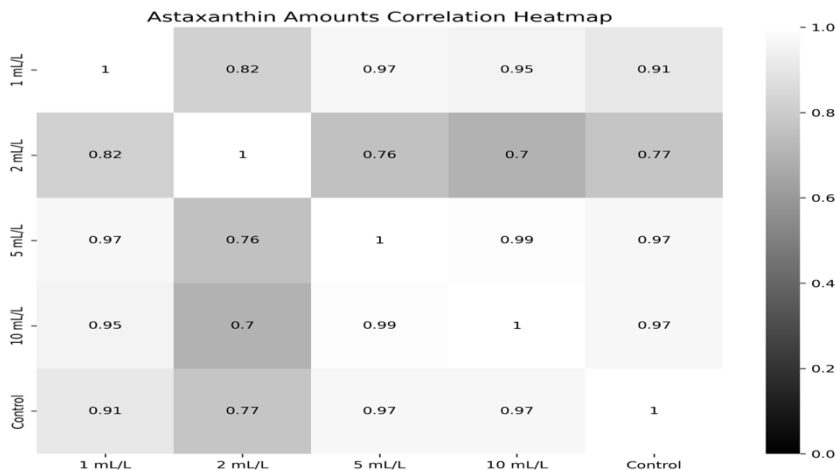
Figure 5. Effect of different α-tocopherol concentrations applied over ten days on astaxanthin content in Haematococcus pluvialis.



The high correlation observed between the 1 mL/L and 5 mL/L concentrations (0.97) indicates that these two doses elicit similar biochemical responses in astaxanthin production. In contrast, the noticeably lower correlation between the 2 mL/L and 10 mL/L concentrations (0.70) suggests that these conditions may trigger different metabolic pathways in astaxanthin biosynthesis.

Overall, the high correlation of the control group with most treatments reveals that the addition of vitamin E provides a consistent effect on pigment production (**Fig. 6**).

Figure 6. Correlation of Astaxanthin Production Between Different Vitamin E Concentrations



3.4. Effects of Different Vitamin E (α -Tocopherol) Concentrations on the Lipid Content of *Haematococcus pluvialis*

In this study, the effects of vitamin E concentration on lipid production in *Haematococcus pluvialis* were investigated, and the impact of the maximum concentration on lipid content was determined. According to the data, the highest lipid production was achieved with a vitamin E concentration of 5 mL/L. In cultures supplemented with 5 mL/L of vitamin E, lipid content increased from 20.58% to 44.84%, whereas at a concentration of 10 mL/L, lipid levels ranged between 20.64% and 43.8%. These results indicate that the 5 mL/L concentration of vitamin E led to the highest lipid accumulation. In contrast, lower concentrations of vitamin E (1 mL/L and 2 mL/L) resulted in comparatively smaller increases in lipid production.

These findings demonstrate a marked increase in lipid accumulation with increasing vitamin E concentrations and suggest that maximum lipid production can be achieved at higher concentrations. In conclusion, vitamin E concentration has a direct effect on lipid production, with the highest yield obtained at 5 mL/L (**Fig.7**).

Figure 7. Changes in the lipid content of Haematococcus pluvialis cultures over a 10-day period under different α -tocopherol (vitamin E) concentrations (1, 2, 5, and 10 mL/L).

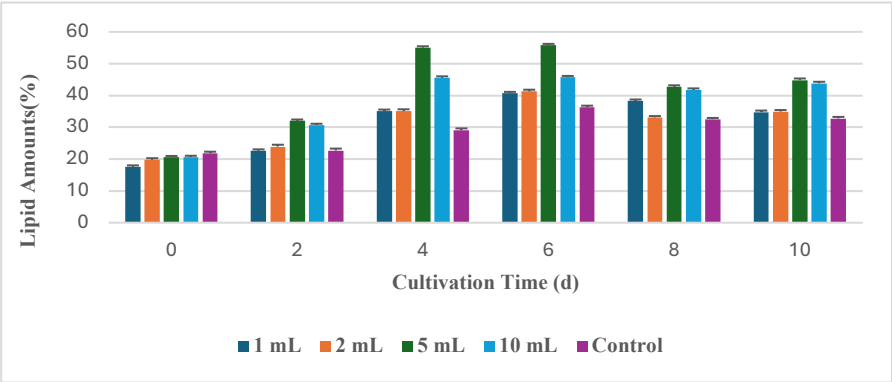
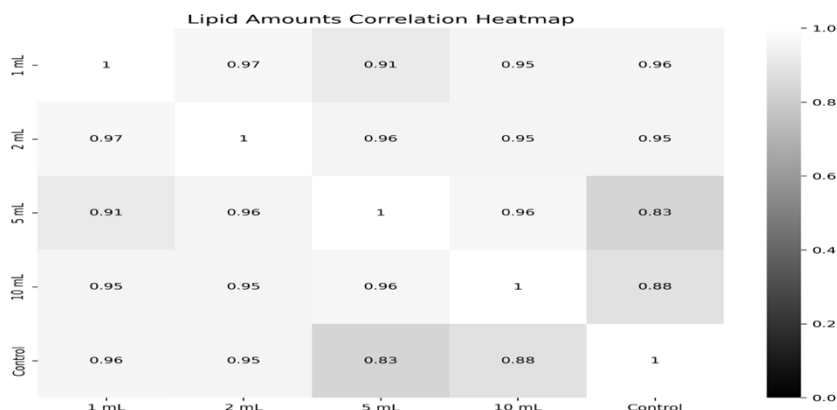


Figure 8. Correlation heatmap graph of different vitamin E concentrations in Haematococcus pluvialis.



The correlations between the concentrations of 1 mL/L and 2 mL/L (0.97), as well as 2 mL/L and 5 mL/L (0.96), are notably high. In contrast, the correlation between the control group and 5 mL/L is relatively lower (0.83). Overall, the trend indicates that lipid production is sensitive to the presence of vitamin E, and this supplementation affects production in a predictable manner (Fig. 8.)

3.5. Effects of Different Vitamin E Concentrations on the Carotenoid Content of *Haematococcus pluvialis*

In this study, the effects of different vitamin E concentrations on the carotenoid content of *Haematococcus pluvialis* microalga were evaluated. Vitamin E has been shown to support the biosynthesis of secondary metabolites such as carotenoids by reducing intracellular oxidative stress (Cordero et al., 2010 p.420-440). In this context, vitamin E concentrations of 1 mL/L, 2 mL/L, 5 mL/L, and 10 mL/L were applied, and the control group was compared to assess carotenoid accumulation over a 10-day period. The data revealed that a concentration of 5 mL/L of vitamin E most effectively promoted carotenoid production. In this group, the maximum carotenoid amount was reached on day 6 with 2.781 µg/mL, followed by 2.539 µg/mL on day 8 and 2.228 µg/mL on day 10. These results indicate

that the 5 mL/L vitamin E concentration was the most effective for carotenoid biosynthesis. In the 1 mL/L and 2 mL/L groups, carotenoid accumulation was higher compared to the control group, but did not reach the levels observed at 5 mL/L. In the 10 mL/L vitamin E treatment, carotenoid levels remained similar to those of the control group, suggesting that high doses of vitamin E may reduce carotenoid production. In conclusion, vitamin E treatment influences carotenoid synthesis in *H. pluvialis* microalga in a dose-dependent manner; particularly, the 5 mL/L concentration emerged as the most effective application, leading to the maximum carotenoid accumulation. This finding suggests that natural antioxidants can be considered as a strategic tool in biotechnological applications aimed at enhancing carotenoid production (Fig. 9).

Figure 9. Effect of Different α -Tocopherol Concentrations on Carotenoid Content in *Haematococcus pluvialis* Over a Ten-Day Period

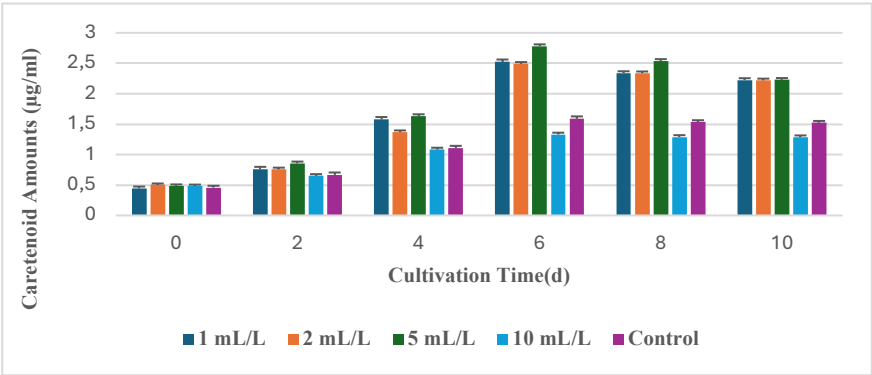
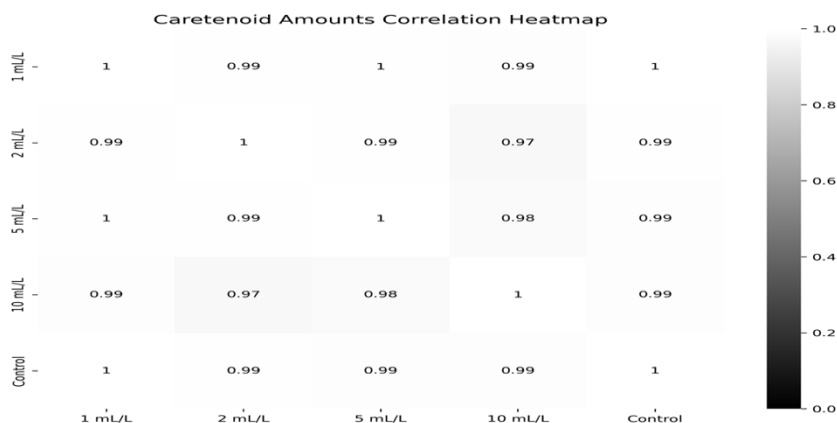


Figure.10 Correlation Heatmap of Carotenoid Production in *Haematococcus pluvialis* Under Different Vitamin E Concentrations



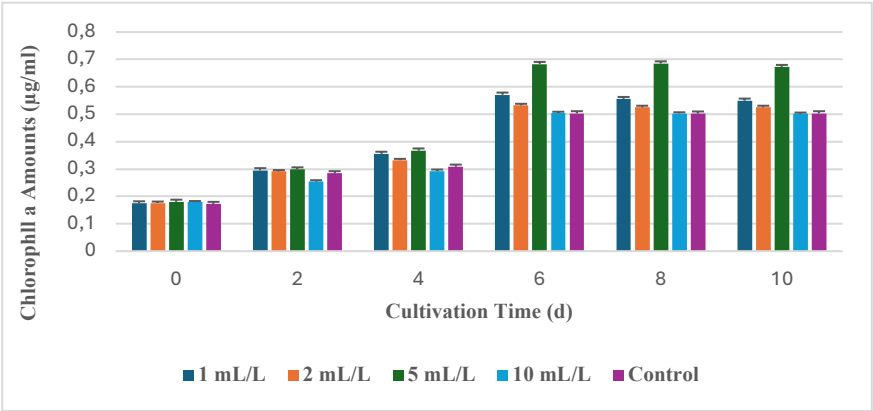
Very high correlations (≥ 0.97) were observed among all doses and the control group. In particular, the perfect correlation between 1 mL/L and 5 mL/L (1.00) indicates that these concentrations trigger the same biochemical response in carotenoid production. This suggests that carotenoid biosynthesis exhibits a highly stable and predictable response to vitamin E supplementation (**Fig.10**).

3.6 Effect of Different Vitamin E Concentrations on Chlorophyll a and b Amounts in *Haematococcus pluvialis*

In this study, the effects of different vitamin E concentrations on chlorophyll a levels in *Haematococcus pluvialis* were evaluated. According to the obtained data, the highest chlorophyll a content was reached at a vitamin E concentration of 5 mL/L. Particularly on the 6th, 8th, and 10th days, chlorophyll a levels reached 0.683, 0.685, and 0.672 $\mu\text{g/ml}$, respectively, showing significant differences compared to other groups. These findings indicate that the 5 mL/L vitamin E concentration maximally stimulates chlorophyll a synthesis. Lower concentrations of 1 mL/L and 2 mL/L slightly increased chlorophyll a content compared to the control group, but did not achieve the increase observed at 5 mL/L. The 10 mL/L concentration produced results similar to the control group,

suggesting that higher doses might have an inhibitory rather than a stimulatory effect. In conclusion, vitamin E application was found to affect chlorophyll a production in *Haematococcus pluvialis*, with the 5 mL/L concentration being the most effective in maximizing this effect (Fig.11).

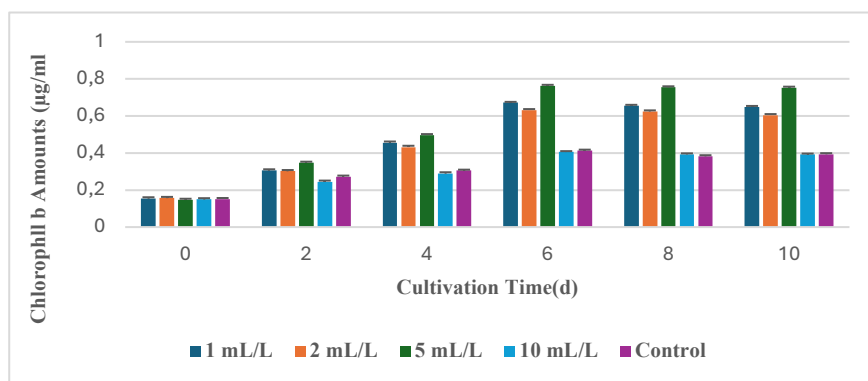
Figure 11. Changes in the chlorophyll a content of *Haematococcus pluvialis* cultures over a 10-day period under different α -tocopherol (vitamin E) concentrations (1, 2, 5, and 10 mL/L).



The effects of different vitamin E concentrations on chlorophyll b accumulation in *Haematococcus pluvialis* were evaluated. Cultures with 1, 2, 5, and 10 mL/L vitamin E concentrations were compared to the control group, and chlorophyll b levels were assessed over a 10-day period. According to the obtained findings, the 5 mL/L vitamin E concentration was determined to be the most effective in increasing chlorophyll b accumulation. Particularly on the 6th day, 0.763 µg/ml, on the 8th day, 0.754 µg/ml, and on the 10th day, 0.752 µg/ml, the highest chlorophyll b levels were observed in this group (Figure 7.). Significant increases were also observed in the 1 mL/L and 2 mL/L concentrations compared to the control group; however, these increases were more limited compared to the effect of the 5 mL/L concentration. In contrast, the 10 mL/L vitamin E application resulted in chlorophyll b levels similar to the control group, and in some time points, even lower. This suggests that high doses of vitamin

E may suppress chlorophyll b biosynthesis. In conclusion, vitamin E application increases chlorophyll b content in *H. pluvialis*, with the 5 mL/L concentration being the most effective. This finding indicates that appropriate antioxidant dosing may be a crucial strategy for enhancing photosynthetic pigment synthesis and boosting microalgal biomass (**Fig. 12**).

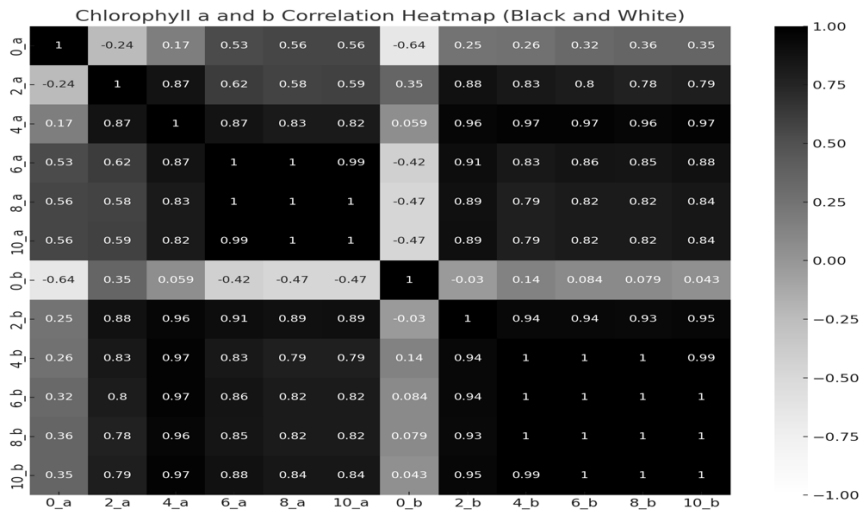
Figure 12. Effect of Different α -Tocopherol Applications on Chlorophyll b Content in *Haematococcus pluvialis*



In a study where different amounts of vitamin E (1 mL, 2 mL, 3 mL) were added to the culture medium with *Spirulina platensis*, it was found that vitamin E caused an increase in chlorophyll levels compared to the control group (Alim, 2019).

Chlorophyll a and b values measured on days 0, 2, 4, 6, 8, and 10 generally showed strong positive correlations. Especially on days 6, 8, and 10, very high correlations were observed between both chlorophyll types, indicating that their levels changed in a highly synchronized manner during the later stages. In the early days (0, 2 and 4.), correlations were moderate, but they increased over time (**Fig.13**).

Figure 13. Correlation Heatmap of Chlorophyll a and Chlorophyll b Amounts in *Haematococcus pluvialis* Under Different Vitamin E Concentrations



4.Conclusion

In this study, the effects of different vitamin E concentrations on pigment accumulation in *Haematococcus pluvialis* cultures were investigated. The findings revealed that vitamin E application caused significant increases in biochemical parameters such as chlorophyll b, total carotenoid, and lipid accumulation. The most notable results were obtained at a 5 mL/L vitamin E concentration, where both pigment levels and lipid accumulation reached their maximum values. This suggests that the antioxidant properties of vitamin E contribute to reducing oxidative stress in the cells, thereby supporting the synthesis of photosynthetic pigments and energy-storing molecules. In high-dose (10 mL/L) applications, a trend of decreased pigment accumulation was observed, indicating that vitamin E may exhibit toxic effects above a certain threshold.

Therefore, it was concluded that the amount of vitamin E applied to the culture medium should be carefully optimized. Moving forward, this study demonstrates that natural antioxidants such as vitamin E can serve as a potential biotechnological tool to increase microalgal biomass and metabolite production. Vitamin E-supported cultures are thought to enhance the efficiency of producing commercially valuable metabolites like astaxanthin. These findings have the potential to contribute to the development of microalgae-based production processes, particularly in the pharmaceutical, cosmetic, and nutraceutical sectors. Furthermore, future studies exploring the effects of different antioxidant types and their combinations will provide opportunities to make microalgae biotechnology more sustainable and economically efficient.

5. References

- Alim, Ö. (2019). *LED ışık kaynaklarıyla aydınlatılan Spirulina platensis (Gomont) türünün gelişimi üzerine selenyum (Se) ve E vitamininin etkileri* (Yüksek lisans tezi, Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Ambati, R. R., Moi, P. S., Ravi, S., & Aswathanarayana, R. G. (2014). Astaxanthin: Sources, extraction, stability, biological activities and its commercial applications. A review. *Marine Drugs*, 12(1), 128–152. <https://doi.org/10.3390/md12010128>
- Becker, E. W. (2007). Microalgae as a source of protein. *Biotechnology Advances*, 25(2), 207–210.
- Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37(8), 911–917.
- Boussiba, S., & Vonshak, A. (1991). Astaxanthin accumulation in the green alga *Haematococcus pluvialis*. *Plant Cell Physiology*, 32, 1077–1082.

Borowiak, D., Lenartowicz, P., Grzebyk, M., Wiśniewski, M., Lipok, J., Kafarski, P., Novel, automated, semi-industrial modular photobioreactor system for cultivation of demanding microalgae that produce fine chemicals The next story of *H. phuvialis* and astaxanthin. *Algal Res.* 53, 102151, 2021.

Carlucci, A. F., & Silbernagel, S. B. (1969). Effect of vitamin concentrations on growth and development of vitamin-requiring algae.

Cordero, Z., Drogan, D., Weikert, C., & Boeing, H. (2010). Vitamin E and risk of cardiovascular diseases: A review of epidemiologic and clinical trial studies. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50, 420–440.

Croft, M. T., Lawrence, A. D., Raux-Deery, E., Warren, M. J., & Smith, A. G., Algae acquire vitamin B12 through a symbiotic relationship with bacteria. *Nature*, 438(7064), 90–93., 2005.

Croft, M. T., Warren, M. J., & Smith, A. G. (2006). Algae need their vitamins. *Eukaryotic Cell*, 5(8), 1175–1183.

Davies, B. H. (1976). Carotenoids. In T. W. Goodwin (Ed.), *Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments* (Vol. 2, pp. 38–166). Academic Press.

Droop, M. R. (2007). Vitamins, phytoplankton and bacteria: symbiosis or scavenging? *Journal of Plankton Research*, 29(2), 107–113.

Göksan, T., Ak, İ., & Kılıç, C. (2011). Growth characteristics of the alga *Haematococcus phuvialis* Flotow as affected by nitrogen source, vitamin, light and aeration. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 11(3), 377–383. https://doi.org/10.4194/1303-2712-v11_3_06

Halver, J. E. (2002). The vitamins. In J. E. Halver & R. W. Hardy (Eds.), *Fish Nutrition* (3rd ed., pp. 61–141). Academic Press.

Helliwell, K. E., Wheeler, G. L., Leptos, K. C., Goldstein, R. E., & Smith, A. G., Insights into the evolution of vitamin B12 auxotrophy from sequenced algal genomes. *Molecular Biology and Evolution*, 28(10), 2921–2933, 2011.

Hamouda, R. A., Abd El Latif, A., Elkaw, E. M., Alotaibi, A. S., Alenzi, A. M., & Hamza, H. A. (2022). Assessment of antioxidant and anticancer activities of microgreen alga *Chlorella vulgaris* and its blend with different vitamins. *Molecules*, 27(5), 1602. <https://doi.org/10.3390/molecules27051602>

Kim, J. H., Affan, A., Jang, J., Kang, M. H., Ko, A. R., Jeon, S. M., Oh, C., Heo, S. J., Lee, Y. H., & Ju, S. J. (2015). Morphological, molecular, and biochemical characterization of astaxanthin-producing green microalga *Haematococcus* sp. KORDI03 (Haematococcaceae, Chlorophyta) isolated from Korea. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25, 238–246. <https://doi.org/10.4014/jmb.1410.10032>

Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic membranes. *Methods in Enzymology*, 148, 350–382.

Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193, 265–275. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)52451-6)

Mota, G. C. P., Moraes, L. B. S., Oliveira, C. Y. B., Oliveira, D. W. S., Abreu, J. L., Dantas, D. M. M., & Gálvez, A. O. (2022). Astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*: Processes, applications, and market. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, 52(5), 598–609. <https://doi.org/10.1080/10826068.2021.1966802>

Palozza, P., & Krinsky, N. I. (1992). Astaxanthin and canthaxanthin are potent antioxidants in a membrane model. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 297(2), 291–295.

Valduga, E., Tatsch, P. O., Tiggemann, L., Treichel, H., Toniazzi, G., Zeni, J., Di Luccio, M., & Fúrigo Júnior, A. (2009). Carotenoids production: Microorganisms as source of natural dyes. *Química Nova*, 32(9), 2429–2436. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000900036>

BÖLÜM 11

IMPACT OF KINETIN AND ABSCISIC ACID PHYTOHORMONES ON GROWTH AND BIOCHEMICAL COMPOSITION OF *SCENEDESMUS ACUTUS* SPECIES

GÖKÇE KENDİRLİOĞLU ŞİMŞEK¹

1. Introduction

Microalgae are among the oldest photosynthetic organisms on Earth and are classified into microalgae and macroalgae based on cell size. Found in both freshwater and marine environments, microalgae are primary producers in aquatic ecosystems. Unlike traditional crops, they do not require arable land or freshwater for cultivation and can be harvested year-round, making them highly attractive for commercial applications. Microalgae are considered promising biological resources for the production of high-value compounds such as pigments, proteins, lipids, and antioxidants, with potential applications in food, feed, pharmaceutical, and cosmetic industries (Borowitzka, 2013).

¹ Dr., Firat University, Plant Tissue Culture Laboratory/ Elazig/ Turkey, Orcid:
0000-0001-8896-2893

Scenedesmus acutus has emerged as a promising green microalga for the production of high-value biomolecules such as carotenoids, lipids, and proteins, owing to its high adaptability and biochemical plasticity (Khalili et al., 2019, p.3577-3587). Recent studies have demonstrated that, under environmental stress or upon the application of phytohormones and oxylipin-type elicitors, this species can accumulate significant amounts of astaxanthin, in a manner comparable to *Haematococcus pluvialis* (Khalili et al., 2019, p.3577-3587; Coban et al., 2021, p.21-28). Modulating nutrient availability and environmental parameters such as light intensity, salinity, and carbon sources has been shown to significantly improve both biomass yield and the metabolic profile of *S. acutus* (Shamala et al., 1982, p.45-52; Coban et al., 2021, p.21-28). In this context, phytohormonal treatments and stress induction strategies have gained attention as effective biotechnological tools to stimulate pigment and lipid biosynthesis in *Scenedesmus* species (Singh et al., 2020). Due to its robust growth performance, tolerance to various cultivation systems, and potential to produce bioactive compounds, *S. acutus* continues to attract considerable interest in the field of microalgal biotechnology (Khalili et al., 2019).

Phytohormones play a crucial role in regulating various physiological and biochemical processes, particularly those associated with plant growth and development. Given that microalgae and higher plants share similar metabolic pathways, phytohormones can act as chemical signals that stimulate growth and metabolite accumulation in microalgae (Hunt et al., 2010, p.2400-2414; Lu and Xu, 2015, p.273-282). Research has demonstrated that phytohormones exert stimulatory effects on growth and metabolite production, including increased synthesis of carotenoids, lipids, carbohydrates, and proteins (Czerpak and Bajguz, 1997, p.279-286; Bajguz and Piotrowska-Niczyporuk, 2013, p.290-297). Additionally, morphological changes in microalgal cells under the influence of phytohormones have also been reported (Park et al., 2013, p.706-718). Typically effective at low concentrations, these compounds are recognized as chemical messengers that regulate microalgal growth and development (Tate et al., 2012, p.417-428). Therefore, the application of chemical inducers to enhance astaxanthin accumulation in microalgae is considered a practical and economical approach (Yu et al., 2015; Cui et al., 2020).

Exogenous application of certain phytohormones and their analogs such as gibberellins (GA3), methyl jasmonate (MJ), salicylic acid (SA), and 2,4-epibrassinolide (EBR) has been found to significantly improve astaxanthin yield in *Haematococcus pluvialis* (Lu et al., 2010, p.6468-6474; Gao et al., 2012, p.225-230; Gao et al., 2013, p.201-206). Under environmental stress conditions, the addition of phytohormones, amino acids, antioxidants, organic carbon sources, and metal ions has been reported to increase astaxanthin content by over 50% (Ren et al., 2021; Zhu et al., 2022, p.1-17). Auxin analogs such as naphthalene acetic acid (NAA), indomethacin, and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) offer similar physiological effects as natural auxins while being more economically viable alternatives (Finet and Jaillais, 2012, p.19-31). These compounds have the potential to enhance microalgal growth and lipid accumulation and can also facilitate nutrient removal from wastewater (Tate et al., 2013). Hunt et al. (2010) reported that some phytohormones and their synthetic analogs promote microalgal growth by extending the logarithmic phase and activating antioxidant enzymes such as superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and ascorbate peroxidase (APX), which play a critical role in scavenging reactive oxygen species (Bajguz, 2010, p.175-179; Piotrowska et al., 2012, p.52-65). Increased cell density has been associated with elevated antioxidant enzyme activity, which is believed to positively influence microalgal proliferation. In a study, it was reported that plant hormones such as jasmonic acid promote microalgal growth at low concentrations, but may exhibit inhibitory effects at higher concentrations (Jusoh et al., 2015, pp. 14–20). The accumulation of primary biochemical compounds lipids, carbohydrates, and proteins plays a key role in determining the nutritional value of microalgal biomass (Kumar et al., 2019, p.293-300).

In this study, the effects of different plant hormones specifically kinetin and abscisic acid (ABA) on the *Scenedesmus acutus* microalgal species were comprehensively investigated. Three different concentrations (0,25 mg/L, 0,50 mg/L and 1 mg/L) of each hormone were applied to evaluate their influence on growth, protein, lipid, astaxanthin, and chlorophyll (a and b) contents.

The main objective of this research was to elucidate the regulatory roles of these hormones on the accumulation of biochemical constituents and growth performance of the microalgae, thereby generating data to support the optimization of astaxanthin production. Through this approach, the study aims to contribute to the development of efficient and cost-effective strategies for enhancing valuable metabolite yields in microalgal biotechnology.

2. Materials and Methods

2.1 Microalgal Culture Media

The *Scenedesmus acutus* microalgal species used in this study was obtained from the Algal Biotechnology Laboratory at Firat University. The cultures were maintained at 23 °C under a 16:8 h light-dark photoperiod with a light intensity of 3000 lux. Jaworski's medium was used for the preparation of both stock cultures and experimental cultures. The medium was prepared using the following components: 4.0 g $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 2.48 g KH_2PO_4 , 10.0 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 3.18 g NaHCO_3 , 0.45 g FeNa-EDTA , 0.45 g Na_2EDTA , 0.496 g H_3BO_3 , 0.278 g $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0.20 g $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0.008 g cyanocobalamin, 0.008 g thiamine HCl, 0.008 g biotin, 16.0 g NaNO_3 , and 7.2 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$. From each stock solution, 1 mL was added and the volume was made up to 1000 mL with distilled water. The prepared medium was sterilized at 121 °C for 1.5 hours and inoculated with the stock cultures.

2.2 Preparation of *Scenedesmus acutus* Cultures and Hormone Concentrations

To prepare 500 mL of experimental cultures, inoculation was performed at a 1:1 (v/v) ratio using the stock culture. From NaOH-prepared hormone stock solutions, exogenous hormone additions were made to the culture media at concentrations of 0,25 mg/L, 0,50 mg/L, and 1 mg/L. In addition, control cultures with no hormone supplementation were included in the study.

2.3 Biochemical Analyses

For optical density measurements of *Haematococcus pluvialis*, cultures were homogenized and 2 mL samples were transferred into quartz cuvettes using a micropipette. Measurements were performed at 680 nm using a UV/VIS spectrophotometer (ISOLAB UV/VIS) for 10 days in triplicates.

In the protein analysis, 100 μL of Deoxycholate Solution (DOC, Sigma-Aldrich) was added to 1 mL of sample and mixed thoroughly, followed by the addition of 100 μL Trichloroacetic Acid (TCA, Sigma-Aldrich). The samples were then centrifuged at 2000 rpm for 10 minutes. After discarding the supernatant, 1 mL of Lowry reagent was added to the pellet and incubated for 20 minutes. Then, 1 mL of Folin & Phenol reagent (Sigma-Aldrich Total Protein Kit) was added, and the mixture was incubated for an additional 30 minutes. Absorbance was measured at 750 nm. Protein content was calculated using a protein standard curve based on absorbance values (Lowry et al., 1951 p.265-275)

For chlorophyll analysis, 2 mL of sample was centrifuged at 2000 rpm for 10 minutes, and the supernatant was discarded. Then, 2 mL of 99.9% methanol was added to the pellet, and the samples were incubated in an oven at 45 °C in the dark for 24 hours. After incubation, the samples were centrifuged again, and absorbance of the supernatant was measured at 665 nm and 652 nm. Carotenoid content was determined by measuring absorbance at 470 nm (Lichtenthaler, 1987, p.350-380) Pigment contents were calculated using the following formulas:

$$\text{Chlorophyll a (mg L}^{-1}\text{)} = 16.72 \times A_{665.2} - 9.16 \times A_{652.4}$$

$$\text{Chlorophyll b (mg L}^{-1}\text{)} = 34.09 \times A_{652.4} - 15.28 \times A_{665}$$

$$\text{Carotenoids (mg L}^{-1}\text{)} = (1000 \times A_{470} - 1.63 \times \text{Chl-a} - 104.9 \times \text{Chl-b}) / 221$$

In lipid analysis, 5 mL of sample was mixed with methanol–chloroform (1:2, v/v), followed by the addition of 2 mL of 0.4% CaCl_2 solution. The mixture was filtered through Schleicher & Schuell filter paper (125 mm), then incubated in an oven at 105 °C for 2 hours and left in the dark for 24 hours. The next day, the methanol-water upper phase was removed using a separating funnel.

The remaining phase was incubated in a hot water bath at 80 °C, followed by heating at 90 °C in an oven for 1 hour to evaporate all chloroform (Blight& Dyer, 1959, p.911-917). After cooling, the tubes were weighed with a precision balance, and the lipid content was calculated using the formula below:

$$\text{Lipid content (\%)} = \frac{(\text{Weight of flask + lipids}) - \text{Weight of flask}}{(\text{Weight of flask + lipids}) - \text{Weight of flask}} \times 100$$

Sample weight (g)

For astaxanthin analysis, 5 mL of sample was centrifuged at 2000 rpm for 10 minutes. The pellet was mixed with 5 mL of 5% KOH in 30% methanol (v/v) and incubated at 65 °C for 15 minutes. After centrifugation, the supernatant was discarded, and 5 mL of DMSO was added to the pellet. Samples were then sonicated using a 3.0 kHz ultrasonic homogenizer (Bandelin HD2070) for 10 minutes. This process was repeated until visible coloration of the samples was achieved (Boussiba& Vonshak, 1991 p.1077-1082). Astaxanthin concentration was then measured at 490 nm and calculated using the following formula; $c \text{ (mg/L)} = 4.5 \times A_{490} \times V_a / V_b$ (Davies, 1976 p.38-166).

2.4 Statistical analysis

All analyses were performed in triplicate. Data are presented as mean $\pm$ SD. The correlation heatmap shows the relationships between variables in the dataset. Each cell in this heatmap represents the correlation coefficient between two variables; the black and white colors represent the strength and direction of this correlation. In a correlation heatmap, the correlation coefficient ranges from -1 to 1.

A value of 1 indicates a perfect positive correlation, meaning that as one variable increases, the other variable also increases. A value of 0 indicates no relationship between the variables, meaning there is no correlation. A value of -1 indicates a perfect negative correlation, meaning that as one variable increases, the other decreases. All correlation heatmaps were created using Matplotlib.

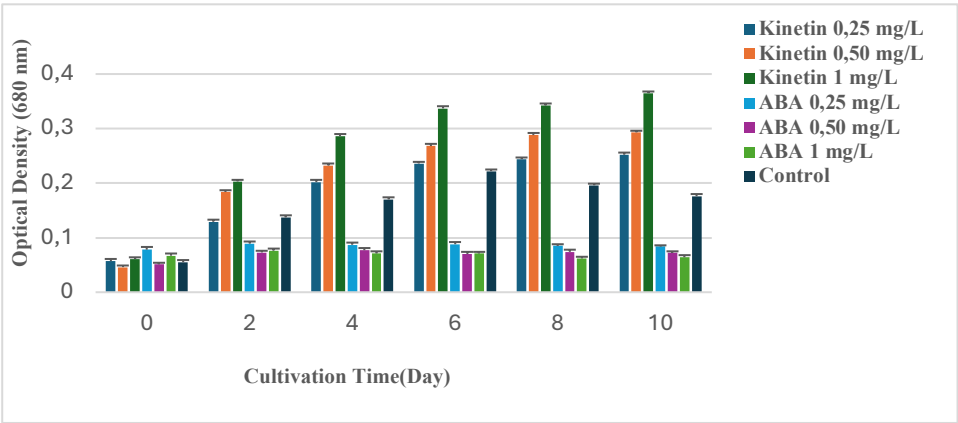
3. Result and Discussion

3.1 Growth Response of *Scenedesmus acutus* to Kinetin and Absciscic Acid (ABA) Treatments

The optical density (OD) values measured at 680 nm were used to evaluate the growth responses of *Scenedesmus acutus* under different concentrations of kinetin and abscisic acid (ABA) over a 10-day culture period. The results revealed significant differences in cell proliferation based on the type and concentration of the applied phytohormones. The application of kinetin demonstrated a concentration-dependent stimulatory effect on growth. Among the tested concentrations, 1 mg/L kinetin yielded the highest OD value (0.365) on day 10, followed by 0,50 mg/L (0.293) and 0,25 mg/L (0.252). These values clearly exceeded that of the control group (0.176), indicating that kinetin enhances biomass accumulation in *S. acutus*. This effect is consistent with earlier studies reporting that cytokinins such as Kinetin promote chloroplast development, photosynthetic activity, and cell division in microalgae (Stirk et al., 2014, p.66-76). In contrast, the cultures treated with ABA showed markedly reduced OD values. The highest OD observed among ABA-treated groups was 0.084 (0,25 mg/L ABA) on day 10, while 0,50 mg/L and 1 mg/L ABA treatments resulted in final OD values of 0.072 and 0.064, respectively. These values were all significantly lower than the control, suggesting that ABA exerts an inhibitory effect on growth. This aligns with previous findings indicating that ABA may induce oxidative stress, repress cell cycle progression, and redirect metabolism toward stress defense mechanisms in microalgae (Park et al., 2013; Piotrowska-Niczyporuk & Bajguz, 2014). In ABA-treated groups, OD values remained nearly constant or slightly declined after day 4, suggesting an early and sustained growth arrest effect. This stagnation likely results from ABA-triggered signal cascades that downregulate growth-related genes and promote cellular quiescence. Taken together, these findings underscore the growth-promoting role of kinetin in *S. acutus* and the growth-suppressive effect of ABA, particularly at higher concentrations and over prolonged exposure.

These hormone-specific responses may be exploited to modulate biomass production in microalgal biotechnological applications (Fig.1).

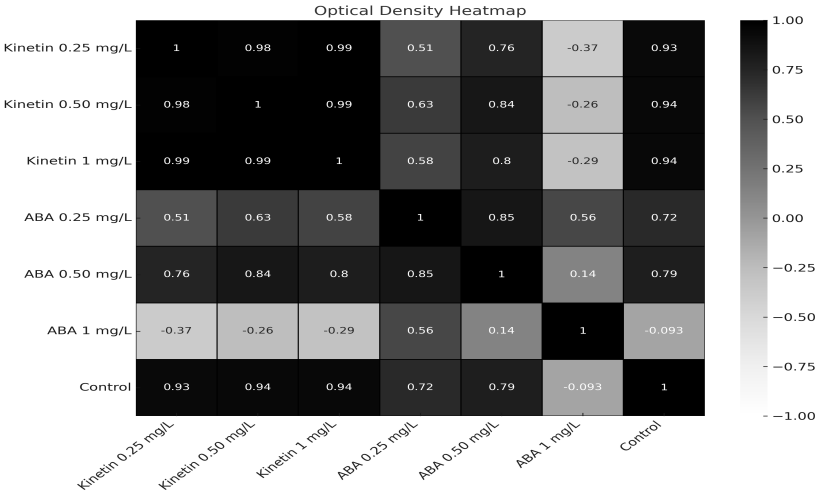
Figure 1. Effect of Different Kinetin and Absciscic Acid Concentrations on the Optical Density of *Scenedesmus acutus*



The heatmap presented in Figure 2 displays the Pearson correlation coefficients calculated from optical density (OD) values of *Scenedesmus acutus* cultures treated with different concentrations of kinetin and abscisic acid (ABA) over a 10-day period. Correlation heatmaps are graphical representations that highlight the strength and direction of linear relationships between variables, where values range from -1 (perfect negative correlation) to $+1$ (perfect positive correlation). In this context, they provide a holistic view of how similarly or differently algal cultures respond to phytohormone treatments in terms of growth patterns. The analysis revealed strong positive correlations among the kinetin-treated groups ($r = 0.98-0.99$), suggesting a consistent and concentration-dependent stimulatory effect of kinetin on *S. acutus* growth.

These treatments also showed high correlation with the control group ($r \approx 0.93\text{--}0.94$), indicating that kinetin amplifies baseline growth trends rather than shifting them drastically. This is consistent with previous studies demonstrating that cytokinins promote biomass accumulation and chloroplast development (Stirk et al., 2014). In contrast, ABA treatments showed more variable and in some cases negative correlations, particularly for the 1 mg/L ABA group, which displayed a negative correlation with most other treatments (e.g., $r = -0.37$ with kinetin 0,25 mg/L). This suggests a divergent growth pattern under high ABA concentrations, likely due to its inhibitory effects on cell division and its activation of stress-response pathways (Park et al., 2013). Notably, moderate correlations were observed between ABA 0,25 and 0,50 mg/L ($r = 0.85$), indicating that lower ABA levels might elicit more consistent but still subdued growth dynamics. Overall, this heatmap analysis supports the experimental findings, illustrating that kinetin promotes coherent and enhanced growth across concentrations, while ABA induces inconsistent and generally suppressive effects, especially at higher doses.

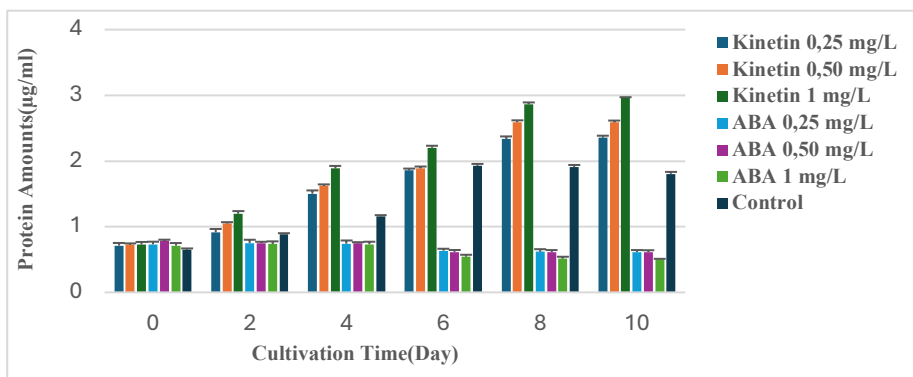
Figure 2. Correlation heatmap of optical density (OD) values measured in *Scenedesmus acutus* cultures treated with different concentrations of Kinetin and abscisic acid (ABA) over a 10-day period.



3.2. Effects of Kinetin and Absciscic Acid(ABA) on Total Protein Accumulation of Microalga *Scenedesmus acutus*

The effects of different concentrations of Kinetin and absciscic acid (ABA) on total protein content in *Scenedesmus acutus* cultures were investigated over a 10-day period. Protein concentrations were measured spectrophotometrically and expressed as micrograms per milliliter ($\mu\text{g/mL}$). The results revealed hormone-specific and dose-dependent changes in protein accumulation. Among the treatments, the highest protein content was recorded in the culture supplemented with 1 mg/L kinetin, reaching 2.969 $\mu\text{g/mL}$ on day 10. The 0,50 mg/L and 0,25 mg/L kinetin treatments also showed significant protein enhancement, reaching 2.585 $\mu\text{g/mL}$ and 2.355 $\mu\text{g/mL}$, respectively. These values were substantially higher than the control group, which reached 1.804 $\mu\text{g/mL}$ by the end of the cultivation period. The promotive effect of kinetin on protein synthesis is likely linked to its known role in enhancing nitrogen assimilation, stimulating ribosomal activity, and promoting anabolic metabolism in microalgae (Bajguz, 2009). In contrast, ABA treatments resulted in significantly lower protein levels. Cultures exposed to 0,25 mg/L ABA exhibited a slight increase until day 2 (0.751 $\mu\text{g/mL}$), but protein content gradually decreased to 0.614 $\mu\text{g/mL}$ by day 10. The inhibitory effect was more pronounced at higher ABA concentrations, where 0,50 mg/L and 1 mg/L treatments resulted in terminal protein values of 0.611 $\mu\text{g/mL}$ and 0.508 $\mu\text{g/mL}$, respectively. This trend is in agreement with previous studies reporting that ABA induces metabolic reprogramming toward stress responses rather than growth, downregulating protein biosynthesis in microalgae such as *Chlorella vulgaris* (Du et al., 2017; Park et al., 2013). The control group exhibited an increase in protein concentration up to day 6 (1.925 $\mu\text{g/mL}$), followed by a slight decrease to 1.804 $\mu\text{g/mL}$ by day 10, reflecting the natural stationary phase shift of the culture (Fig.3). These findings clearly demonstrate that kinetin acts as a positive regulator of protein biosynthesis in *S. acutus*, whereas ABA exerts a suppressive effect, particularly at higher concentrations. Phytohormone-mediated manipulation of algal metabolism thus holds significant potential for improving the biochemical yield in microalgal bioprocesses.

Figure 3. Effects of Varying Concentrations of Kinetin and Absciscic Acid on Protein Accumulation in *Scenedesmus acutus*

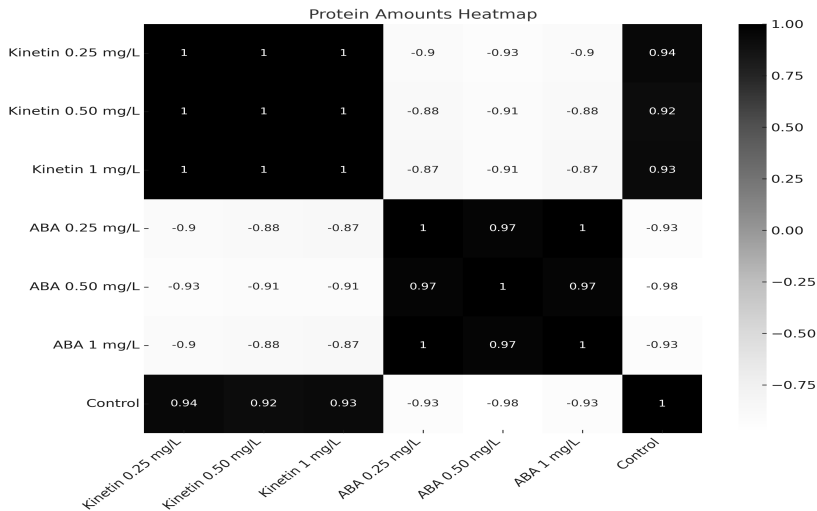


The heatmap presented in Figure 4 reflects the relational structure among protein accumulation profiles in *Scenedesmus acutus* cultures subjected to exogenous phytohormone treatments. Rather than absolute protein levels, this analysis emphasizes the temporal coherence of responses under each treatment condition. Notably, the three Kinetin concentrations exhibit nearly identical correlation patterns ($r \approx 1.00$), indicating a highly synchronized protein synthesis trajectory irrespective of kinetin dose. This suggests that while kinetin concentration modulates magnitude, it does not substantially alter the temporal pattern of protein accumulation. Such consistency supports the hypothesis that kinetin-driven metabolic activation operates through conserved transcriptional or translational mechanisms across a dose gradient.

Conversely, cultures exposed to ABA treatments form a distinctly clustered correlation group, with strong internal coherence ($r = 0.97-1.00$) yet pronounced anti-correlation with kinetin treatments ($r = -0.87$ to -0.93).

This bifurcation in correlation structure implies a fundamental divergence in regulatory responses, likely reflecting ABA’s suppression of biosynthetic pathways in favor of catabolic or stress-related programs. Interestingly, even the control group aligns more closely with kinetin treatments than with ABA, reinforcing the view that ABA induces a physiological departure from baseline metabolic behavior. From a systems perspective, the heatmap reveals that kinetin and ABA establish opposing regulatory states, not only in their end-point effects but also in the consistency and direction of temporal protein accumulation dynamics. These structured correlations underscore the value of time-resolved data in distinguishing between stimulatory and inhibitory growth regulators at the metabolic level.

Figure.4 Correlation Heatmap of Total Protein Content in Scenedesmus acutus Cultures Treated with Varying Concentrations of Kinetin and Absciscic Acid(ABA)



3.3 Temporal Changes in Lipid Content of *Scenedesmus acutus* Subjected to Different Phytohormones and Concentrations

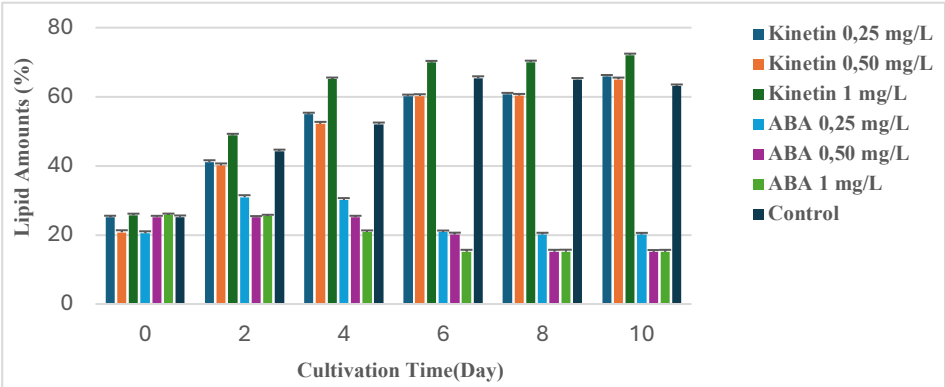
Enhancing lipid accumulation in microalgae is of considerable biotechnological interest due to its potential for sustainable production of biofuels, nutritional supplements, and high-value bioproducts. Traditional approaches to stimulate lipid biosynthesis such as nitrogen deprivation, salinity, or high light stress often inhibit cell growth and reduce overall biomass yield. Therefore, alternative strategies that can induce lipid accumulation without compromising algal growth are actively being investigated. One promising approach involves the exogenous application of phytohormones, which can regulate intracellular metabolic processes. Phytohormones such as cytokinins and abscisic acid (ABA) have been reported to influence carbon partitioning and lipid biosynthetic pathways in microalgae (Cheng et al., 2022). Cytokinins such as kinetin, on the other hand, have been associated with improved lipid productivity and biomass in several microalgal species (Udayan et al., 2021, p.1-21).

In the present study, *Scenedesmus acutus* cultures were treated with different concentrations of Kinetin and ABA over a 10-day cultivation period to evaluate their effects on lipid biosynthesis. Kinetin treatment resulted in a dose-dependent enhancement of lipid accumulation. The culture supplemented with 1 mg/L Kinetin exhibited the highest lipid content at 72.08% on day 10, following a steady increase from an initial value of 25.65%. Similarly, 0,25 mg/L and 0,50 mg/L Kinetin treatments resulted in final lipid contents of 65.90% and 65.05%, respectively values that were comparable to or slightly exceeded those observed in the control group (63.15%) (Fig.5). These findings suggest that Kinetin promotes lipid accumulation by potentially activating enzymes involved in fatty acid biosynthesis or modulating intracellular carbon flux (Udayan et al., 2021). Comparable lipid-enhancing effects have also been reported in *Tetraselmis suecica* and *Nannochloropsis oceanica* under stress or nutrient-limited conditions.

In contrast, ABA-treated cultures demonstrated a continuous decline in lipid content throughout the experimental period. In the 1 mg/L ABA group, lipid levels declined from 25.77% to 15.08%, while the 0,25 mg/L and 0,50 mg/L ABA groups exhibited final values of 20.09% and 15.02%, respectively. These reductions suggest that ABA inhibits lipid biosynthesis in *S. acutus*, possibly by repressing key enzymatic activities such as acetyl-CoA carboxylase or by diverting cellular metabolism toward stress-response pathways (Park et al., 2013; Piotrowska-Niczyporuk & Bajguz, 2014).

Overall, the results indicate that kinetin serves as an effective enhancer of lipid biosynthesis, whereas ABA acts as a suppressor under the tested conditions. These contrasting effects underscore the regulatory complexity of phytohormonal interactions and highlight the potential of kinetin-based strategies for optimizing lipid yields in microalgal cultivation systems.

Figure 5. Time-Dependent Lipid Accumulation in Scenedesmus acutus Cultures Treated with Varying Concentrations of Kinetin and Absciscic Acid

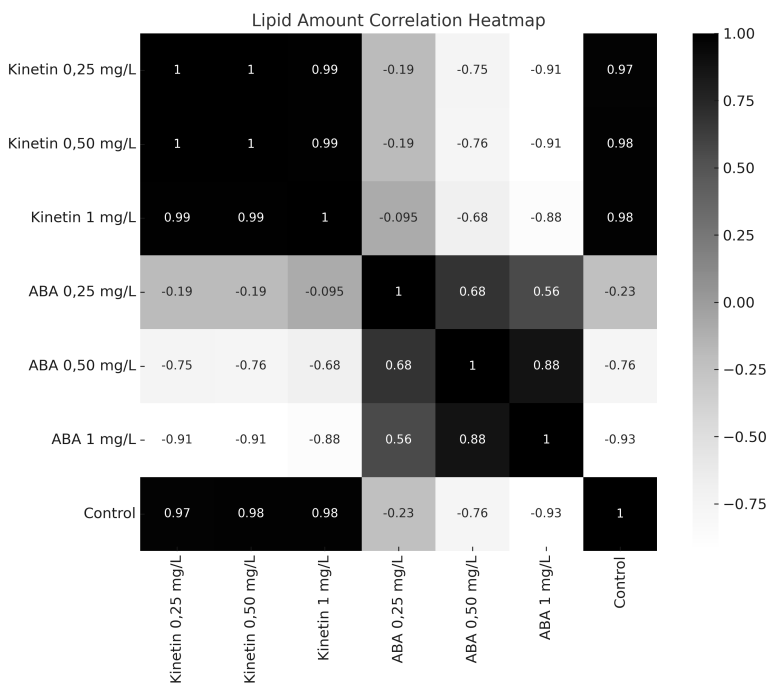


The correlation heatmap provides a comprehensive overview of the interrelationships among lipid accumulation profiles observed under different phytohormonal treatments in *Scenedesmus acutus* cultures over a 10-day period. A notably strong positive correlation ($r \approx 1.00$) was observed among all concentrations of kinetin, suggesting a highly synchronized lipid accumulation response to this cytokinin class hormone. This consistency across kinetin treatments may reflect a dose-independent upregulation of lipid biosynthetic pathways, possibly mediated by enhanced carbon flux and enzymatic activation involved in fatty acid metabolism. Conversely, ABA treatments particularly at moderate and high concentrations demonstrated negative or weak correlations with kinetin-treated groups and the control.

For example, the correlation between ABA 1 mg/L and kinetin 1 mg/L was markedly negative ($r \approx -0.88$), indicating fundamentally distinct metabolic outcomes. These antagonistic trends suggest that ABA, especially at elevated doses, may downregulate lipid synthesis or divert metabolic resources toward stress adaptation rather than storage compound formation. Interestingly, low-dose ABA (0,25 mg/L) exhibited slightly positive correlations with other ABA levels, hinting at a partial concentration-dependent shift in metabolic response (Fig.6).

The control group showed a high degree of correlation with kinetin treatments ($r > 0.97$), yet diverged significantly from all ABA-treated samples. This highlights a clear hormonal dichotomy in modulating lipid accumulation: while kinetin consistently enhances lipid deposition, ABA appears to suppress it, particularly in a concentration-dependent manner. These results underscore the importance of hormone type and dosage in steering biochemical pathways toward lipid biosynthesis and can inform future strategies for optimizing lipid yields in microalgal biotechnology

Figure 6. Correlation Heatmap of Lipid Content Relationships under Different Kinetin and Absciscic Acid (ABA) Concentrations in Scenedesmus acutus

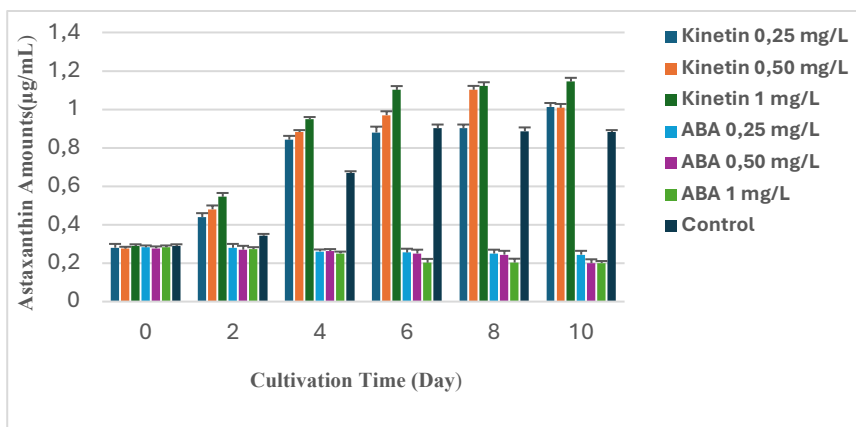


3.4. Effect of Exogenous of Kinetin and ABA on Time-Dependent Astaxanthin Production in *Scenedesmus acutus*

Over a 10-day cultivation period, the astaxanthin content of *Scenedesmus acutus* demonstrated distinct accumulation profiles in response to exogenous application of kinetin and abscisic acid (ABA). Among all treatments, 1 mg/L kinetin led to the highest astaxanthin yield, peaking at 1.144 $\mu\text{g/mL}$ on day 10, which significantly exceeded the control (0.882 $\mu\text{g/mL}$). The increase in astaxanthin concentration under kinetin exposure was consistent and dose-dependent, suggesting a stimulatory role of this cytokinin in secondary carotenoid biosynthesis (Fig.7).

In contrast, ABA applications resulted in markedly lower astaxanthin accumulation, particularly at 0.5 and 1 mg/L concentrations, where values declined gradually to 0.2–0.201 $\mu\text{g/mL}$ by day 10. Furthermore, even the lowest ABA dose (0,25 mg/L) failed to sustain pigment levels, remaining around 0.244 $\mu\text{g/mL}$ at the end of the experiment. The control group exhibited a moderate astaxanthin increase over time, likely reflecting endogenous stress responses under standard conditions. However, compared to kinetin treatments, the induction was significantly less pronounced. These findings suggest that kinetin, particularly at 1 mg/L, holds potential as a metabolic enhancer for astaxanthin production in *S. acutus*, while ABA treatments may suppress this biosynthetic route. Optimization of phytohormonal conditions could therefore serve as a strategic tool to modulate high-value pigment accumulation in microalgal systems.

Figure 7. Effect of Different Concentrations (0,25, 0,50, and 1 mg/L) of Kinetin and Absciscic Acid (ABA) on Astaxanthin Accumulation in *Scenedesmus acutus*

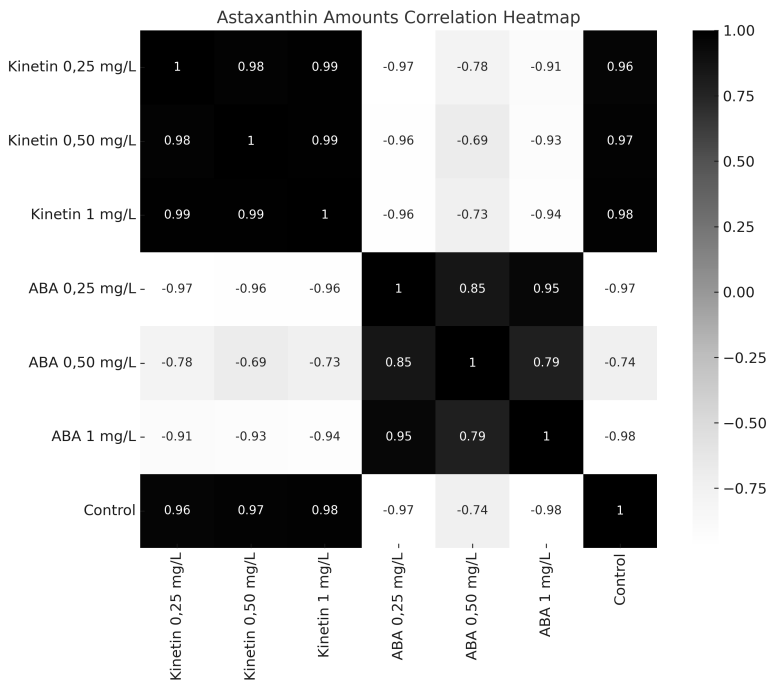


The correlation heatmap of astaxanthin amounts among *Scenedesmus acutus* cultures exposed to various concentrations of kinetin and abscisic acid (ABA) over a 10-day period demonstrates distinct metabolic responses to phytohormonal modulation. High correlation coefficients ($r > 0.95$) were recorded between all kinetin treatments, particularly between the 0,50 mg/L and 1 mg/L groups, indicating a consistently linear and dose-responsive increase in astaxanthin accumulation. This suggests that kinetin acts as a stimulatory agent, likely by enhancing photosynthetic pigment biosynthesis or inducing controlled oxidative stress responses that favor carotenoid production. In contrast, ABA treatments displayed relatively low or inconsistent correlations, both among themselves and compared to the control group.

The lack of strong correlation among ABA concentrations (especially at 0,50 and 1 mg/L) suggests a non-synergistic or even inhibitory effect on astaxanthin synthesis. This may be attributed to ABA's known role in stress signaling pathways that redirect cellular energy toward protective mechanisms rather than secondary metabolite accumulation. The control group showed moderate similarity with the lowest kinetin dose (0,25 mg/L), reflecting natural pigment production without hormonal stimulation. Overall, the heatmap illustrates that kinetin induces a coordinated metabolic shift toward astaxanthin biosynthesis, whereas ABA elicits divergent or suppressive responses, depending on the concentration applied (Fig.8).

These findings reinforce the potential of cytokinins as effective regulators of carotenoid accumulation in green microalgae and highlight the importance of phytohormone selection and dose optimization for biotechnological applications.

Figure 8. Correlation Heatmap of Astaxanthin Accumulation Profiles in *Scenedesmus acutus* Treated with Different Concentrations (0.25, 0.50, 1 mg/L) of Kinetin and Absciscic Acid



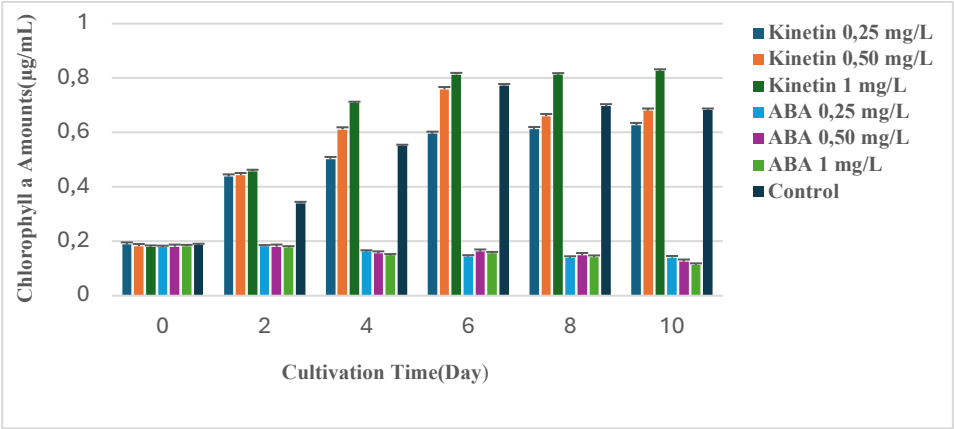
3.5 Effects of Different Kinetin and ABA Concentrations on Chlorophyll a, b Content in *Scenedesmus acutus*

In this study, the temporal changes in chlorophyll a content of *Scenedesmus acutus* cultures subjected to different concentrations of kinetin and absciscic acid (ABA) were evaluated. The results revealed a distinct stimulatory effect of kinetin on chlorophyll a accumulation, while ABA exhibited an inhibitory influence. Among the Kinetin treatments, a clear dose-dependent enhancement in chlorophyll a production was observed.

The highest chlorophyll a level was recorded in the culture supplemented with 1 mg/L Kinetin, reaching 0.826 $\mu\text{g/mL}$ on day 10. Other kinetin concentrations (0,50 and 0,25 mg/L) also demonstrated consistent increases (0.680 and 0.627 $\mu\text{g/mL}$, respectively), closely approaching or even surpassing the control group (0.682 $\mu\text{g/mL}$).

These findings indicate that kinetin positively regulates photosynthetic pigment biosynthesis and may enhance the photobiological performance of *S. acutus* cultures. Conversely, ABA treatments resulted in a marked reduction in chlorophyll a levels across all concentrations. The 1 mg/L ABA group exhibited the lowest final value (0.113 $\mu\text{g/mL}$), suggesting a strong suppressive effect. Overall, the findings highlight the divergent roles of kinetin and ABA in modulating chlorophyll a content in *S. acutus*, emphasizing kinetin’s promotive impact and ABA’s repressive function.

Figure 9. Changes in Chlorophyll a Concentration Over Ten Days in *Scenedesmus acutus* Cultures Treated with Different Concentrations of Kinetin and Absciscic Acid

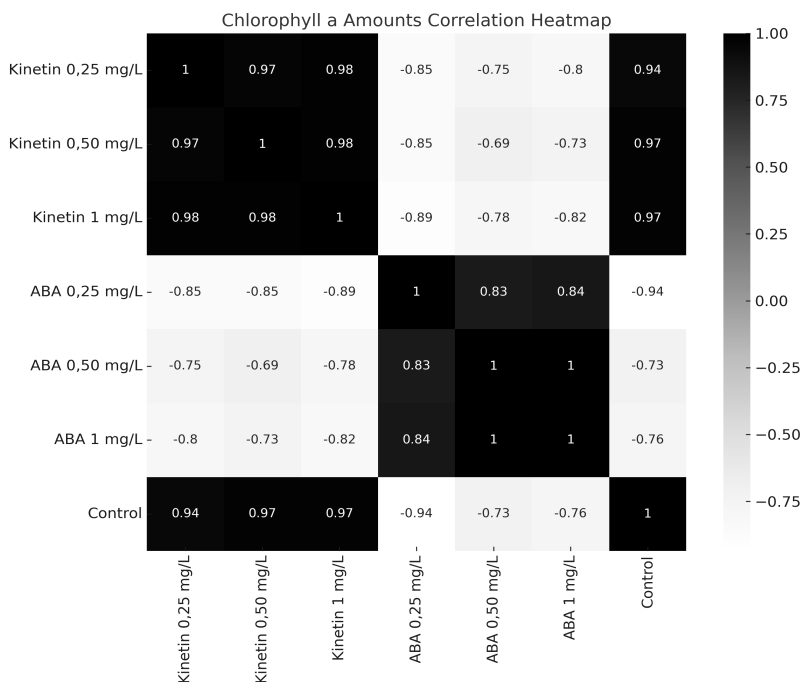


The correlation heatmap presented here illustrates the temporal relationships among *Scenedesmus acutus* cultures treated with varying concentrations of kinetin (0,25, 0,50, 1 mg/L) and abscisic acid (ABA; 0,25, 0,50, 1 mg/L) over a 10-day cultivation period, with respect to chlorophyll a (Chl a) accumulation. Pearson correlation coefficients (r) were used to quantify the degree to which chlorophyll a production progressed in a synchronized manner across different time points under each phytohormone treatment. Kinetin treatments demonstrated notably high positive correlations, particularly at 1 mg/L ($r \approx 0.99$), indicating a strong linear and consistent increase in chlorophyll a concentration over time

The control group also exhibited positive correlations between time points, albeit at slightly lower magnitudes than the kinetin-treated groups. This suggests that endogenous regulatory pathways allow for natural chlorophyll accumulation, though external cytokinin application significantly augments the process. Conversely, ABA-treated cultures revealed weaker or even minimal correlations over time. Notably, the 1 mg/L ABA group exhibited the lowest correlation values and a marked decline in Chl a content as cultivation progressed, pointing to a suppressive effect of abscisic acid on pigment biosynthesis. Furthermore, ABA is known to antagonize cytokinin pathways, which could further contribute to its inhibitory effect on chlorophyll synthesis.

In conclusion, the correlation heatmap offers valuable insight into the temporal coordination of pigment biosynthesis in *Scenedesmus acutus* under the influence of exogenous phytohormones. Kinetin, particularly at 0.50–1 mg/L, supports synchronized and sustained Chl a accumulation, while ABA disrupts this pattern, reflecting its role as a stress mediator and potential inhibitor of photosynthetic processes (Fig.10)

Figure 10. Assessment of Chlorophyll a Accumulation Correlations Across Time Under Phytohormone Influence



The chlorophyll b contents of *Scenedesmus acutus* cultures exposed to exogenous Kinetin and Absciscic acid (ABA) showed significant variation depending on hormone type, concentration, and duration of exposure. Among all treatments, kinetin supplementation exhibited a pronounced dose-dependent stimulatory effect on chlorophyll b accumulation. The 1 mg/L Kinetin treatment was particularly effective, yielding the highest pigment levels across all sampling days from day 4 onwards.

Starting at 0.166 $\mu\text{g/mL}$ on day inoculation, the chlorophyll b concentration reached a peak of 0.987 $\mu\text{g/mL}$ on day 6 and remained consistently high through day 10 (0.985 $\mu\text{g/mL}$).

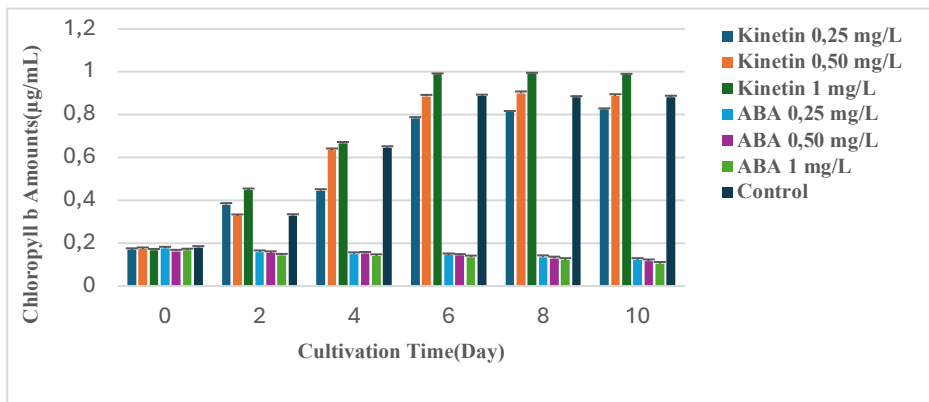
This suggests that higher doses of kinetin may enhance chlorophyll biosynthesis by modulating cytokinin-responsive transcription factors that promote pigment synthesis under favorable growth conditions(Fig.11).

The stimulatory trend was also evident in the 0,50 mg/L Kinetin group, which showed a steady increase in chlorophyll b concentration from 0.173 $\mu\text{g/mL}$ (day 0) to 0.887 $\mu\text{g/mL}$ (day 10). The 0,25 mg/L dose also supported pigment synthesis but to a lesser extent, with final levels reaching 0.824 $\mu\text{g/mL}$.

On the other hand, ABA exerted a markedly suppressive effect on chlorophyll b production. In all ABA-treated cultures, pigment concentrations declined progressively with increasing concentrations and over time. The 1 mg/L ABA treatment group recorded the lowest chlorophyll b content on day 10 (0.104 $\mu\text{g/mL}$), indicating that higher ABA levels may trigger stress-related pathways that downregulate pigment biosynthesis or accelerate pigment degradation. The control group exhibited an intermediate chlorophyll b profile, starting at 0.179 $\mu\text{g/mL}$ on inoculation day and increasing steadily to reach 0.882 $\mu\text{g/mL}$ on day 10. This pattern was comparable to the 0,50 mg/L Kinetin treatment, especially during the early cultivation phase (days 2–6), but diverged toward the end where kinetin-induced pigment levels surpassed control values. Taken together, the data indicate that kinetin enhances chlorophyll b synthesis in *S. acutus* in a concentration-dependent manner, while ABA inhibits its accumulation, possibly through antagonistic regulation of photosynthetic gene expression.

These differential effects highlight the significance of phytohormone-mediated regulation of pigment metabolism in green microalgae and provide insight into optimizing pigment productivity under controlled cultivation systems.

Figure 11. Time-Dependent Variation in Chlorophyll b Levels of Scenedesmus acutus Exposed to Different Concentrations of Kinetin and Absciscic Acid



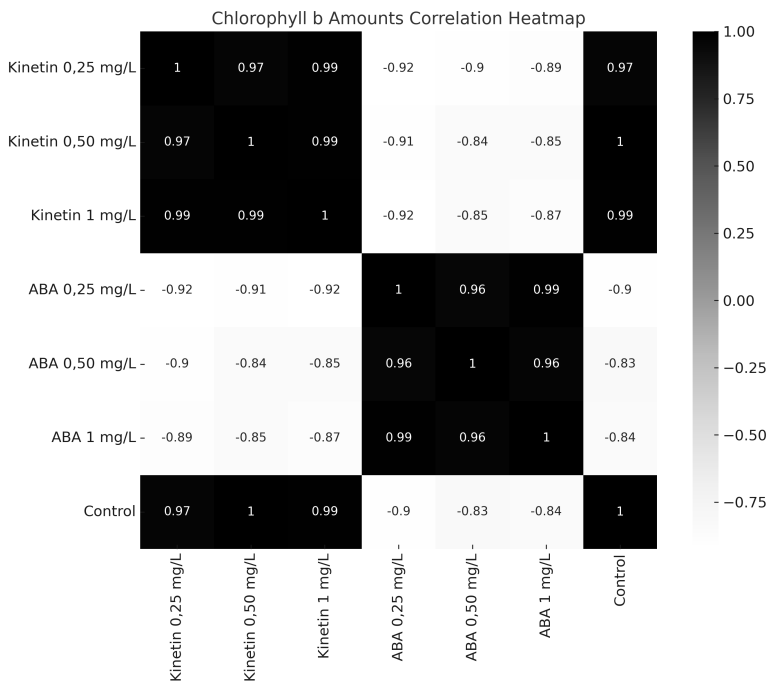
The heatmap illustrating the correlations of chlorophyll *b* content over a 10-day cultivation period under different kinetin and abscisic acid (ABA) concentrations in *Scenedesmus acutus* highlights distinct temporal response patterns induced by phytohormonal treatments. The gradient of grayscale intensity in the heatmap reflects the degree of correlation among treatments over time, with darker tones representing stronger correlations.

The 1 mg/L kinetin treatment exhibited notably high correlations with both the control group and other kinetin doses, particularly from day 4 onward, indicating a consistent and robust stimulation of chlorophyll *b* biosynthesis. This suggests that kinetin, especially at higher concentrations, positively regulates pigment production in a dose-dependent manner. Similarly, the 0,50 mg/L kinetin treatment showed strong positive correlations, supporting its effectiveness in promoting chlorophyll *b* accumulation. In contrast, ABA-treated groups, particularly at 1 mg/L, demonstrated low correlations with both the control and kinetin treatments. This is indicative of a divergent temporal pattern characterized by suppressed chlorophyll *b* levels over time.

These groups were visualized in lighter tones on the heatmap, signifying weaker synchronicity in pigment accumulation dynamics compared to kinetin-treated cultures. The control group shared strong correlations with kinetin-treated cultures, especially at 0,50 and 1 mg/L, suggesting that kinetin may enhance or mimic endogenous regulatory pathways of chlorophyll biosynthesis. (Fig.12)

Conversely, the weak correlations observed in ABA groups underscore ABA’s potential inhibitory role in chlorophyll *b* production, consistent with its known stress-associated regulatory effects in algal systems.

Figure 12. Heatmap Analysis of Chlorophyll *b* Variation in *Scenedesmus acutus* under Differential Phytohormone Treatments Over a 10-Day Period



4. Conclusion

This study provides robust experimental evidence demonstrating that the application of exogenous phytohormones particularly kinetin exerts significant regulatory effects on the physiological performance and metabolic output of *Scenedesmus acutus*.

Throughout a 10-day cultivation period, the algae displayed highly variable responses to different concentrations of kinetin and abscisic acid (ABA), as reflected in key indicators including growth (optical density), protein content, astaxanthin concentration, lipid accumulation, and chlorophyll a and b levels.

The treatment with 1 mg/L Kinetin consistently yielded the most pronounced improvements across all parameters. Notably, this group exhibited a marked increase in biomass productivity, with the highest optical density observed by day 10. Protein content also peaked in this group (2.969 µg/mL), indicating enhanced cellular activity and nitrogen assimilation. Furthermore, the astaxanthin level reached 1.144 µg/mL, representing a substantial enhancement in carotenoid biosynthesis, which is of high relevance for antioxidant-rich product development. The same treatment also led to the highest lipid content (72.08%), further supporting the role of kinetin in stimulating carbon flux toward energy-dense storage molecules. Consistent increases in chlorophyll a and b levels confirmed improved photosynthetic capacity and sustained cellular metabolism under Kinetin stimulation.

In contrast, ABA-treated groups, especially at 0.50 and 1 mg/L, showed metabolic suppression characterized by stagnant or declining values across most parameters. These findings align with the hormone's known role in stress signaling and dormancy induction, suggesting that ABA may negatively regulate primary metabolism and pigment biosynthesis under non-stressful conditions.

From a biotechnological perspective, the results are particularly significant. The capacity of kinetin to simultaneously stimulate biomass growth, enhance high-value compound production (especially astaxanthin and lipids), and support protein biosynthesis presents a valuable opportunity for optimizing microalgal cultivation systems.

These findings highlight kinetin's potential as a cost-effective and scalable biostimulant in the fields of nutraceutical production, biofuel development, aquaculture feed formulation, and cosmetic applications. The ability to fine-tune microalgal metabolic outputs through targeted phytohormonal treatments introduces a promising strategy for improving yield efficiency and product specificity in commercial photobioreactor systems.

In summary, this work emphasizes the critical role of phytohormonal engineering in microalgal biotechnology, and identifies 1 mg/L kinetin as a particularly promising candidate for enhancing both biomass and bioactive compound production in *Scenedesmus acutus*.

5. References

- Asghari, T., Ahmadifard, N., & Nikoo, M. (2023). Effect of phytohormone kinetin on cell density, photosynthetic pigments, antioxidant enzymes, and fatty acid composition of the microalgae *Tetraselmis suecica*. *Aquaculture Research*. (DOI bilgisi eksik)
- Bajguz, A. (2009). Brassinosteroid enhanced the level of abscisic acid in *Chlorella vulgaris* subjected to short term heat stress. *Journal of Plant Physiology*, 166(8), 882–886. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2008.10.004>
- Bajguz, A. (2010). An enhancing effect of exogenous brassinolide on the growth and antioxidant activity in *Chlorella vulgaris* cultures under heavy metals stress. *Environmental and Experimental Botany*, 68, 175–179. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2009.11.003>
- Bajguz, A., & Piotrowska Niczyporuk, A. (2013). Synergistic effect of auxins and brassinosteroids on the growth and regulation of metabolite content in the green alga *Chlorella vulgaris* (Trebouxiophyceae). *Plant Physiology and Biochemistry*, 71, 290–297.

Borowitzka, M. A. (2013). Dunaliella: Biology, production, and markets. In A. Richmond & Q. Hu (Eds.), *Handbook of microalgal culture: Applied phycology and biotechnology* (2nd ed., Chapter 18). Wiley-Blackwell. <https://doi.org/10.1002/9781118567166.ch18>

Cheng, P., Miao, X., Ruan, X., Guo, J., & Yan, X. (2022). Exploration of the phytohormone regulation of energy storage compounds in microalgae. *Food and Energy Security*, 11(1), e418. <https://doi.org/10.1002/fes3.418>

Coban, M. Z., Aydin, S., & Karadag, D. (2021). Effect of nitrogen source on growth and protein and lipid amounts of a freshwater microalga *Scenedesmus acutus*. *Journal of Water and Wastewater Science and Technology*, 5(1), 21–28.

Cui, D., Hu, C., Zou, Z., Sun, X., Shi, J., & Xu, N. (2020). Comparative transcriptome analysis unveils mechanisms underlying the promoting effect of potassium iodide on astaxanthin accumulation in *Haematococcus pluvialis* under high light stress. *Aquaculture*, 525, 735279.

Czerpak, R., & Bajguz, A. (1997). Effect of phytohormones on growth and accumulation of pigments and fatty acids in the microalgae *Chlorella pyrenoidosa*. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 66, 279–286.

Ding, K., Chen, Z., Wan, Q., Hu, X., Xiang, D., et al. (2024). Improving antistress capacity and lipid productivity in the green alga *Chlorella pyrenoidosa* by adding abscisic acid under salt stress conditions. *Algae*. <https://doi.org/10.4490/algae.2024.3026>

Du, H., Ahmed, F., Lin, B., Li, Z., Huang, Y., Sun, G., Ding, H., Wang, C., Meng, C., & Gao, Z. (2017). The effects of plant growth regulators on cell growth, protein, carotenoid, PUFAs and lipid production of *Chlorella pyrenoidosa* ZF strain. *Energies*, 10(1), 1696. <https://doi.org/10.3390/en10111696>

Finet, C., & Jaillais, Y. (2012). Auxology: When auxin meets plant evo-devo. *Developmental Biology*, 369, 19–31. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2012.05.039>

Gao, Z., Meng, C., Gao, H., Zhang, X., Xu, D., Su, Y., Wang, Y., Zhao, Y., & Ye, N. (2013). Analysis of mRNA expression profiles of carotenogenesis and astaxanthin production of *Haematococcus pluvialis* under exogenous 2,4-epibrassinolide (EBR). *Biological Research*, 46, 201–206.

Gao, Z., Meng, C., Zhang, X., Xu, D., Miao, X., Wang, Y., Yang, L., Lv, H., Chen, L., & Ye, N. (2012). Induction of salicylic acid (SA) on transcriptional expression of eight carotenoid genes and astaxanthin accumulation in *Haematococcus pluvialis*. *Enzyme and Microbial Technology*, 51, 225–230.

Hunt, R. W., Chinnasamy, S., Bhatnagar, A., & Das, K. C. (2010). Effect of biochemical stimulants on biomass productivity and metabolite content of the microalga *Chlorella sorokiniana*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 162(8), 2400–2414. <https://doi.org/10.1007/s12010-010-9012-2>

Jusoh, M., Loh, S. H., Chuah, T. S., Aziz, A., & Cha, T. S. (2015). Elucidating the role of jasmonic acid in oil accumulation, fatty acid composition and gene expression in *Chlorella vulgaris* (Trebouxiophyceae) during early stationary growth phase. *Algal Research*, 9, 14–20. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.02.020>

Khalili, M., Younesi, H., & Bahramifar, N. (2019). Effect of linoleic acid and methyl jasmonate on astaxanthin content of *Scenedesmus acutus* and *Chlorella sorokiniana* under heterotrophic cultivation and salt shock conditions. *Journal of Applied Phycology*, 31, 3577–3587. <https://doi.org/10.1007/s10811-019-01858-1>

Kumar, G., Nguyen, D. D., Huy, M., Sivagurunathan, P., Bakonyi, P., Zhen, G. Y., Kobayashi, T., Xu, K. Q., Nemestothy, N., & Chang,

S. W. (2019). Effects of light intensity on biomass, carbohydrate and fatty acid compositions of three different mixed consortia from natural ecological water bodies. *Journal of Environmental Management*, 230, 293–300. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.09.026>

Lu, Y., & Xu, J. (2015). Phytohormones in microalgae: A new opportunity for microalgal biotechnology? *Trends in Plant Science*, 20(5), 273–282. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2015.01.006>

Lu, Y., Jiang, P., Liu, S., Gan, Q., Cui, H., & Qin, S. (2010). Methyl jasmonate- or gibberellins A3-induced astaxanthin accumulation is associated with up-regulation of transcription of β -carotene ketolase genes (bkts) in microalga *Haematococcus pluvialis*. *Bioresource Technology*, 101, 6468–6474.

Park, W.-K., Yoo, G., Moon, M., & Yang, J.-W. (2013). Phytohormone supplementation significantly increases growth of *Chlamydomonas reinhardtii* cultivated for biodiesel production. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 169(3), 706–718. <https://doi.org/10.1007/s12010-013-0410-7>

Piotrowska, N. A., Bajguz, A., Zambrzycka, E., & Godlewska, Z. B. (2012). Phytohormones as regulators of heavy metal biosorption and toxicity in green alga *Chlorella vulgaris* (Chlorophyceae). *Plant Physiology and Biochemistry*, 52, 52–65. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2011.11.009>

Piotrowska Niczyporuk, A., & Bajguz, A. (2014). The effect of natural and synthetic auxins on the growth, metabolite content and antioxidant response of green alga *Chlorella vulgaris* (Trebouxiophyceae). *Plant Growth Regulation*, 73(1), 57–66. <https://doi.org/10.1007/s10725-013-9867-7>

Ren, Y., Deng, J., Huang, J., Wu, Z., Yi, L., Bi, Y., & Chen, F. (2021). Using green alga *Haematococcus pluvialis* for astaxanthin and lipid co-production: Advances and outlook. *Bioresource Technology*, 340, 125736. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125736>

Shamala, T. R., Ravishankar, G. A., & Karanth, N. G. (1982). Influence of organic carbon sources on growth and production of oil and astaxanthin by *Scenedesmus acutus*. *Journal of Microbial Biotechnology*, 3(1), 45–52.

Singh, R. P., Reddy, C. R. K., & Vinayak, V. (2020). A review on role of phytohormones in response of algae to abiotic stress. *Algal Research*, 47, 101874. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.101874>

Stirk, W. A., Bálint, P., Tarkowská, D., Novák, O., Maróti, G., Ljung, K., Turečková, V., Strnad, M., Ördög, V., & van Staden, J. (2014). Effect of light on growth and endogenous hormones in *Chlorella minutissima* (Trebouxiophyceae). *Plant Physiology and Biochemistry*, 79, 66–76. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2014.03.005>

Tate, J. J., Gutiérrez-Wing, M. T., Rusch, K. A., & Benton, M. G. (2012). The effects of plant growth substances and mixed cultures on growth and metabolite production of green algae *Chlorella* sp.: A review. *Journal of Plant Growth Regulation*, 32(3), 417–428. <https://doi.org/10.1007/s00344-012-9236-2>

Udayan, A., Kathiresan, S., & Arumugam, M. (2021). Emerging industrial applications of microalgae: Challenges and future perspectives. *Systems Microbiology and Biomanufacturing*, 1(1), 1–21. <https://doi.org/10.1007/s43393-021-00038-8>

Yu, X., Chen, L., & Zhang, W. (2015). Chemicals to enhance microalgal growth and accumulation of high-value bioproducts. *Frontiers in Microbiology*, 6, 56.

Zhu, X., Meng, C., Sun, F., Wei, Z., Chen, L., Chen, W., & Gao, Z. (2022). Sustainable production of astaxanthin in microorganisms: The past, present, and future. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1–17. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2080176>

BİYOLOJİ BİLİMLERİNDE ÖZEL GÜNCEL KONULAR

