



ÜLKEMİZDE ARTEMİA YETİŞTİRİCİLİĞİ İÇİN BESİNSEL ÖZELLİKLERİ DEĞİŞTİRİLMİŞ MİKROALGLERİN KULLANIM POTANSİYELLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Program Kodu: 3001

Proje No: 116Y390

Proje Yürütücüsü:
Öğr.Gr.Doç. Dr. Zeynep ELİBOL ÇAKMAK

Danışman(lar):
Prof. Dr. Semra Cirik

Bursiyer(ler):
Arş.Gör.Pınar Akdoğan Şirin

Mart 2019
İSTANBUL

ÖNSÖZ

Artemia, akvaryum balıkçılığında ve balık yetiştiriciliği yapılan kuluçkahanelerde yavru balıkların beslenmesinde kullanılan değerli bir canlı yemidir. Çeşitli mikroalgler ile beslenen *Artemia*'nın besinsel özellikleri, beslendiği mikroalglerin besinsel özellikleri ile yakın ilişkilidir.

Bu araştırma projesi kapsamında, ülkemizde daha önce yaptığımız saha çalışmalarıyla saflaştırılarak kültüre alınmış 20 farklı mikroalg ve siyanobakteri türü *Artemia* beslenmesi açısından değerlendirilmiş, öne çıkan türler içerisinde stres uygulamaları ile besinsel özellikleri değiştirilmiş mikroalglerin kullanım potansiyellerinin tanımlanması ve böylece besinsel içeriği zenginleştirilmiş *Artemia*'ların üretimi için yenilikçi bir organik yaklaşım getirilmesi yönünde çalışmalar yürütülmüştür. Yapılan çalışmada kullanılan mikroalg türleri içerisinde özellikle tuz stresi uygulanmış olan *Dunaliella tertiolecta*, *Isochrysis galbana* ve *Phaeodactylum tricornutum* mikroalgleri ile beslenen *Artemia franciscana*'nın yapılan analizlerle gösterilmiş olan besleyici özelliklerinin dikkate değer oranda artabileceği değerlendirilmiştir.

Bu araştırma projesi TÜBİTAK tarafından “3001-Başlangıç Ar-Ge Projeleri Destekleme Programı” kapsamında 15 Mart 2017 - 15 Mart 2019 tarihleri arasında iki yıl süre ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
TABLolar DİZİNİ.....	vii
ÖZET.....	viii
ABSTRACT	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	5
3. GEREÇ VE YÖNTEM	8
3.1. Mikroalg Kùltürleri	8
3.2. Mikroalg Türlerine Ait Spesifik Büyüme Hızlarının Belirlenmesi	9
3.3. Mikroalg Türlerinin <i>Artemia franciscana</i> 'nın Beslenmesinde Kullanılmak Üzere Hazırlanması.....	10
3.4. Mikroalg Ve Siyanobakterilerin Kuru Ağırlık, Toplam Lipid, Nişasta Ve Protein İçeriklerinin Analizi.....	10
3.4.1. Kuru Ağırlık	10
3.4.2. Toplam Lipid	10
3.4.3. Toplam Nişasta.....	11
3.4.4. Toplam Protein	11
3.5. <i>Artemia</i> Kistlerinin Açılması Ve Kuluçkalanması	12
3.6. <i>Artemia</i> 'ların Çeşitli Mikroalg Ve Siyanobakteri Türleri İle Beslenmesi	14
3.7. <i>Artemia</i> 'ların Kuru Ağırlık, Toplam Lipid, Karbohidrat Ve Protein İçeriklerinin Belirlenmesi	16
3.8. Çalışmada Kullanılan <i>Artemia franciscana</i> 'nın Beslenmede Tercih Ettiği Türlerin Besinsel İçeriklerinin Değıştirilmesine Yönelik Uygulamalar	16
3.9. Yağ Asidi Metil Esterleri (YAME) Analizi	17
3.10. Örneklerin Aminoasit Kompozisyonlarının Belirlenmesi.....	17
3.11. İstatistiksel Hesaplamalar	18
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	19
4.1. Saf Mikroalg Kùltürlerinin Büyüme Değeri (İkiye Katlanma Süresi, Büyüme Oranı Bölünme Hızları)	19

4.2. Mikroalglerin Kuru Ağırlık, Protein, Nişasta Ve Lipid İçerikleri	20
4.3. Farklı Mikroalglerle Beslenen <i>Artemia franciscana</i>	24
4.4. Artan Tuz Yoğunluğu Ve Makroelement Açlığına Tepkide Mikroalglerin Toplam Protein, Lipid Ve Toplam Karbohidrat İçeriklerinde Meydana Gelen Değişiklikler	33
4.4.1. <i>Dunaliella tertiolecta</i> Mikroalginin Toplam Protein, Lipid Ve Karbohidrat İçeriklerinde Meydana Gelen Değişiklikler.....	33
4.4.2. <i>Phaeodactylum tricornutum</i> Mikroalginin Toplam Protein, Lipid Ve Karbohidrat İçeriklerinde Meydana Gelen Değişiklikler	35
4.4.3. <i>Nannochloropsis oculata</i> Mikroalginin Toplam Protein, Lipid Ve Karbohidrat İçeriklerinde Meydana Gelen Değişiklikler	36
4.4.4. <i>Isochrysis galbana</i> Mikroalginin Toplam Protein, Lipid Ve Karbohidrat İçeriklerinde Meydana Gelen Değişiklikler.....	38
4.4.5. <i>Tetraselmis chuii</i> Mikroalginin Toplam Protein, Lipid Ve Karbohidrat İçeriklerinde Meydana Gelen Değişiklikler.....	39
4.4.6. <i>Tetraselmis suecica</i> Mikroalginin Toplam Protein, Lipid Ve Karbohidrat İçeriklerinde Meydana Gelen Değişiklikler.....	40
4.4.7. <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> Mikroalginin Toplam Protein, Lipid Ve Karbohidrat İçeriklerinde Meydana Gelen Değişiklikler	42
4.5. Çalışmada Kullanılan Mikroalglerin Yağ Asidi Profilleri	43
4.6. Stres Uygulanmış Mikroalglerle Beslenen <i>A.franciscana</i> 'nın Toplam Protein, Lipid Ve Karbohidrat İçeriğinde Meydana Gelen Değişimler.	48
4.6.1. Stres Uygulanmış Mikroalglerle Beslenen <i>Artemia</i> 'ların Toplam Çözülebilir Protein İçeriğinde Meydana Gelen Değişiklikler.	48
4.6.2. Stres Uygulanmış Mikroalglerle Beslenen <i>Artemia</i> 'ların Toplam Lipid İçeriğinde Meydana Gelen Değişiklikler.....	50
4.6.3. Stres Uygulanmış Mikroalglerle Beslenen <i>Artemia</i> 'ların Toplam Karbohidrat İçeriğinde Meydana Gelen Değişiklikler.	52
4.6.4. Stres Uygulanmış Mikroalglerle Beslenen <i>Artemia</i> 'ların Yağ Asidi Profilleri	53
4.6.5. Stres Uygulanmış Mikroalglerle Beslenen <i>Artemia</i> 'ların Aminoasit Profilleri.....	56
5.SONUÇ ve ÖNERİLER.....	59
6. KAYNAKLAR	64

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. <i>Artemia</i> 'nın yaşam döngüsü	2
Şekil 2. Toplam karbohidrat tayini için kullanılmış olan standart grafik	11
Şekil 3. Protein tayini için hazırlanmış standart grafik	12
Şekil 4. <i>Artemia franciscana</i> türünün kistten çıkma safhalarının mikroskopik görüntüsü	13
Şekil 5. Naupliileri ayırmada kullanılan <i>Artemia</i> çıkartma kabı	13
Şekil 6. <i>Artemia franciscana</i> bireylerinin fototaksi özelliği	14
Şekil 7. <i>Artemia franciscana</i> besleme denemelerinin gerçekleştirildiği kaplar	15
Şekil 8. Çalışmada kullanılan mikroalglerin ikiye katlanma süreleri	20
Şekil 9. Mikroalglerin nisbi kuru ağırlıkları	22
Şekil 10. İzolatların kuru ağırlık bazında yüzde olarak hesaplanmış toplam protein, toplam lipid, ve toplam karbohidrat içerikleri	23
Şekil 11. Besin ilave edilmeyen <i>Artemia franciscana</i> 'nın hayatta kalma yüzdesi ve boy uzunlukları	25
Şekil 12. Farklı mikroalg ve siyanobakteri türleri ile beslenen <i>Artemia franciscana</i> 'nın günlere bağlı hayatta kalma oranları	26
Şekil 13. Farklı mikroalg türleri ile beslenen <i>Artemia franciscana</i> 'nın günlere bağlı boy uzunluklarındaki değişimler	27
Şekil 14. Farklı mikroalglerle beslenen <i>Artemia</i> ların nisbi kuru ağırlıklarında meydana gelen değişimler	29
Şekil 15. 5 gün boyunca farklı mikroalglerle beslenen <i>A. franciscana</i> 'nın toplam protein, lipid ve karbohidrat içeriklerinde meydana gelen değişimler	31
Şekil 16. 5 gün boyunca N-açlığı, S-açlığı, P-açlığı ve 3M tuz yoğunluğu bulunan ortamda kültüre alınan <i>D. tertiolecta</i> mikroalginin (a) Toplam protein, (b) Toplam lipid, (c) Toplam karbohidrat içeriklerinde meydana gelen değişimler ve (d) mikroalgin toplam protein, lipid ve karbohidrat içeriğindeki değişimin karşılaştırmalı sunumunu gösteren grafik.	34
Şekil 17. 5 gün boyunca N-açlığı, S-açlığı, P-açlığı ve 1M tuz yoğunluğu bulunan ortamda kültüre alınan <i>P. tricornutum</i> mikroalginin (a) Toplam protein, (b) Toplam lipid, (c) Toplam karbohidrat içeriklerinde meydana gelen değişimler ve mikroalgin toplam protein, lipid ve karbohidrat içeriğindeki değişimin karşılaştırmalı sunumunu gösteren grafik	36
Şekil 18. 5 gün boyunca N-açlığı, S-açlığı, P-açlığı ve 1M tuz yoğunluğu bulunan ortamda kültüre alınan <i>N. oculata</i> mikroalginin (a) Toplam protein, (b) Toplam lipid, (c) Toplam	

karbohidrat içeriklerinde meydana gelen değişimler ve mikroalgin toplam protein, lipid ve karbohidrat içeriğindeki değişimin karşılaştırmalı sunumunu gösteren grafik	37
Şekil 19. 5 gün boyunca N-açlığı, S-açlığı, P-açlığı ve 1M tuz yoğunluğu bulunan ortamda kültüre alınan <i>I.galbana</i> mikroalginin (a) Toplam protein, (b)Toplam lipid, (c)Toplam karbohidrat içeriklerinde meydana gelen değişimler ve mikroalgin toplam protein, lipid ve karbohidrat içeriğindeki değişimin karşılaştırmalı sunumunu gösteren grafik	38
Şekil 20. 5 gün boyunca N-açlığı, S-açlığı, P-açlığı ve 1M tuz yoğunluğu bulunan ortamda kültüre alınan <i>T.chuii</i> mikroalginin (a) Toplam protein, (b)Toplam lipid, (c)Toplam karbohidrat içeriklerinde meydana gelen değişimler ve mikroalgin toplam protein, lipid ve karbohidrat içeriğindeki değişimin karşılaştırmalı sunumunu gösteren grafik	40
Şekil 21. 5 gün boyunca N-açlığı, S-açlığı, P-açlığı ve 1M tuz yoğunluğu bulunan ortamda kültüre alınan <i>T.suecica</i> mikroalginin (a) Toplam protein, (b)Toplam lipid, (c)Toplam karbohidrat içeriklerinde meydana gelen değişimler ve mikroalgin toplam protein, lipid ve karbohidrat içeriğindeki değişimin karşılaştırmalı sunumunu gösteren grafik	41
Şekil 22. 5 gün boyunca N-açlığı, S-açlığı, P-açlığı ve 1M tuz yoğunluğu bulunan ortamda kültüre alınan <i>C. reinhardtii</i> mikroalginin (a) Toplam protein, (b)Toplam lipid, (c)Toplam karbohidrat içeriklerinde meydana gelen değişimler ve mikroalgin toplam protein, lipid ve karbohidrat içeriğindeki değişimin karşılaştırmalı sunumunu gösteren grafik	43
Şekil 23. FAME analiz sonuçlarına göre kontrol ortamında kültüre alınan ve 5 gün boyunca azot açlığına bırakılmış mikroalglerin doymuş (DYA), tekli doymamış (TDYA) ve çoklu doymamış yağ asidi (ÇDYA) içerikleri.....	47
Şekil 24. Kontrol ortamında kültüre alınan, N-açlığı ve tuz stresi uygulanmış mikroalglerle beslenen <i>Artemia</i> 'ların 5 gün sonunda protein içeriklerinde meydana gelen değişiklikler.....	49
Şekil 25. Kontrol ortamında kültüre alınan, N-açlığı ve tuz stresi uygulanmış mikroalglerle beslenen <i>Artemia</i> 'ların 5 gün sonunda toplam lipid içeriklerinde meydana gelen değişiklikler.....	51
Şekil 26. Kontrol ortamında kültüre alınan, N-açlığı ve tuz stresi uygulanmış mikroalglerle beslenen <i>Artemia</i> 'ların 5 gün sonunda toplam karbohidrat içeriklerinde meydana gelen değişiklikler.....	52
Şekil 27. Kontrol ortamı, N-eksik ortamda ya da tuz stresi uygulanmış mikroalglerle beslenen <i>Artemia</i> 'ların YAME profillerinde meydana gelen değişimler.....	56

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Proje çalışmasında kullanılan mikroalg ve siyanobakteri türleri	8
Tablo 2. Mikroalg türlerine ait logaritmik evrede ikiye katlanma süreleri, günlük spesifik büyüme oranları ile bölünme hızları. (en az 3 farklı ölçümden elde edilen sonuçların ortalamaları sunulmuştur)	19
Tablo 3. Mikroalg türlerine ait kuru ağırlık, protein, nişasta ve lipid miktarları (en az 3 farklı ölçümden elde edilen sonuçların ortalamaları sunulmuş, tabloyu sadeleştirmek amacıyla $\pm$ SD değerleri verilmemiştir)	21
Tablo 4. 5 gün boyunca farklı mikroalg türleri ile beslenen <i>Artemia franciscana</i> 'ya ait nisbi kuru ağırlık, toplam protein, lipid ve karbohidrat içerikleri. (en az 3 farklı ölçümden elde edilen sonuçların ortalamaları sunulmuştur)	28
Tablo 5. Seçilen mikroalgler ile beslenen <i>A. franciscana</i> 'nın 10 günlük gelişimini gösteren mikroskop görüntüleri	32
Tablo 6. 5 gün boyunca kontrol ortamı ve N-eksik ortamda kültüre alınan mikroalglerin yağ asidi profilleri	44
Tablo 7. Kontrol ortamı, N-eksik ortamda ya da tuz stresi uygulanmış mikroalglerle beslenen <i>Artemia</i> 'ların YAME profilleri. Tabloda sadelik adına çok düşük olan hata değerleri işlenmemiştir	54
Tablo 8. Kontrol ortamı, N-eksik ortamda ya da tuz stresi uygulanmış mikroalglerle beslenen <i>Artemia</i> 'ların Aminoasit profilleri. Tabloda sadelik adına çok düşük olan hata değerleri işlenmemiştir. Farklı uygulamalar arasındaki farklılığın karşılaştırılması için tek yönlü ANOVA ve Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır ($P < 0.05$)	57

ÖZET

Bu projede, ülkemizde saflaştırılarak kültüre alınan 20 farklı mikroalg ve siyanobakteri türünün *Artemia franciscana* beslenmesinde kullanım potansiyeli değerlendirilmiştir. Bu amaçla kullanılan mikroalg ve siyanobakterilerin ikiye katlanma süreleri, nisbi kuru ağırlıkları, protein, karbohidrat ve lipid içerikleri ve bu türlerle beslenen *Artemia*'nın hayatta kalma süresi, boy uzunlukları, nisbi kuru ağırlık, protein, lipid ve karbohidrat içerikleri belirlenmiştir. Böylece elde edilen tüm veriler değerlendirildiğinde özellikle denizel türlerin *Artemia* beslenmesinde ön plana çıktığı, *Dunaliella tertiolecta*, *Phaeodactylum tricornutum*, *Nannochloropsis oculata*, *Isochrysis galbana*, *Tetraselmis chuii*, *Tetraselmis suecica* ve *Chlamydomonas reinhardtii* türlerinin *Artemia*'nın besinsel içeriklerini diğer türlere kıyasla yüksek düzeyde artırdığı sonucuna varılmış ve takip eden çalışmalar bu türler kullanılarak sürdürülmüştür.

Seçilen mikroalglerle N-açlığı, S-açlığı, P-açlığı ve tuz stresi uygulandığında mikroalglerin toplam protein içeriğinde azalma ve çoğunun toplam lipid üretiminde önemli artışlar belirlenmiştir. Tuz stresi uygulanan mikroalglerin çoğunda lipid ile birlikte karbohidrat içeriği de artmıştır. Özellikle N-açlığı uygulanan tüm mikroalglerde toplam protein içeriğindeki düşüşü lipid üretimindeki artış takip etmiş, azot varlığına bağlı olarak mikroalglerin yağ asidi metil ester içerikleri türe özgü farklılıklar sergilemiştir.

Takip eden çalışmalarda N-açlığı ya da tuz stresi uygulanan *D.tertiolecta* ile beslenen *Artemia*'ların toplam protein içerikleri, *D.tertiolecta* ve *I.galbana* ile beslenen *Artemia*'ların lipid içerikleri, *P.tricornutum* ile beslenen *Artemia*'ların da karbohidrat içerikleri yüksek düzeyde belirlenmiştir. Öte yandan *P.tricornutum* ile beslenen *Artemia*'ların çoklu doymamış yağ asidi içerikleri diğer iki mikroalge kıyasla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu artışta özellikle *P.tricornutum* ile beslenen *Artemia*'ların Eikosapentaenoik asit (EPA) içeriğindeki farklılık öne çıkmıştır. Bununla birlikte tuz stresi uygulaması da bu üç mikroalg ile beslenen *Artemia*'ların EPA içeriğini artırmıştır. Yine bu mikroalglerle beslenen *Artemia*'ların aminoasit profilleri değerlendirilmiştir. *D.tertiolecta* ile beslenen *Artemia*'larda arginin, *I.galbana* ile beslenen *Artemia*'larda glisin, *P.tricornutum* ile beslenen *Artemia*'larda ise glutamik asit üretimi diğer gruplara kıyasla daha yüksek düzeyde belirlenmiştir.

Sonuç olarak bu çalışmada özellikle tuz stresi uygulanan *D.tertiolecta*, *I.galbana* ve *P.tricornutum* ile beslenen *A.franciscana*'nın besinsel değerinin artabileceği değerlendirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Artemia*, Beslenme, Mikroalg, Siyanobakteri

ABSTRACT

In this project, 20 indigenous microalgae and cyanobacteria were evaluated for their potential use as *Artemia* feed. With this aim, doubling time, relative dry weight, total protein, carbohydrate and lipid contents of the microalgae, and change in the survival rate, body length, relative dry weight, total protein, lipid and carbohydrate contents of *Artemia* fed by different microalgae and cyanobacteria were determined. When all measured growth and nutritional parameters were evaluated altogether, marine specimens were found more pronounced and thus *Dunaliella tertiolecta*, *Phaeodactylum tricornutum*, *Nannochloropsis oculata*, *Isochrysis galbana*, *Tetraselmis chuii*, *Tetraselmis suecica* and *Chlamydomonas reinhardtii* microalgae were selected for further studies.

When selected microalgae were incubated in N-depleted, S-depleted, P-depleted, and salt stress conditions, decrease of total protein content and increased lipid production was common in most of the species. Total starch contents were also increased when the strains were incubated in increased salt concentrations. In particular, rapid decrease of protein production was accompanied by increased lipid production in N-deprived strains, and fatty acid methyl esters production content showed strain-specific differentiation responses.

Following studies showed that total protein content of *Artemia* was highest when it was fed by *D.tertiolecta*. Besides, *D.tertiolecta* and *I.galbana* induced total lipid content of *Artemia* at higher ratios than other microalgae. Lastly, *P.tricornutum* diet induced total carbohydrate content of *Artemia* at the highest level when compared to others. Moreover, *P.tricornutum* diet improved polyunsaturated fatty acid production rate of *Artemia*. The increase in Eicosapentaenoic acid (EPA) production was most pronounced in *Artemia* fed by *P.tricornutum*. Salt stress application of microalgae improved EPA production of *Artemia* too. The aminoacids profile of *Artemia* fed by those three microalgae were also analyzed. Specifically, arginine content of *Artemia* extract was highest when it was fed by *D.tertiolecta*, Glycine was highest when it was fed by *I.galbana*, and glutamic acid content was highest when it was fed by *P.tricornutum*.

To conclude, results show that nutritional properties of *A. franciscana* can be increased when salt stress applied *D.tertiolecta*, *I.galbana*, and *P.tricornutum* are used as food source.

Keywords: *Artemia*, Nutrition, Microalgae, Cyanobacteria

1. GİRİŞ

Dünyada 2010 yılında toplam su ürünleri üretim miktarı 148.200.747 ton iken bunun yaklaşık %60'ı avcılık, %40'ı da yetiştiricilikle sağlanmış, 2016 yılında toplam 170.995.437 ton yıllık su ürünleri üretiminin %53'ü avcılık, %47'si de yetiştiricilikle sağlanmıştır (TÜİK 2018). Ülkemizde 2000 yılında toplam su ürünleri üretim miktarı 582.376 ton iken bunun yaklaşık %86,4'ü avcılık ve %13,6'sı da yetiştiricilik sayesinde elde ediliyordu. 2010 yılına gelindiğinde 653.080 ton olan toplam su ürünleri üretiminin %74,4'ü avcılık ve %23,6 sı yetiştiricilikten; 2017 yılında üretilen toplam 630.820 ton toplam su ürünleri üretiminin ancak yaklaşık %56'sının avcılıkla ve %44'ünün de yetiştiricilikle sağlandığı anlaşılmaktadır (TÜİK 2018). Böylece zaman içerisinde avcılıkla elde edilen toplam su ürünlerindeki azalmanın yetiştiricilikle karşılandığı ve yetiştiricilikle su ürünleri üretiminin ülkemizde de giderek önem kazandığı ve ancak günümüzde dünya üretim oranlarına yaklaştığı anlaşılmaktadır. Böylece ülkemizde de dünya ile paralel olarak artan nüfusa bağlı olarak ortaya çıkan gıda ihtiyacını karşılamak üzere su ürünleri üretiminin eldesinde yetiştiriciliğe verilen önem de giderek artacak gibi gözükmemektedir.

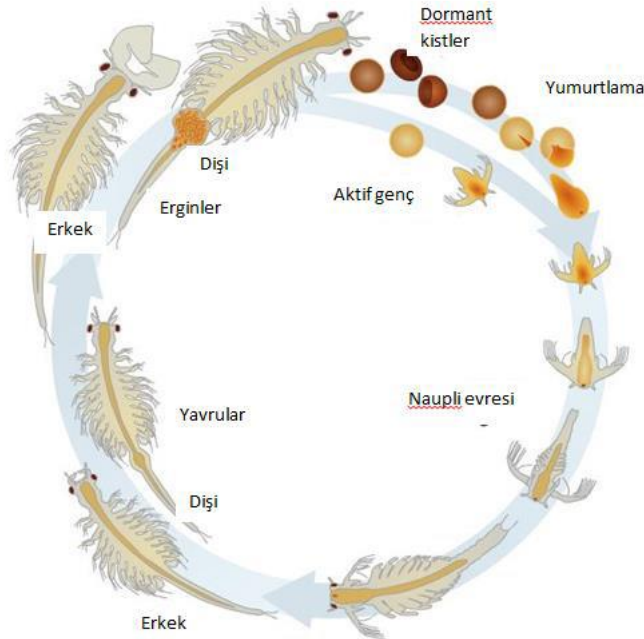
Günümüzde yoğun olarak su ürünleri yetiştiriciliği yapan işletmelerin giderlerinin önemli bir kısmını yem ve yemleme giderleri oluşturmaktadır. Larval beslenme su ürünleri yetiştiriciliğindeki en önemli aşamalardan bir tanesidir (Korkut ve Altan, 2002). Larval beslenmede zooplankton Rotifer (*Brachionus plicatilis*) ve *Artemia salina* (Chakraborty ve Paulraj., 2007); kladoserlardan *Moina macrocarpa*, ve *Daphnia* sp.; kopepodlardan ise *Euterpina acutifrons* ve *Tigriopus japonicus* kullanılmaktadır (Conceição vd., 2006). *Artemia* ise besin değeri ve kalitesi bakımından akvaryum balıkları, tatlı su balıkları ve deniz balıkları üretiminin larva besleme ve büyütme basamaklarında en çok tercih edilen canlıdır. Larval beslenmede *Artemia* günümüz koşullarında hem ülkemizin hem de dünyanın muhtaç olduğu bir canlı haline gelmiştir. Örneğin, çipura yetiştiriciliğinde larva başına 80 adet *Artemia*'ya ihtiyaç vardır (Saka ve Fırat, 2008). *Artemia*'ya olan bu ihtiyaç karşısında hem birim fiyat artışı olmakta hem de *Artemia*'nın doğal stokları tehlike altına girmektedir.

Tuzla karidesi (brine shrimp) olarak bilinen *Artemia*, örihalin ve öriterm bir canlıdır. Ergin bireyler %0.1-%23.5 tuzluluk ve 10-35°C sıcaklık aralıklarında yaşayabilirler. *Artemia* balık kültürlerinde canlı yem olarak 1920'den beri kullanılmaktadır. *Artemia*'nın yaşam devri boyunca dayanıklı kistler oluşturmaları ve bu kistlerin inkübasyon ile 24 saat içerisinde canlı yem haline gelebilmesi akuakültürdeki kullanımını yaygınlaştıran bir diğer önemli faktördür. 1970'lerin sonlarına doğru ticari deniz balığı yetiştiriciliğinin gelişmesiyle birlikte *Artemia* kistlerine olan talep yılda birkaç tondan yaklaşık olarak 800 tona kadar ulaşmıştır.

Son yıllardaki kist fiyatları ise hem talebe hem de kistlerin kalitesine göre değişiklik göstermektedir (Lavens ve Sorgeloos, 2000). Üretim kolaylığı ve besin değeri bakımından çok önemli bir canlı yem olan *Artemia*, tüm su ürünleri yetiştiriciliğinde özellikle yavru üretim dönemlerinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Alpbaz vd., 1992). Ayrıca, *Artemia* kolay bulunabilmesi, kullanımının kolay ve hızlı oluşu, saklanması masrafsız olması, su ürünleri üretiminin hemen hemen her safhasında kolaylıkla kullanılabilmesi gibi özelliklerden dolayı, akuakültürde en yaygın olarak kullanılan canlı yemlerdendir. Halen yetiştiriciliği yapılan deniz türlerinin %85'den fazlasında *Artemia* yaygın olarak kullanılmaktadır (Merchie,1996; Sorgeloos vd., 2001). *Artemia* kabuklular ve balık larvaları açısından mükemmel bir besin kaynağıdır. *Artemia* naupliileri ve yetişkinleri çeşitli sucul türlerin besin ihtiyaçlarını karşılamalarından dolayı büyük bir avantaja sahiptirler (Sorgeloos, 1980; Léger vd., 1986; Sorgeloos vd., 1998, 2001).

Artemia'nın taksonomik sınıflandırması;

Alem: Animalia
Şube: Arthropoda
Alt şube: Crustacea
Sınıf: Branchiopoda
Takım: Anostraca
Aile: Artemiidae
Cins: *Artemia*
Tür: *A. salina* (nauplii) (Linnaeus,1758)



Şekil 1. *Artemia*'nın yaşam döngüsü (Casanova, 2011)

Ülkemizde İzmir Çamaltı Tuzlası başta olmak üzere iç göllerimizin birkaçında *Artemia* doğal olarak bulunabilmektedir. Buna rağmen ülkemiz her yıl 50-70 ton arasında *Artemia* ithal etmektedir. Dünyada su ürünleri yetiştiriciliği bakımından ön sırada bulunan Japonya ve Çin gibi ülkelere baktığımızda ise *Artemia*'nın kendi üretim çiftliklerinde üretildiğini görmekteyiz. Bu nedenle Türkiye'deki mevcut *Artemia* üretim alanlarının tespiti ve bu alanlar ile ilgili yapılacak çalışmalar su ürünleri sektörünün geleceği bakımından önem arz etmektedir. *Artemia*'nın dünyada en fazla üretildiği göllerden birisi ABD'deki Great Salt Lake ve San Francisco Körfezi'dir (Üren, 2011). Son zamanlarda ise ekolojik nedenlerle bu göllerden elde edilen *Artemia* miktarlarında azalma meydana gelmiş ve yeni *Artemia* kaynakları aranmaya başlanmıştır.

Dünyada 30.000'ni aşkın mikroalg türünün tanımlanmasına rağmen bu mikroalg türlerinden çok azının güvenilir olup ticari olarak değerlendirildiği bilinmektedir (Christaki vd., 2011; Guedes vd., 2011). Mikroalgler protein, pigmentler, polisakkaritler, vitamin, hidrokarbonlar ve yağ asitleri gibi ekonomik olarak değerli kabul edilen birçok metaboliti hücre içerisinde biriktirebilme özellikleri sayesinde son yıllarda akademik çalışmalarda ilgi çeken canlılar haline gelmişlerdir. Bu özellikleri sayesinde mikroalgler başta insan gıdası olarak kullanılmasının yanı sıra akuakültür, tarım, eczacılık, kozmetik, atık su arıtımı gibi birçok alanda da kullanılabilmektedir. Mikroalgler içerdikleri yüksek protein değeri, hızlı üreyebilme ve kolay üretilibilmelerinden dolayı özellikle ülkemizde ve dünyada su ürünleri yetiştiriciliğinde alternatif bitkisel bir hammadde olarak kullanılmaktadır (Guedes ve Malcata, 2012). Yaklaşık olarak 2-20 mikron büyüklükleri arasında değişebilen mikroalg türleri kabukluların, karides, rotifer, kopepod türlerinin ve larval balıkların beslenmesinde kullanılmaktadır (Korkut ve Altan, 2002). *Artemia*'lar ise suyu filtre ederek beslenirler ve gerek doğal yaşamlarında gerek kültür koşullarında içerdikleri besin kompozisyonlarından ötürü öncelikli olarak fitoplanktonları tercih ederler (Mohebbi, 2010).

Mikroalgler, kabuklu su canlılarının ve bazı balık larvalarının ilk besinidir. Ayrıca, balık beslemede kullanılan rotifer, cladocera veya copepodların besinini oluşturması dolayısıyla fitoplankton üretimi büyük önem taşımaktadır. Mikroalg yerine hazır yemler kullanılmasına yönelik tüm çalışmalara rağmen ticari öneme sahip balık, yumuşakça ve kabukluların çoğunun yetiştiriciliği, hala canlı yem olarak mikroalg kullanımı ve üretimine bağlıdır. Su ürünleri üretiminde mikroalgler, yumuşakça ve kabuklu larvalarının beslenmesinde direkt olarak kullanılırken, balık yetiştiriciliğinde ilk yem olan zooplankton beslenmesinde kullanılırlar. Dolayısıyla su ürünleri yetiştiriciliğinde ilk ürün olarak kullanılan besinin (mikroalg) besinsel değeri tüm zincirin besinsel değerlerini etkileyen önemli bir faktördür.

Bu araştırma projesi kapsamında, ülkemizde saha çalışmalarıyla saflaştırılarak kültüre alınmış *Dunaliella*, *Isochrysis*, *Phaeodactylum*, *Tetraselmis*, *Nannochloropsis*, *Spirulina*, *Synechocystis*, *Synechococcus*, *Chlamydomonas*, *Chlorella* ve *Scenedesmus* ve *Haematacoccus* cinslerine ait 20 farklı mikroalg ve siyanobakteri türü kullanılarak ülkemizde *Artemia* yetiştiriciliği için bu türlerin; saf ve karışık kültürler halinde, ve/veya yapılan stres uygulamaları ile besinsel özellikleri değiştirilmiş mikroalglerin kullanım potansiyellerinin tanımlanması ve böylece besinsel içeriği zenginleştirilmiş *Artemia*'ların üretimi için yenilikçi bir organik yaklaşım getirilmesi amaçlanmıştır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

Entansif balık ve kabuklu yetiştiriciliğinde yumurta kesesi çekilmiş larvalar (kefal, sazan, mersin, çipura, levrek, mercan, karides, yengeç vs.) ilk beslenme periyodunda canlı yeme gereksinim duymaktadır. Canlı yemle beslenme sürelerinin ise balık ve kabuklu larvalarında türlere göre farklılıklar gösterdiği bilinmektedir (Atay, 1994; Alpbaz, 2005). Balıkların yanı sıra günümüzde çift kabuklu su canlılarının beslenmesinde kullanılan tek hücreli alglerin yerine tam olarak geçebilecek bir besin bulunamamıştır (Bayne 1965; Babinchak ve Ukeles 1979; Pechenik vd., 1990). Kabukluların metabolik faaliyetleri ve gelişip büyüebilmeleri için ihtiyaç duyduğu nütrientlerin algal besinler ile sağlanması fitoplanktonun kabuklu beslemesindeki önemini açıkça ortaya koymaktadır (Fidalgo vd., 1994; Hindioğlu vd., 2001).

Artemialar, nauplii safhasında %52±8.8 protein, %18.9±4.5 lipit, %14.8±4.8 karbohidrat ve %9.7±4.6 kül içerirken yetişkin *Artemialar* ise 56.4±5.6 protein, %11.8±5.0 lipit, %12.1±4.4 karbohidrat ve %17.4±6.3 oranında kül içermektedir (Leger vd., 1986). Ayvalık tuzlasında bulunan *Artemia* naupliileri ise canlı yemlerde bulunması istenen palmitik asit (16:0), palmitoleik asit (16:1), stearik asit (18:0), oleik asit (18:1), linoleik asit (18:2), linolenik asit (18:3), Araşidonik asit (ARA, 20:0), Dekosahekzaenoik asit (DHA, (20:5), nervonik asit (24:1)'e sahiptirler (Koru, 2006).

Denizlerde ve tatlı sularda süspanse maddenin canlı kısmını oluşturan planktonik organizmalar, kendi başlarına hareket edemeyen ancak su hareketleriyle (rüzgarlar, akıntılar vb.) yer değiştirebilen canlılardır. Planktonik formların bitkisel üyelerini teşkil eden fitoplankton türleri ise akuatik habitatteki en önemli organik madde üreticileridir (Oswald, 1980). Besin zincirinin temelini oluşturan bu organizmaların verimliliği, besin zincirinin diğer halkalarını etkiler ve daha üst beslenme düzeylerindeki üretimin sınırlarını belirler (Cirik ve Gökpinar, 2008).

Mikroalgler hücrelerinde biriktirdikleri protein, vitamin, yağ asitleri, karbohidrat, mineral, pigment, hidrokarbon, sterol, enzim, antibiyotik ve polisakkaritler nedeni ile günümüzde başta insan beslenmesi olmak üzere, tıp, eczacılık, tarım, kozmetik, atık su arıtımı ve akuakültür gibi birçok alanda kullanılmaktadır (Grinstead vd., 2000; Atay, 1984).

Su ürünleri üretiminde mikroalgler, yumuşakça ve kabuklu larvalarının beslenmesinde direkt olarak kullanılırken, balık yetiştiriciliğinde ilk yem olan zooplankton beslenmesinde indirekt olarak kullanılırlar. Balık larvalarının beslenmesinde kullanılan mikroalglerde, balık larvaları için yüksek besin değerinin olması, algin boyutu ve sindirilebilirliğine uygun olması, kolayca yetiştirilebilmesi, yapay ortamda yüksek bir üreme hızına sahip olması,

yoğun üretime uygun olması ve zehirli madde üretmemesi özelliklerinin bulunması gereklidir (Moretti vd., 1999).

Artemiaların beslenmesinde genellikle *Dunaliella* (Mason, 1963; Persoone ve Sorgeloos, 1975; Vanhaecke ve Sorgeloos, 1989), *Isochrysis* (Wickins, 1972) ve *Chaetoceros* (Juarez Carrillo, 1995) canlı olarak kullanılmaktadır. *Spirulina* ve *Scenedesmus* gibi mikroalgler ise (Person Le Ruyet, 1976; Claus vd., 1979) kurutulmuş olarak *Artemia* beslenmesinde kullanılmaktadır. Bu mikroalglerin yanısıra Bacillariophyceae sınıfına ait *Phaeodactylum*, Haptophyceae sınıfına ait *Coccolithus*, Chrysophyceae sınıfına ait *Pavlova* (*Monochrysis*), Prasinophyceae sınıfına ait *Tetraselmis*, Chlorophyceae sınıfından ise *Brachiomonas*, *Chlamydomonas*, *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Nannochloropsis* türleride *Artemia* beslemesinde kullanılmaktadır (De Pauw ve Persoone, 1988).

Akdeniz ülkelerinde deniz balıklarının, özellikle çipura ve levrek balıklarının yetiştiriciliğinde yaygın olarak üretimi yapılan mikroalg türleri ise *Chaetoceros calcitrans*, *Skletonema costatum*, *Isochrysis galbana*, *Isochrysis* sp.(Tahiti hattı), *Pavlova* (*Monochrysis*) *lutheri*, *Tetraselmis suesica*, *Tetraselmis chuii*, *Tetraselmis tetrathele*, *Chlorella* sp., *Dunaliella tertiolecta*, *Nannochloropsis gaditana* ve *Nannochloropsis oculata* türleridir (Moretti vd., 1999).

Ülkemizdeki balık çiftliklerinde ise genellikle *Tetraselmis* sp., *Nannochloropsis* sp. ve *Isochrysis* sp. kullanılmaktadır. Tüm bu mikroalg türleri boyutlarının uygunluğu, besin değerlerinin yüksekliği, üretimin kolaylığı, toksisite gibi negatif yan etkileri bulunmaması nedeniyle tercih edilmektedirler (Moretti vd., 1999).

Özellikle *Tetraselmis*, deniz canlılarının beslenmesinde uyarıcı bir amino asit içermesinden dolayı *Artemianın* beslenmesinde tercih edilmektedir. *Isochrysis* ise *Artemia* beslenmesinde, uygun büyüklükte olduğu için tercih edilmektedir. *Nannochloropsis* ise yüksek EPA değerinden dolayı *Artemia* besini olarak tercih edilmektedir (Apt ve Behrens, 1999). Ayrıca, *Chaetoceros* ve *Dunaliella* bazı karides çiftliklerinde vitamin miktarını arttırmak için kullanılmaktadır (Hirayama vd., 1979; Herawati vd., 2014).

Dunaliella salina ile beslenen *Artemia* sp. yüksek miktarda protein ve karbohidrat içerirken *Chaetoceros calcitrans* ile beslenenlerde ise yüksek miktarda lipid birikimi gözlenmiştir. Ayrıca *D. salina* ile beslenen *Artemia*’lar yüksek miktarda beta-karoten ihtiva etmektedir (Hannah vd., 2013). *Artemia*, *Isochrysis galbana*’nın farklı konsantrasyonları ile beslenmiş

ve fazla besin konsantrasyonu *Artemia*'nın büyümesinde artış sağlamamıştır (Evjemo ve Olsen,1999).

Artemianın ÇDYA içeriğinin artırılmasında uygun besin maddeleri ve miktarının ortaya konulması, hedef balık türünün larva dönemindeki büyümeye etkisi önemlidir. Özellikle yetiştiriciliği zor ve yaşama oranı düşük olan su ürünlerinde seçilen besin kaynaklarının esansiyel yağ asidi bakımından zengin olması veya zenginleştirilmiş yemlerin kullanılması başarıyı artırmıştır (Aras vd., 2002).

Herbir mikroalg türünün besin değeri onun bileşimi,organizmanın metabolik tüketimi ve besinsel ihtiyaçlar arasındaki ilişkiye bağlıdır ve mikroalglerin besinsel özellikleri, özellikle lipid, karbohidrat ya da protein içerikleri başta makroelement açlığı olmak üzere harici bir stres faktörüne tepkide dinamik olarak değişiklik gösterir (Elibol Çakmak vd., 2014).*Artemia* larvalarıyla algal ürün protein içeriği arasında pozitif bir korelasyon vardır (Claus vd.,1979). Bu araştırma projesi ile de mevcut literatür bilgisine dayanarak çalışmaya konu olan mikroalglerin protein, yağ ve karbohidrat içeriğinin değiştirilmesi ile bu mikroalglerin *Artemialar* tarafından beslenmesi sonucu *Artemiaların* besinsel özelliklerinde meydana gelen değişimlerin bildirilmesi hedeflenmiştir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Mikroalg Kültürleri

Proje kapsamında *Artemia* bireylerini beslemede kullanılan ve İstanbul Medeniyet Üniversitesi mikroalg kültür koleksiyonunda muhafaza edilen 20 farklı mikroalg türünün uygun sıvı kültür ortamlarına aşılınması sağlandı ve böylece mikroalg türleri için stok kültürler hazır duruma getirildi. Mikroalg ve siyanobakteri türlerinin büyüme ortamları ve izole edildikleri yerler Tablo 1’de gösterilmiştir.

Tablo 1. Proje çalışmasında kullanılan mikroalg ve siyanobakteri türleri

Divizyo	Cins	Tür	Büyütme ortamı	İzole edildiği yer	İzolasyon tarih
Chlorophyta	<i>Dunaliella</i>	<i>tertiolecta</i>	JM	Meke Maarı	05.10.13
Chlorophyta	<i>Dunaliella</i>	<i>salina</i>	JM	Meke Maarı	05.10.13
Chromista	<i>Isochrysis</i>	<i>galbana</i>	F2	İzmir Körfezi	12.05.13
Chromista	<i>Isochrysis</i>	sp.	F2	İzmir Körfezi	12.05.13
Chlorophyta	<i>Tetraselmis</i>	<i>chui</i>	F2	Acıgöl	03.07.13
Chlorophyta	<i>Tetraselmis</i>	<i>saueica</i>	F2	Acıgöl, İzmir Körfezi	03.07.13
Heterokontophyta	<i>Nannochloropsis</i>	<i>occulata</i>	F2	Acıgöl	05.04.13
Cyanobacteria	<i>Spirulina</i>	<i>platensis</i>	Zarrouck	Nemrut Gölü	10.07.13
Cyanobacteria	<i>Synechocystis</i>	sp.	BG11	Acıgöl	15.01.13
Cyanobacteria	<i>Synechococcus</i>	sp.	BG11	Acıgöl	15.01.13
Heterokontophyta	<i>Phaeodactylum</i>	<i>tricornutum</i>	F2	Acıgöl, Edremit körfezi	03.07.13 21.06.2013
Chlorophyta	<i>Chlamydomonas</i>	<i>reinhardtii</i> CC-124	TAP	Narlıgöl	03.07.13
Chlorophyta	<i>Chlamydomonas</i>	<i>reinhardtii</i> CC1690	TAP	Narlıgöl	03.07.13
Chlorophyta	<i>Chlorella</i>	sp. ARM0029B	BG11	Aygır Gölü	12.10.13
Chlorophyta	<i>Chlorella</i>	<i>variabilis</i>	BG11	Narlıgöl	05.04.13
Chlorophyta	<i>Chlorella</i>	<i>vulgaris</i> C-27	BG11	Nemrut Gölü	10.04.13
Chlorophyta	<i>Haematococcus</i>	<i>pluvialis</i>	BG11	Narlıgöl	05.04.13
Chlorophyta	<i>Scenedesmus</i>	<i>obliquus</i>	BBM	Gölcük	14.01.13
Chlorophyta	<i>Scenedesmus</i>	<i>acutus</i>	BBM	Narlıgöl	05.04.13
Chlorophyta	<i>Scenedesmus</i>	<i>dimorphuus</i>	BBM	Narlıgöl	05.04.13

Artemia bireylerinin beslenmesinde kullanılan mikroalg türleri stok kültürlerinden belirlenen miktarlarda alınarak 1 lt’lik erlenmayerler içerisinde bulunan 500 ml’lik uygun kültür ortamlarına (Tablo 1’de gösterilen) aşılandı. *Dunaliella tertiolecta* ve *Dunaliella salina* JM (Johnson vd., 1968); *Isochrysis galbana*, *Isochrysis* sp., *Tetraselmis chuii*, *Tetraselmis suesica*, *Nannochloropsis oculata* ve *Phaeodactylum tricornutum* türleri F2 (Guillard ve Ryther 1962; Guillard, 1975); *Chlamydomonas reinhardtii* CC-125 ve *Chlamydomonas reinhardtii* CC-1690 türleri TAP (Andersen, 2005; Harris, 1989);

Spirulina platensis türü Zarrouck (Dineshkumar vd., 2016); *Synechocystis* sp., *Synechococcus* sp., *Chlorella* sp. ARM0029B, *Chlorella variabilis*, *C. vulgaris* C27 ve *Haematacoccus pluvialis* türleri BG-11 (Kuhl ve Lorenzen, (1964), *Scenedesmus obliquus*, *Scenedesmus acutus*, *Scenedesmus dimorphus* türleri ise BBM (Bischoff ve Bold (1963) kültür ortamlarına aşılanmıştır. Mikroalg kültürleri, içerisinde 100ml büyütme ortamı bulunan 250ml erlenlerde, 120rpm devir hızına ayarlanmış sıcaklık-ayarlı (25 ± 1 °C) çalkalayıcıda (Sartorius, Certomat BS-T, USA) sürekli ışık altında ($100 \mu\text{E}/(\text{m}^2/\text{s})$) yetiştirilmiştir.

Mikroalg ve siyanobakterilerin büyüme değerlerinin belirlenmesi için tek hücreli mikroalglerin büyüme eğrisinin çıkarılmasında katı ortamdan sıvı ortama ekilerek 4 gün boyunca inkübasyona bırakılmış sıvı hücre kültüründen hücreler Neubauer sayma kamerası kullanılarak sayılmış ve yeni kültür 250ml'lik erlen mayer'lerde 3×10^4 hücre ile toplam 125 ml hacimde olmak üzere ilgili büyütme ortamları kullanılarak başlatılmıştır. İnkübasyonun 1., 3., 5., 7., 10., 15., 20., 30., günlerinde 3 ml mikroalg örneği alınarak 680 ve 720 nm dalga boylarında absorbans ölçümleri yapılmış ve değerler kaydedilmiştir. İki dalga boyundan daha iyi absorbans değerleri kaydedilen veriler kullanılmıştır. Böylece tek hücreli mikroalg ve siyanobakteriler için büyüme eğrileri çıkarılmıştır. Ölçümler ile elde edilen absorbans verileri, aşağıdaki formülasyonda kullanılarak ikiye katlanma süreleri ve spesifik büyüme hızları (günlük büyüme hızı) hesaplanmıştır.

3.2 Mikroalg Türlerine Ait Spesifik Büyüme Hızlarının Belirlenmesi

Mikroalg ve siyanobakterilerin ikiye katlanma süreleri, büyüme oranları ve bölünme hızlarının belirlenmesi amacıyla net olarak en yüksek büyüme hızının görüldüğü iki dar zaman aralığında alınan değerleri kullanmak yerine eksponensiyel büyümenin görüldüğü 3-10. günlerde alınan veriler kullanılmıştır. Böylece genel olarak eksponensiyel evrede meydana gelen büyüme değişimleri daha açık sunulmuştur.

$$\text{ikiye katlanma süresi} = (t_y - t_x) / \log_2 (N_y / N_x)$$

$$\text{Büyüme oranı } (\mu) = (\ln N_y - \ln N_x) / (t_y - t_x)$$

$$\text{Bölünme hızı} = \mu / \ln(2)$$

*Formülde N_y ve N_x ; absorbans değerleri; t_y ve t_x ise ölçümün alındığı son ve ilk zamanı gösterir (Wood vd., 2005; Elibol Çakmak vd., 2014).

3.3 Mikroalg ve Siyanobakterilerin *Artemia franciscana*'nın Beslenmesinde Kullanılmak Üzere Hazırlanması

Artemia beslenmesi için yukarıda belirtilen koşullarda kültüre alınan mikroalg ve siyanobakteriler eksponensiyal büyüme evresinde iken (inkübasyonun 5-10. günleri) kullanılmak üzere hücre sayıları Neubauer sayma kamarası ile 3 tekrarlı olarak sayıldı. Mikroalg kültürlerinden belirli miktarlarda hücre alınarak etiketlenmiş santrifüj tüplerine aktarıldı ve 3000 rpm'de 5 dakika 2 kez yıkama yapılarak santrifüj edildi. Üst kısmındaki supernatant dökülerek pellet kısım *Artemia* bireylerinin beslenmesinde kullanılmak üzere ya doğrudan kullanıldı ya da ilerleyen günlerde kullanılmak üzere belli hücre sayılarına karşılık gelecek hacimde mikroalg/siyanobakteri solüsyonu alınarak -86°C'de muhafaza edildi. Muhafaza edilen mikroalgler besin olarak kullanılacakları zaman dondurucudan çıkarılarak oda koşullarına gelmesi beklendi ve deneme grupları bu mikroalg türleri ile beslenmiştir.

3.4 Mikroalg ve Siyanobakterilerin Kuru Ağırlık, Toplam Lipid, Nişasta ve Protein İçeriklerinin Analizi

3.4.1 Kuru Ağırlık

Mikroalglerin kuru ağırlıklarının belirlenmesinde türe göre farklılık göstermek üzere inkübasyonun 5-10. günlerinde sıvı kültürden santrifüjlenerek elde edilen 1gr yaş mikroalg örneğinin 80°C'de 48 saat kurutulması sonrası elde edilen tartım değerleri belirlenerek hesaplanmış, her örnek için en az üç tekrar olmak üzere toplamda en az 9 tekrar ile elde edilen sonuçların ortalaması olarak alınan değerler sunulmuştur

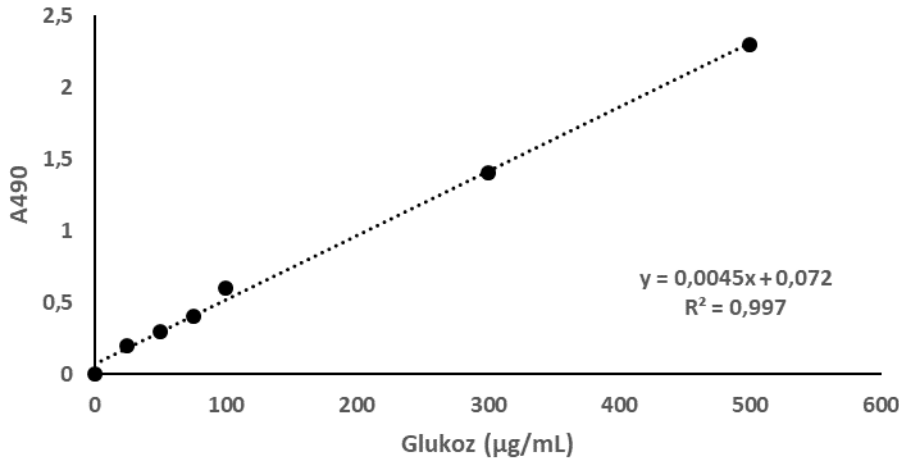
3.4.2 Toplam Lipid

Toplam lipid miktarları Bligh ve Dyer (1959)'a göre tespit edilmiştir. 500 mg mikroalg örneği 10 ml metanol içerisinde vortekslenerek, 5 ml kloroform ve 1 ml ddH₂O ilave edilip 1 dakika boyunca vortekslendi. Daha sonra santrifüj edildi (5000 rpm, 15dk) ve üst kısımda bulunan metanol/su tabakası uzaklaştırıldı. Alt kısımdaki metanol/kloroform tabakası ise temiz bir tüpe aktarıldı. Elde edilen lipid sıvısı Whatmann no 1 filtre kağıdı kullanılarak filtrelendi ve rotary evaporator kullanılarak (50°C sıcaklık ve düşük basınç altında) metanol ve kloroformun buharlaştırılması sağlandı. Tüpler tekrar tartılarak lipid miktarı ağırlıksal olarak hesaplandı. Örnekte bulunan lipid miktarının yüzde olarak hesaplanmasında ise aşağıdaki formül kullanıldı

$$\text{Lipid yüzdesi} = (\text{ekstrakt edilen lipid miktarı (gr)} / \text{mikroalg örnek ağırlığı (g)}) \times 100$$

3.4.3 Toplam Nişasta

Sıvı kültürden toplanarak santrifüjlenmiş ve 80°C de 48 saat kurutulmuş olan mikroalg örneklerinden 50 mg tartılarak alınmış nişasta ekstraksiyonu için örnekler üzerine 10 kat hacimde etanol ilave edilerek 90°C'ye ayarlanmış su banyosu içerisinde, inkübasyon süreleri değişmekle birlikte örnekler tümüyle homojenize olup, mikroalg/etanol çözeltisi tümüyle renksiz bir hal alıncaya kadar inkübe edilmiştir (süre örneğe göre 10 dk ile 70 dk arasında değişmiştir). İnkübasyondan sonra eşit hacimde %35'lik perklorik asit ilave edilmiş, 5 dk vorteksledikten sonra 2 ml H₂SO₄ ilave edilerek 3 dk daha karıştırılan örnekler süzülerek 490 nm dalga boyunda absorbans ölçümleri yapılmıştır. Elde edilen değerler glukoz standartları (Şekil 2) kullanılarak % nişasta % kuru ağırlık olarak sunulmuştur. (Rose vd., 1991).

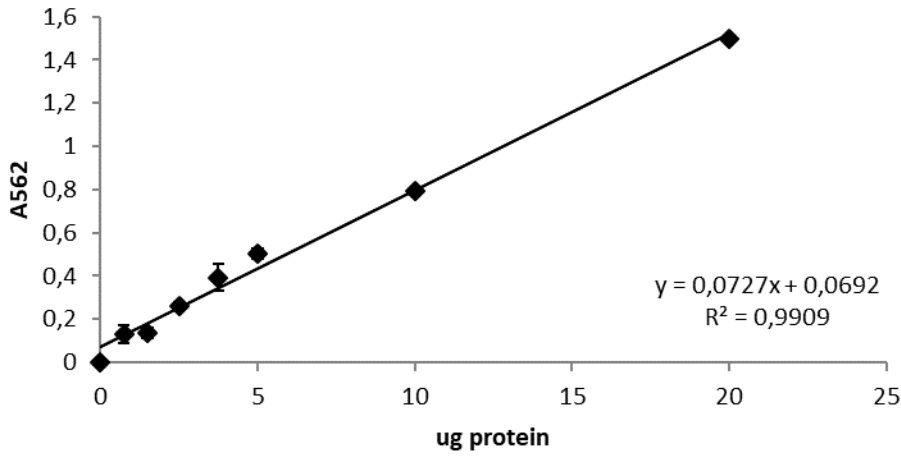


Şekil 2. Toplam karbohidrat tayini için kullanılmış olan standart grafik.

3.4.4 Toplam Protein

Bu amaçla liyofilize edilmiş mikroalg örnekleri liziz tamponu (50 mM Tris-HCl pH 8,0, 2% SDS, 10 mM EDTA, ve protease inhibitor mix) içerisinde yeniden süspanse edilmiş, 1 dk boyunca sonikasyona maruz bırakılmış (%60 güç 7W/pin) ve 4°C sıcaklıkta 13000rpm devir hızında santrifüjlenmiştir. Örneklerdeki protein miktarı Bichinoninic asit (BCA) metodu kullanılarak belirlenmiştir (Smith, 1985). Çalışma solüsyonu karışımı olarak 1 kat %4 bakır sülfat / 50 kat Bicinoninic asit solüsyonu (Sigma) oda sıcaklığında karanlıkta saklandı. Standart için 0,5 mg/ml Bovin Serum Albumin çözeltisinden kuyucuklara sırasıyla 0, 1,5, 3, 5, 7,5 ve 10 µl ilave edilerek son hacim saf suyla 10 µl'ye tamamlandı. Mikroalg ekstraktlarından 5 µl alınarak 96 kuyucuklu mikropalakaya aktarıldı ve son hacim

10 µl'ye tamamlandı. Hazırlanmış olan çalışma solüsyonundan 190 µl alınarak örnekler ve standartların üzerine ilave edildi. İçerisinde standart ve örnekler bulunan 96 kuyucuklu mikrolarka 60°C de 30 dk boyunca inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon sonunda örnekler 5 dk oda sıcaklığında bekletilmiş ve meydana gelen renk değişimi 562 nm de okunmuştur. Elde edilen değerler, Bovin serum albumin ile hazırlanmış olan standart grafikten yola çıkılarak (Şekil 3) mikroalg örneklerinin protein değerleri mg protein/gr örnek olacak şekilde hesaplandı.

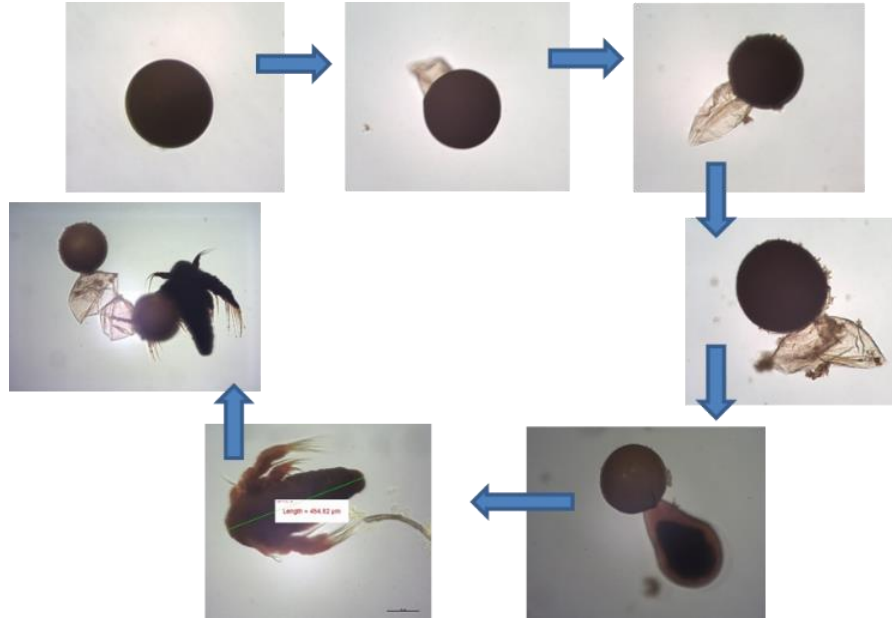


Şekil 3. Protein tayini için hazırlanmış standart grafik

3.5 *Artemia* Kistlerinin Açılması Ve Kuluçkalanması

Proje kapsamında kullanılan *Artemia franciscana* kistleri ticari bir firmadan temin edildi ve kistlerin dekapülasyon işlemi gerçekleştirildi. Kistler saf suda 25°C sıcaklıkta 60-90 dakika bekletildikten sonra sodyum hipoklorit solüsyonu içerisine atıldı. Kistlerin rengi turuncuya dönmeye başladığında sodyum hipoklorit içerisinden alınarak İstanbul-Maltepe sahilden alınan deniz suyu ile yıkandı. Yıkanan kistler % 0.1'lik sodyum tiyosülfat içerisinde 1 dakika bekletilerek kistlerin etrafında kalan klor nötralize edildi (Cirik ve Gökpınar, 2008). Kistler tekrar yıkandıktan sonra kuluçkalandı.

Kuluçkalama işlemi için 4 litrelik kap içerisinde %34 tuzluluğa 3 lt'lik ortama 9 gr *Artemia* kisti eklendi. Kistlerin olduğu kapların bir hava motoru ile kuvvetli bir şekilde sürekli olarak havalandırılması ve sürekli olarak aydınlatılması sağlandı. Su sıcaklığını 28°C 'de sabitleyebilmek için ise su banyosu kullanıldı. Kistler bu şartlar altında kuluçkalandıktan 1 gün sonra nauplilerin kistlerin içerisinden çıktığı gözlemlendi (Şekil 4). Nauplilerin hasadı için erlenmayerde bulunan ortam *Artemia* çıkartma kabına aktarılarak açılmayan kistlerin nauplilerden ayrılması sağlandı (Şekil 5).



Şekil 4. *Artemia franciscana* türünün kistten çıkma safhalarının mikroskopik görüntüsü



Şekil 5 Nauplileri ayırmada kullanılan *Artemia* çıkartma kabı

Kistten çıkan nauplilere sırası ile aşağıdaki işlemler uygulanmıştır;

1. Nauplilerin pozitif fototaksi özelliklerinden faydalanarak önceden hazırlanmış % 34 tuzluluk ve 26°C sıcaklığa sahip ortam içeren bir kaba nauplilerin bir hortum yardımı ile sifonlanarak aktarılması sağlandı. Böylece mikroalg ile besleme denemelerinde kullanılacak stok nauplilerin yeni ortama transferleri gerçekleştirildi (Şekil 6).



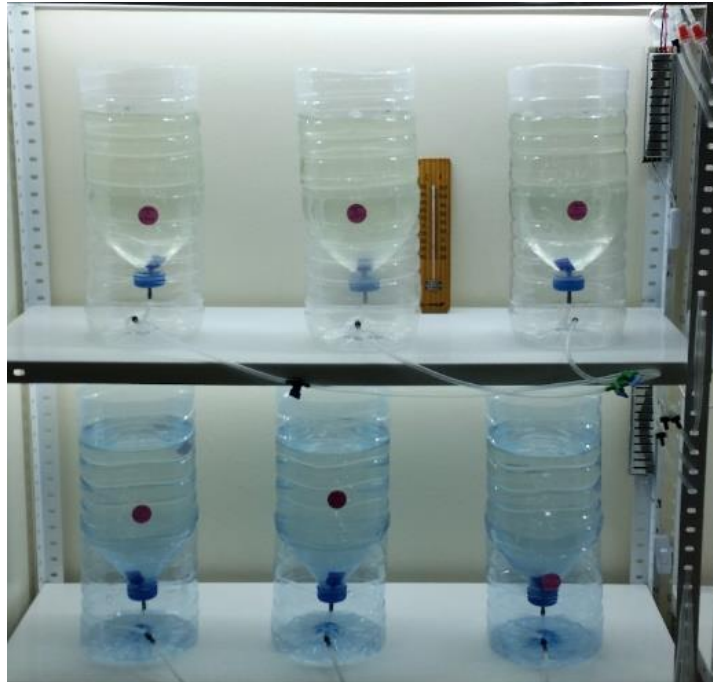
Şekil 6. *Artemia franciscana* bireylerinin fototaksi özelliği

2. Kistten çıkan nauplilere 24 saat boyunca hiç bir besin takviyesi yapılmadan besin keselerini tüketmeleri sağlandı.
3. Bu sırada nauplileri içeren kabın bir hava motoru ile havalandırılması sağlandı.
4. 24 saatin sonunda stok naupli miktarını belirlemek amacı ile havalandırmanın olduğu kısımdan üçer defa 1 ml örnek alınarak ependorf tüplere aktarıldı. Her bir ependorf tüpe 2 damla lugol çözeltisi damlatılarak *Artemia* nauplilerinin dibe çökmesi için birkaç dakika beklenildi (Makridis ve Vadstein, 1999).
5. Naupliler sedgewick rafter sayma kamarasına bir pipet yardımı ile aktarılarak üç tekrarlı olarak sayıldı ve mililitredeki naupli sayısı hesaplandı.
6. Stok nauplilerden 10 adet birey alınarak görüntü analiz sisteminde boy ölçümleri yapıldı.
7. Ayrıca stoktan belirli miktardaki naupli yaşam döngüsü analizi için ‰34 tuzluluğa sahip 26°C'deki ortama aktarıldı ve ortama hiçbir besin ilavesi yapılmadı. *Artemia* bireylerinin 12 saatte bir boy ölçümü yapıldı. Hiçbir besin takviyesi yapılmayan *Artemia* bireylerinin 72.saatten sonra öldüğü belirlendi.

3.6 *Artemia*'ların Çeşitli Mikroalg Ve Siyanobakteri Türleri İle Beslenmesi

1. Farklı beslenme gruplarını oluşturabilmek için ml'de 35 naupli bulunan stoktan ml'de 2 naupli olacak şekilde deneme grupları oluşturuldu.
2. Denemeler 4L hacme sahip, içerisinde 3L ‰34 tuzlulukta yetiştirme ortamı içeren kaplarda gerçekleştirilmiştir (Şekil 7).

3. Deneme gruplarına 24 saat boyunca hiçbir besin verilmedi. Bu sürede nauplilerin sahip oldukları besin keselerini tüketmeleri sağlandı.
4. Deneme gruplarının sürekli olarak havalandırılması ve aydınlatılması sağlanırken oda koşullarında 26°C olacak şekilde ayarlandı. Denemeler 3 tekrarlı yürütüldü.
5. 24 saat sonunda *Artemia* bireylerini beslemek için farklı mikroalg türleri *Artemia* bireylerinin bulundukları kaba bir pipet yardımı ile eklendi.
6. Mikroalg miktarı *Artemia* bireyi başına günlük 6000 mikroalg olacak şekilde eklendi (Wickins, 1972; Thinh vd., 1999; Chakraborty vd., 2007).
7. Diğer günler ise *Artemia* bireylerinin hayatta kalma oranlarına ve mikroalg tüketme miktarlarına göre hesaplanarak ilave edildi.
8. *Artemia* bireylerinin beslenmesi sabah ve akşam olmak üzere 12 saatte bir gerçekleştirildi.
9. Günde bir defa deneme kaplarının dip kısımları bir pipet yardımı ile atık ve ölü bireylerden temizlendi. Eksilen yetiştirme ortamı belirlenerek %34 tuzluluktaki taze ortam ilavesi gerçekleştirildi.
10. Deneme gruplarına besin ilave edilmeden önce boy ölçümleri için her bir gruptan 10 adet *Artemia* bireyi ependorf tüplere konulup üzerlerine 2-3 damla lugol çözeltisi damlatıldı ve görüntü analiz sisteminde boy uzunlukları ölçüldü.
11. İki günde bir yetiştirme ortamının bir kısmı taze ortam ile değiştirildi ve *Artemia* bireylerinin ml'deki sayısı belirlendi ve hayatta kalma oranları % olarak hesaplandı.



Şekil 7. *Artemia franciscana* besleme denemelerinin gerçekleştirildiği kaplar

3.7 *Artemia*'ların Kuru Ağırlık, Toplam Lipid, Karbohidrat Ve Protein İçeriklerinin Belirlenmesi

Biyomas miktarlarının saptanması için “glass fibre” filtre kağıtları (GF/C), süzme düzeneği ve bir su trombu ile *Artemia*’lar ortamdan ayrılarak yoğunlaştırılmıştır. Filtre kağıtları etüvde 105°C’de 1 saat tutulduktan sonra desikatörde 30 dakika bekletilerek sabit tartıma geçilmiş, 0,0001 g duyarlı analitik terazide daraları ölçülmüştür. Her kültür denemesinden en az 10 örnek alınarak darası alınan filtre kağıtlarından süzölmüş ve etüvde 105°C’de 2 saat tutulmuştur. Daha sonra filtre kağıtları desikatörde bekletilmiş ve 0,0001 g duyarlı terazide tartımları yapılmıştır. Kuru ağırlık tartımlarından filtre kağıtlarının darası çıkarılarak kuru madde miktarları mg/g olarak hesaplanmıştır (Vonshak, 1997).

Artemia bireylerinin içerdikleri toplam lipid miktarları her bir deneme grubuna ait önceden hazırlanmış ve sıvı azotta dondurulmuş 1’er gr örnek üzerinden yukarıdaki prosedür izlenerek Bligh ve Dyer (1959)’a göre yapıldı.

Toplam karbohidrat içeriğini belirlemede fenol sülfirik asit yöntemi kullanıldı. 1 gr *Artemia* homojenizatı deney tüpüne alındı ve 1 ml %5’lik fenol çözeltisi eklendi. Daha sonra vortex ile karıştırılarak 10 dakika beklendi ve 5 ml sülfirik asit eklendi. Reaksiyon sonucu oluşan sıcaklığın düşmesi için bir süre beklendi ve tüp ters çevrilerek karışımın gerçekleşmesi sağlandı. 25 dakika sonra oluşan renk 490 nm’de ölçüldü. Ölçüm için gerekli olan kalibrasyon D-glikoz-monohidrat ile yapıldı (Dubois vd., 1956).

Artemia’ların toplam protein içeriklerinin belirlenmesi amacıyla sıvı azot içerisinde homojenize edilen 0,5 gr *Artemia* biyoması 5ml’lik %10’luk TCA (Trikloroasetik asit) ile çalkalanıp santrifüj edildi ve süpernatant %10’luk SDS (Sodyum dodesilsülfat) ile karıştırılarak ve santrifüjlenerek süpernatant başka bir tüpe aktarıldı. Süpernatanttaki protein miktarı yukarıda belirtildiği şekilde BCA kiti kullanılarak gerçekleştirildi (Smith, 1985).

3.8 Çalışmada Kullanılan *Artemia Franciscana*’nın Beslenmede Tercih Ettiği Türlerin Besinsel İçeriklerinin Değiştirilmesine Yönelik Uygulamalar

Çalışılan türler içerisinde *Artemia franciscana*’nın beslenmede tercih ettiği halofilik *D.tertiolecta* mikroalgi JM besiyerinde, tatlı su mikroalgi olan *C.reinhardtii* CC-1690 türü

TAP büyüme ortamında, diğer denizel türler de F/2 büyüme ortamında kültüre alınmışlardır. Kontrol ortamında kültüre alınan mikroalgler logaritmik büyüme evresinde iken ($A_{680}=1.0$) düşük hızda (2000 rpm, 3dk) santrifüjlenmiş ve eşit miktarda beş gruba ayrılmıştır. Kontrol grubu, N-eksik, S-eksik, P-eksik, ve yüksek tuz uygulanmış gruplar olarak ayrılan mikroalgler 5 gün boyunca kültüre alınmış ve 5 günün sonunda mikroalglerin içerdikleri toplam protein, nişasta ve toplam lipid içerikleri belirlenmiştir. N-eksik, S-eksik ve P- eksik ortamların hazırlanmasında ilgili ortamlardaki N-, S- ve P- kaynakları çıkarılırken tatlı su mikroalgi olan *C.reinhardtii* CC-1690 için 0,2M halofil mikroalg *D.tertiolecta* için 3M, diğer denizel türler için de 1M yoğunlukta NaCl büyüme ortamına ilave edilmiştir.

3.9 Yağ asidi Metil Esterleri (YAME) Analizi

Mikroalg ve *Artemia*'ların yağ asidi profillerinde meydana gelen değişimin belirlenmesi amacıyla yağ asitlerinin ekstraksiyonu, metilleştirilmesi ve analizi için Xu vd. (2010), tarafından önerilen yöntem modifiye edilerek uygulanmıştır. Bu amaçla liyofilize edilmiş 100mg mikroalg ya da *Artemia* biyomas örnekleri kullanılmıştır.

İçerisinde 100mg biyomas bulunan vida kapaklı tüplere 300 µl ekstraksiyon solüsyonu (metanol içerisinde hazırlanmış %2'lik H_2SO_4 çözeltisi) ilave edilmiştir. İnternal standart olarak, kör numune dahil her tüpe 30 µg nonadecanoic acid ilave edilmiştir. Örnekler 2 saat boyunca 80 °C sıcaklıkta termomikser yardımı ile 750 rpm devir hızında sürekli çalkalanarak hücrelerin parçalanması ve lipidlerin açığa çıkması sağlanmıştır. İnkübasyon sonrasında örnekler 10 dk oda şartlarında bekletilmiş ve sıcaklığın düşmesi sağlanmıştır. Tüplerin içerisine 300 µl %0,9 konsantrasyonda NaCl ve 300 µl hekzan ilave edilmiştir. Böylece metanolde bulunan lipidlerin hekzan fazına geçmesi için örnekler 30 sn boyunca vortekslenmiş ve 10 dk boyunca da nutating mikser üzerinde çalkalanmıştır. Daha sonra örnekler 3 dk boyunca 20 °C sıcaklıkta 3000 g devir hızında santrifüjlenmiştir. Son olarak üstteki hekzan tabakasından 150 µl örnek alınarak GC-MS tüplerine aktarılmıştır. Tüplere aktarılan örnekler analiz için Agilent marka GC-MS cihazına yerleştirilmiştir. Ölçüm için cihaza 130°C başlangıç sıcaklık, 240°C ye kadar her 5°C de 5 dk beklenmesi talimatı işlenmiştir. Standart olarak 37 komponentli YAME (Supelco FAME-37) karışımı kullanılmıştır. Ölçüm sonucu elde edilen pikler analiz edilmiş, alan hesaplaması yapılarak belirlenen metil esterlerin yüzdeleri oransal olarak sunulmuştur.

3.10 Örneklerin Aminoasit Kompozisyonlarının Belirlenmesi

Örneklerin aminoasit kompozisyonlarının belirlenmesi için Dimova (2003) ve Yust vd., (2004) tarafından önerilen yaklaşımlardan yararlanılmıştır. Yaklaşık 300mg liyofilize edilmiş örnek 50 ml'lik ağzı kapalı analiz şişesi içerisine alınmış ve 6 N hidroklorik asit

çözeltisinden 20 ml ilave edilmiştir, şişe içine azot gazı verilerek ağzı sıkıca kapatılmıştır ve 24 saat 110°C etüvde hidroliz edilmiştir. Örnek, oda sıcaklığına getirilerek adi filtre kâğıdından süzölmüştür. Süzöntüden 0,2 ml deney tüpüne alınarak azot gazı altında 50°C'de uçurulmuş ve üzerine 0,5 ml asetonitril konarak uçurma işlemi tekrarlanmıştır. Tüp içindeki kalıntıya yaklaşık 0,5 ml asetonitril:metanol:triethylamin karışımı ve 0,1 ml türevlendirme çözeltisinden ilave edilerek 40°C etüvde 30 dakika süreyle türevlendirilmiştir. Azot gazı altında 40°C'de uçurulduktan sonra üzerine 0,2 ml asetonitril ilave edilmiş ve azot gazı altında tekrar uçurulmuştur. Üzerine 5 ml 0,02 M amonyum asetat çözeltisi ilave edilmiştir. 0,2 µm filtreden süzülerek Ultra hızlı sıvı kromatografisi cihazına (UFLC) enjekte edilmiştir (10 µl). Standart olarak 18 komponentli aminoasit karışımı (Supelco AAS18) kullanılmıştır. UFLC kolon sıcaklığı 40°C, akış hızı 1 ml/dakika, UV dedektör kullanılmış ve 250-450nmde aminoasit yoğunlukları belirlenmiştir. Mobil Faz A (0,78 g/L NaH₂PO₄ + 0,88g/L Na₂HPO₄, pH=6,8) ve Mobil Faz B (Asetonitril) kullanılan kolonun tipine göre aşağıdaki şekilde akış programları uygulanmıştır.

Agilent, Eclipse XDB-C18.5 µm, 4x6x150 mm kolon kullanılıyorsa Gradient Program		
Zaman (dakika)	Mobil Faz A (%)	Mobil Faz B (%)
0.01	100	0
13.00	85	15
22.00	75	25
26.00	70	30
28.00	40	60
38.00	100	0

ACE 5 C18, 250x4.6mm, 5 µm kolon kullanılıyorsa Gradient Program		
Zaman (dakika)	Mobil Faz A(%)	Mobil Faz B (%)
0.01	96	4
15.00	84	16
22.00	65	35
26.00	60	40
28.00	40	60
30.00	40	60
33.00	40	60
33.01	96	4
40.00	96	4

3.11 İstatistiksel Hesaplamalar

Grafiklerde belirtilen değerler en az 3 farklı kültürden iki farklı zamanda alınmış verilerin ortalamasıdır (n≥6). Uygulamalı gruplar arasındaki istatistiksel farklılıklar Student ttest (2;2) analizi ile belirlenmiştir. Bazı durumlarda çoklu uygulamalar arasındaki farklılığın karşılaştırılması için tek yönlü ANOVA ve Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır (P<0,05).

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

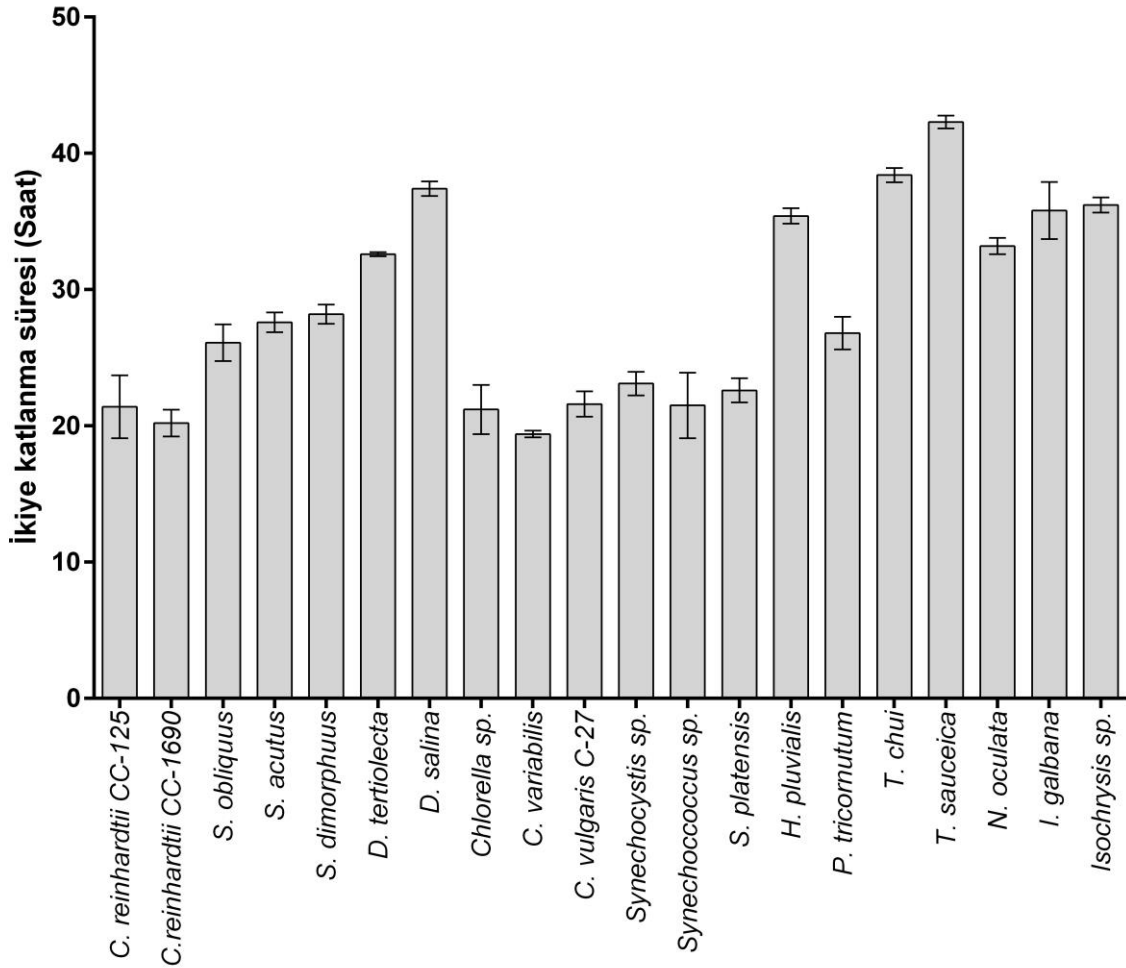
4.1 Saf Mikroalg Kültürlerinin Büyüme Değerleri (İkiye Katlanma Süresi, Büyüme Oranı Bölünme Hızları)

Proje kapsamında kullanılan 20 adet mikroalgın gelişimi optik yoğunluk ölçümleri ile belirlenmiştir. Optik yoğunluk verilerinden yararlanarak mikroalglerin ikiye katlanma süreleri, spesifik büyüme oranları ve bölünme hızları hesaplandı. Mikroalg kültürleri logaritmik büyüme evresinde iken (5-10. günlerde) *Artemia franciscana*'nın beslenmesinde kullanılmak üzere hasat edildi. Mikroalglerin logaritmik evrede ikiye katlanma süreleri ve günlük spesifik büyüme oranları ile bölünme hızları Tablo 2'de sunulmuştur.

Tablo 2. Mikroalg türlerine ait logaritmik evrede ikiye katlanma süreleri, günlük spesifik büyüme oranları ile bölünme hızları. (en az 3 farklı ölçümden elde edilen sonuçların ortalamaları $\pm$ standart sapma değerleri ile birlikte sunulmuştur).

Türler	İkiye Katlanma Süresi (Saat)	Spesifik Büyüme oranı (μ)	Bölünme hızı/gün
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> CC-125	21,4 $\pm$ 2,3	0,78	1,12
<i>C.reinhardtii</i> CC-1690	20,2 $\pm$ 0,9	0,82	1,19
<i>Scenedesmus obliquus</i>	26,1 $\pm$ 1,3	0,64	0,92
<i>Scenedesmus acutus</i>	27,6 $\pm$ 0,7	0,60	0,87
<i>Scenedesmus dimorphuus</i>	28,2 $\pm$ 0,7	0,59	0,85
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	32,6 $\pm$ 0,2	0,51	0,74
<i>Dunaliella salina</i>	37,4 $\pm$ 0,5	0,44	0,64
<i>Chlorella</i> sp.	21,2 $\pm$ 1,8	0,78	1,13
<i>Chlorella variabilis</i>	19,4 $\pm$ 0,2	0,86	1,24
<i>Chlorella vulgaris</i> C-27	21,6 $\pm$ 0,9	0,77	1,11
<i>Synechocystis</i> sp.	23,1 $\pm$ 0,9	0,72	1,04
<i>Synechococcus</i> sp.	21,5 $\pm$ 2,4	0,77	1,12
<i>Spirulina platensis</i>	22,6 $\pm$ 0,9	0,74	1,06
<i>Haematococcus pluvialis</i>	35,4 $\pm$ 0,6	0,47	0,68
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	26,8 $\pm$ 1,2	0,62	0,90
<i>Tetraselmis chui</i>	38,4 $\pm$ 0,5	0,43	0,63
<i>Tetraselmis suecica</i>	42,3 $\pm$ 0,5	0,39	0,57
<i>Nannochloropsis oculata</i>	33,2 $\pm$ 0,6	0,50	0,72
<i>Isochrysis galbana</i>	35,8 $\pm$ 2,1	0,46	0,67
<i>Isochrysis</i> sp.	36,2 $\pm$ 0,6	0,46	0,66

Mikroalglerin ikiye katlanma süreleri aynı zamanda aşağıda şekil olarak da sunulmuştur (Şekil 8). Çalışılan mikroalglerin bölünme hızlarını dinamik olarak sergileyen ikiye katlanma süreleri ortalama 28,5 saat olarak belirlenmiştir. Çalışmaya konu olan mikroalgler içerisinde en yüksek büyüme hızını 19,4 saatlik ikiye katlanma süresi ve 1,24 kat/gün bölünme hızı ile *Chlorella variabilis*, en düşük büyüme hızını da 42,3 saat olan ikiye katlanma süresi ve 0,57 kat/gün bölünme hızı ile *Tetraselmis sauceica* türü göstermiştir.



Şekil 8. Çalışmada kullanılan mikroalglerin ikiye katlanma süreleri.

4.2 Mikroalglerin Kuru Ağırlık, Protein, Nişasta Ve Lipid İçerikleri

Mikroalglerin kuru ağırlıklarının belirlenmesinde türe göre farklılık göstermek üzere inkübasyonun 5. gününde sıvı kültürden santrifüjlenerek elde edilen 1gr yaş mikroalg örneğinin 80°C'de 48 saat kurutulması sonrası elde edilen tartım değerleri belirlenerek hesaplanmış, her örnek için en az üç tekrar olmak üzere toplamda en az 9 tekrar ile elde edilen sonuçların ortalaması olarak alınan değerler sunulmuştur. Örneklerin kuru ağırlık

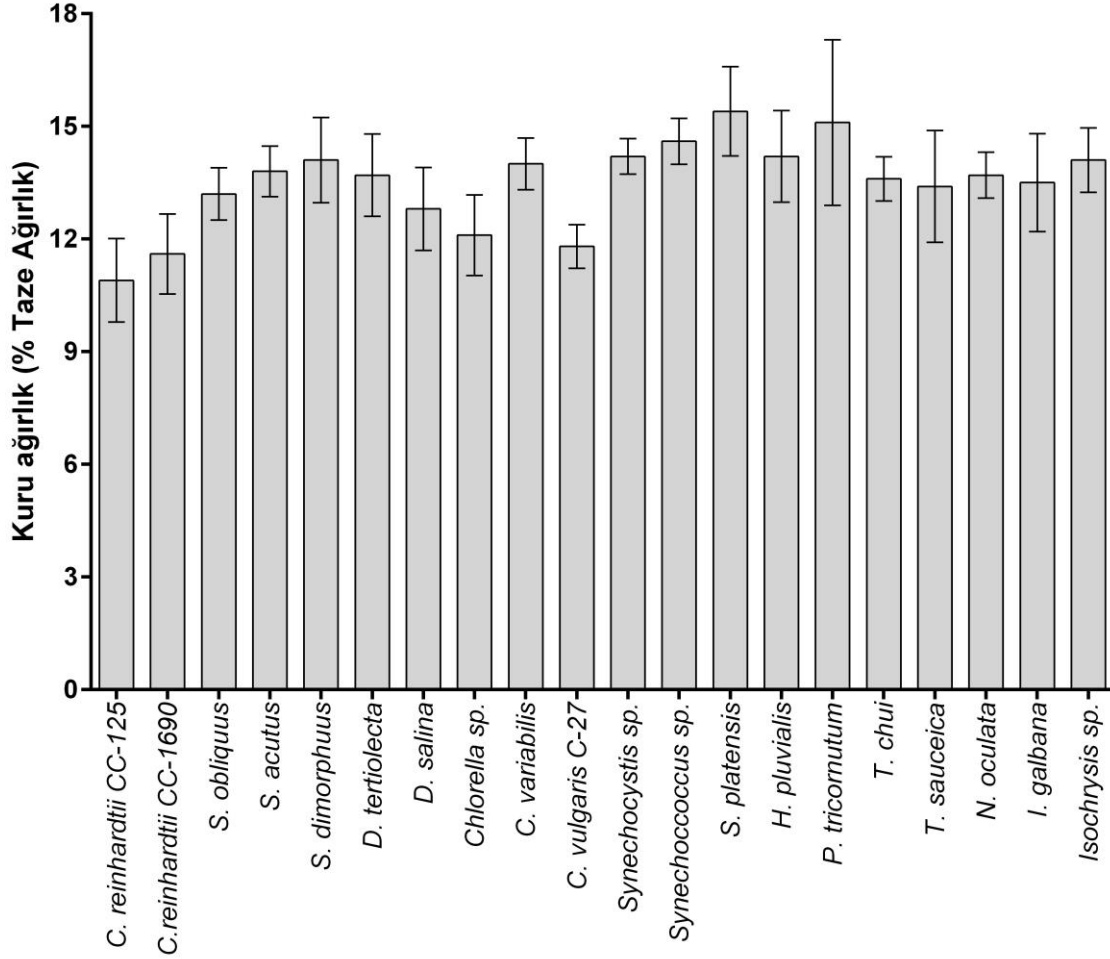
bazında yüzde olarak sunulan nişasta ve lipid içeriklerinin belirlenmesinde de aynı örnekler kullanılmış, hesaplama da ortalama kuru ağırlığa göre yapılmıştır. Çalışılan mikroalg ve siyanobakterilerin nisbi kuru ağırlıkları, protein, nişasta ve lipid içeriklerinin bildirildiği veriler Tablo 3’de sunulmuştur.

Tablo 3. Mikroalg türlerine ait kuru ağırlık, protein, nişasta ve lipid miktarları (en az 3 farklı ölçümden elde edilen sonuçların ortalamaları $\pm$ standart sapma değerleri ile birlikte sunulmuştur).

Türler	Kuru ağırlık (% Taze Ağırlık)	Protein (% Kuru ağırlık)	Karbohidrat (% Kuru ağırlık)	Lipid (% Kuru ağırlık)
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> CC-125	10,9 $\pm$ 1,1	52,5 $\pm$ 5,4	6,4 $\pm$ 0,4	20,2 $\pm$ 1,1
<i>C.reinhardtii</i> CC-1690	11,6 $\pm$ 1	50,8 $\pm$ 8	5,8 $\pm$ 0,6	18,8 $\pm$ 0,8
<i>Scenedesmus obliquus</i>	13,2 $\pm$ 0,7	59,1 $\pm$ 6,4	7,6 $\pm$ 0,4	26,4 $\pm$ 0,6
<i>Scenedesmus acutus</i>	13,8 $\pm$ 0,7	58,5 $\pm$ 8,1	8,2 $\pm$ 0,4	23,9 $\pm$ 0,8
<i>Scenedesmus dimorphuus</i>	14,1 $\pm$ 1,2	48,4 $\pm$ 7,8	7,6 $\pm$ 0,6	24,2 $\pm$ 0,8
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	13,7 $\pm$ 1,1	55,7 $\pm$ 8,9	7,7 $\pm$ 0,5	33,2 $\pm$ 0,9
<i>Dunaliella salina</i>	12,8 $\pm$ 1,1	61,3 $\pm$ 7,5	4,6 $\pm$ 0,6	28,5 $\pm$ 0,7
<i>Chlorella</i> sp.	12,1 $\pm$ 1,1	62,1 $\pm$ 7,6	6,4 $\pm$ 0,6	25,1 $\pm$ 0,8
<i>Chlorella variabilis</i>	14,0 $\pm$ 0,7	56,6 $\pm$ 9,5	6,2 $\pm$ 0,4	21,4 $\pm$ 1,1
<i>Chlorella vulgaris</i> C-27	11,8 $\pm$ 0,6	57,7 $\pm$ 6,7	5,4 $\pm$ 0,3	35,4 $\pm$ 1
<i>Synechocystis</i> sp.	14,2 $\pm$ 0,5	67,1 $\pm$ 4,7	4,6 $\pm$ 0,3	12,6 $\pm$ 1,5
<i>Synechococcus</i> sp.	14,6 $\pm$ 0,6	69,2 $\pm$ 6,7	4,2 $\pm$ 0,3	7,8 $\pm$ 0,7
<i>Spirulina platensis</i>	15,4 $\pm$ 1,2	71,2 $\pm$ 6,2	3,4 $\pm$ 0,6	8,3 $\pm$ 1,6
<i>Haematococcus pluvialis</i>	14,2 $\pm$ 1,2	50,5 $\pm$ 9,3	4,8 $\pm$ 0,7	17,8 $\pm$ 1,2
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	15,1 $\pm$ 2,2	42,1 $\pm$ 6,1	7,5 $\pm$ 1,2	19,4 $\pm$ 0,6
<i>Tetraselmis chui</i>	13,6 $\pm$ 0,6	46,6 $\pm$ 5,6	6,8 $\pm$ 0,3	18,4 $\pm$ 0,6
<i>Tetraselmis suecica</i>	13,4 $\pm$ 1,5	52,6 $\pm$ 8,3	7,4 $\pm$ 0,8	22,6 $\pm$ 1,1
<i>Nannochloropsis oculata</i>	13,7 $\pm$ 0,6	62,1 $\pm$ 9,1	7,2 $\pm$ 0,3	23,9 $\pm$ 1,2
<i>Isochrysis galbana</i>	13,5 $\pm$ 1,3	56,1 $\pm$ 6	6,8 $\pm$ 0,7	26,5 $\pm$ 0,6
<i>Isochrysis</i> sp.	14,1 $\pm$ 0,9	57,0 $\pm$ 8,9	7,2 $\pm$ 0,7	28,2 $\pm$ 1,7

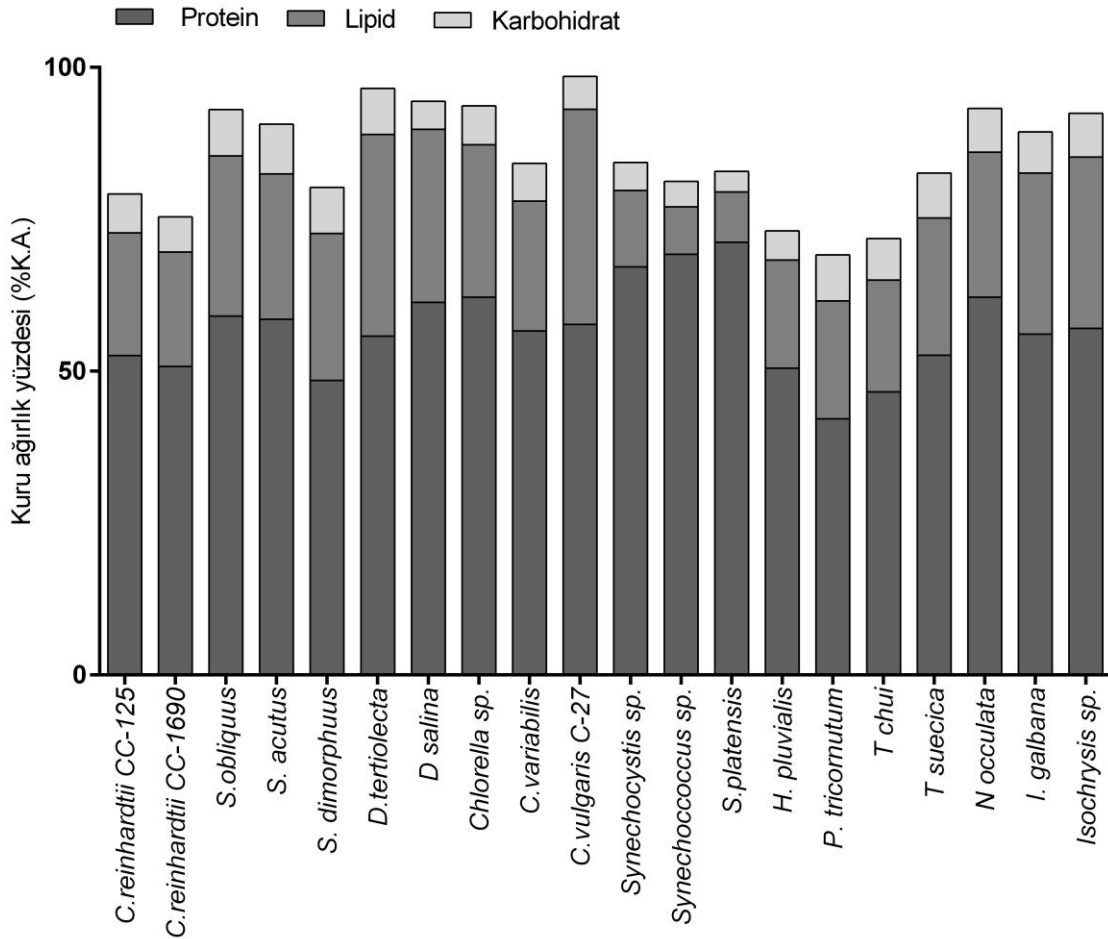
Çalışılan siyanobakterilerin nisbi kuru ağırlıklarının %14,2-15,4 arasında değişmiştir. Ökaryot yapıda olan diğer mikroalglerin nisbi kuru ağırlıkları ise %10,9-15,1 arasında değişiklik sergilemiştir. Genel olarak çalışılan türler içerisinde kuru ağırlığı %15’in üzerinde olan *Spirulina platensis* ve *Phaeodactylum tricornutum* türlerinde en fazla, %11’in altında olan *Chlamydomonas reinhardtii* CC-125 mikroalginin kuru biyomas miktarı da en düşük değerde bulunmuştur (Şekil 9). Mikroalglerin kuru ağırlıkları, içerebilecekleri katma değeri yüksek ürün eldesi bakımından önemli bulunmaktadır. Zira nisbi kuru ağırlık içeriği diğer türlere kıyasla yüksek bulunan *S.platensis*’in besinsel özellikleri ve

P.tricornutum'un da lipid ve karbohidrat gibi makromolekül üretiminin yanında sekonder metabolit üretimi üzerine çok sayıda çalışma rapor edilmiştir (Sharma, 2012).



Şekil 9. Mikroalglerin nisbi kuru ağırlıkları.

Mikroalglerin içerdikleri protein, nişasta ve lipid miktarlarının bilinmesi, herhangi bir stres durumunda depo materyali olarak bu üç temel öğeden hangisini öncelikli olarak biriktirebileceği sorusuna ışık tutabilir. Bu sebeple öncelikli olarak saflaştırılarak kültüre alınmış olan çok sayıda mikroalgin protein, nişasta ve lipid içerikleri belirlenmiştir. Genel olarak çalışılan siyanobakterilerin toplam protein içerikleri mikroalglerle kıyasla yüksek, karbohidrat ve lipid içerikleri de düşük bulunmuştur (Şekil 10).



Şekil 10. İzolatların kuru ağırlık bazında yüzde olarak hesaplanmış toplam protein, toplam lipid, ve toplam karbohidrat içerikleri.

Yapılan çalışmada çalışılan mikroalglerin protein içerikleri kendi içinde ciddi farklılıklar sergilemiştir (Şekil 10). Çalışılan siyanobakterilerin toplam protein içerikleri genel olarak kuru ağırlığın %70'i dolaylarında belirlenmiştir. Ökaryot mikroalglerin toplam protein içerikleri de genel olarak %50-62 düzeylerinde belirlenmiştir. Mikroalgler içerisinde *Phaeodactylum tricornutum*, *Scenedesmus dimorphaus* ve *Tetraselmis chui* mikroalglerinde %50'nin altında kaydedilmiştir. Ökaryot yapıda mikroalgler içerisinde protein içeriği en yüksek türler %62,1 ile *Chlorella* sp. ve *Nannochloropsis occulata*, en düşük tür ise %42,1 ile *Phaeodactylum tricornutum* olarak kaydedilmiştir.

Çalışılan türlerin nişasta içerikleri de değişkenlik göstermiştir (Şekil 10). Nişasta içeriklerinin belirlenmesinde glukoz referans molekül olarak kullanılmış ve elde edilen standart grafik kullanılarak ölçüm sonuçları elde edilmiştir. *Spirulina platensis*, *Synechococcus* sp. ve *Synechocystis* sp. siyanobakterlerinde nişasta oranı hücre kuru ağırlığının %3,4-%4,6 arasında belirlenmiştir. Diğer taraftan ökaryot yapıli mikroalglerin

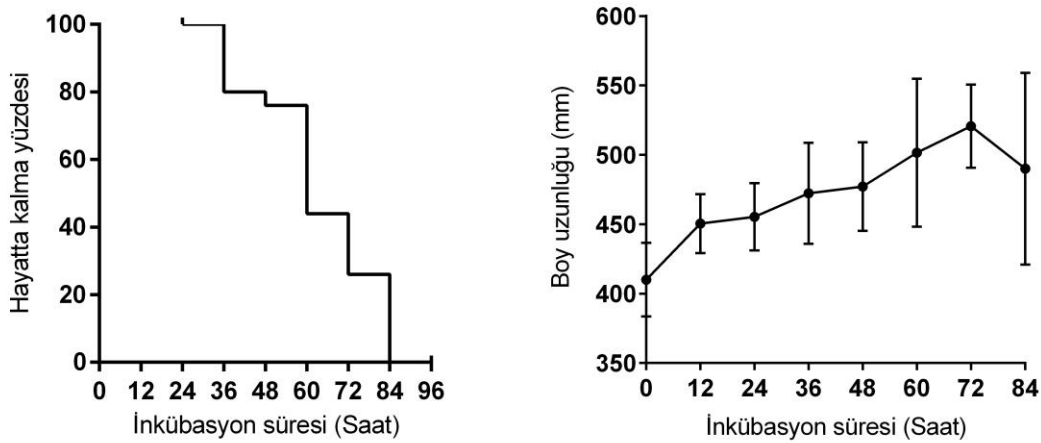
nişasta içerikleri kuru ağırlığın %4,8-%8,2 arasında değişmiştir. Çalışılan mikroalgler içerisinde nişasta içeriği en yüksek tür %8,2 ile *S. acutus* olsa da *S.obliquus*, *S.dimorphuus*, *D.tertiolecta* ve *P.tricornutum* türlerinde de %7,5 dolaylarında nişasta içeriği kaydedilmiştir.

Çalışılan siyanobakterilerin toplam lipid içerikleri diğer mikroalglerle kıyasla düşük olarak belirlenmiştir. Siyanobakterilerin lipid içerikleri kuru ağırlık bazında %7,8-%12,6 arasında değişirken ökaryot yapıda mikroalgler içerisinde en düşük lipid içeriği %17,8 ile *H.pluvialis*, en yüksek lipid içerikleri de %33,2 ve %35,4 ile *D.tertiolecta* ve *C.vulgaris* C-27 türlerinde kaydedilmiştir (Şekil 10). Mikroalgler, geç üssel büyüme evresinde genel olarak %30-60 protein, %10-40 lipid ve %5-15 karbohidrat ihtiva ederler (Fujii vd., 2010). Çoğu diazotrofik olan siyanobakterilerin protein içerikleri ökaryot yapıda mikroalglerin birçoğuna kıyasla yüksek, lipid ve karbohidrat içerikleri de daha düşük düzeydedir (Angermayr vd, 2015).

4.3 Farklı Mikroalglerle Beslenen *Artemia franciscana*

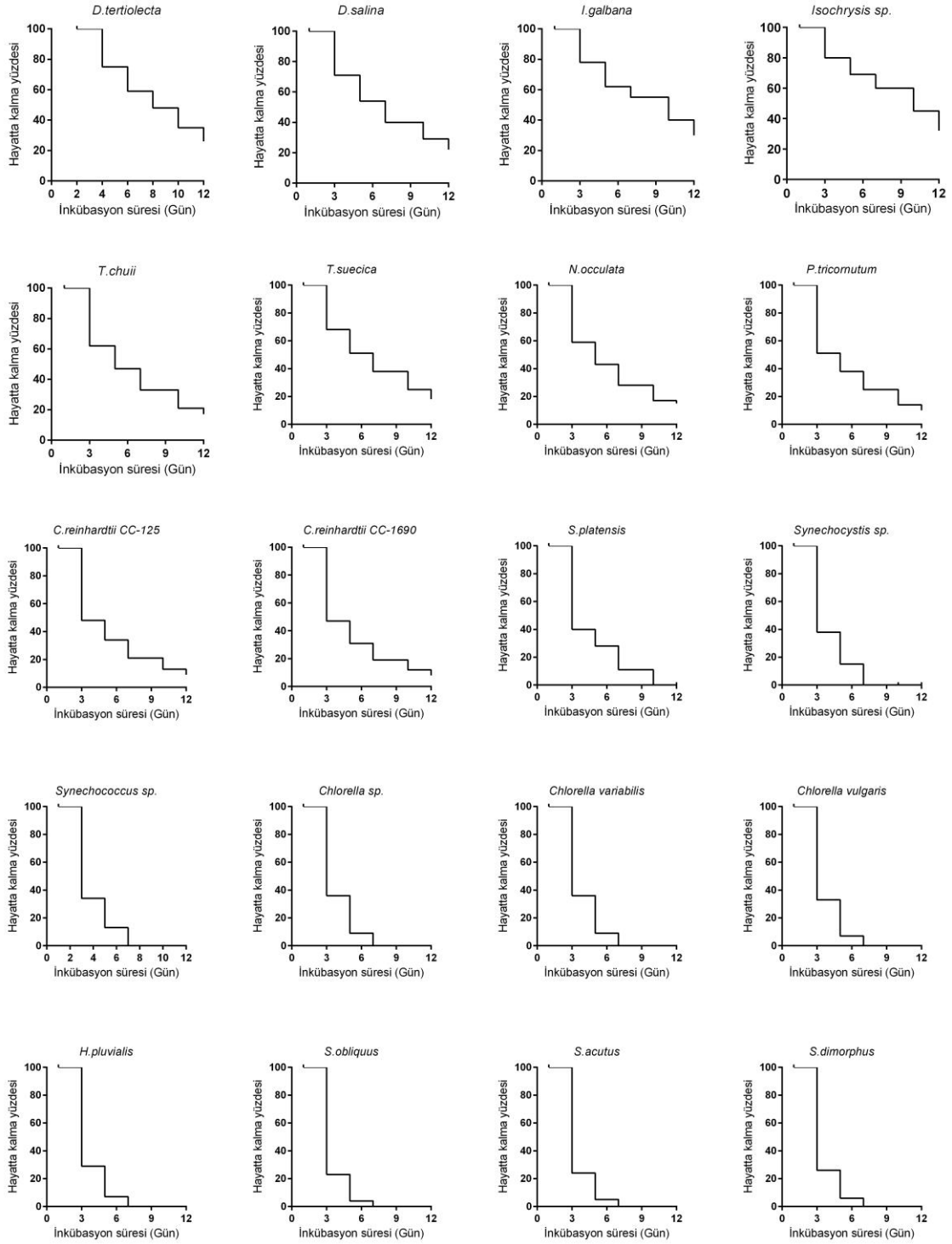
Artemia franciscana bireylerini çeşitli mikroalg türleri ile beslerken ayrıca kistten çıkan naupliilerden belirli miktarda alınarak ayrı bir kaptaki hiçbir besin takviyesi yapılmayan bir deneme grubu da oluşturulmuştur. Herhangi bir şekilde beslenmeyen *Artemia*'ların 72 saat hayatta kalabildikleri tespit edilmiştir (Şekil 11).

Herhangi bir şekilde beslenmeyen ve 72 saat hayatta kalabilen *Artemia*'ların boy uzunluklarındaki değişim ölçülmüştür. Naupliilerin başlangıç boy uzunlukları ortalama 450 µm olarak belirlenmiştir. Beslenmeyen *Artemia*'ların 3 günün sonunda boy uzunluklarında da istatistiksel olarak önemli bir değişim kaydedilmemiştir (Şekil 11).



Şekil 11. Besin ilave edilmeyen *Artemia franciscana*'nın hayatta kalma yüzdesi ve boy uzunlukları.

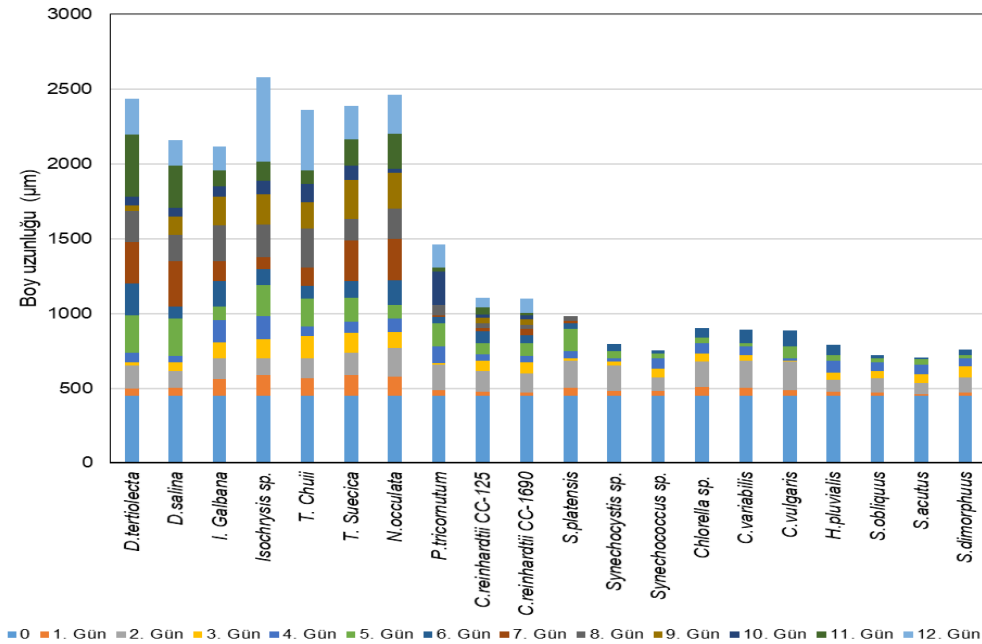
Günlere bağlı olarak farklı mikroalglerle beslenen *Artemia*'ların 12 gün boyunca hayatta kalma oranları kaydedilmiştir (Şekil 12). En yüksek hayatta kalma oranı 12. günün sonunda *Isochrysis* türleri ve *Dunaliella tertiolecta* ile beslenen *Artemia*'larda belirlendi. *Isochrysis* sp., *I.galbana*, ve *D.tertiolecta* ile beslenen *Artemia*'lar 12 günlük beslenme sonrasında sırasıyla ortalama %32, %30, ve %27 oranlarında hayatta kalma durumu sergilemişlerdir. 12 gün boyunca beslenme yapılabilen diğer türler (*D.salina*, *T.chui*, *T.suecica*, *N.occulata*, *P.tricornutum*, ve *C.reinhardtii*) ile hayatta kalma oranı %20'nin altında kalmıştır. *Chlorella* sp., *Chlorella variabilis*, *C. vulgaris* C27, *Haematacoccus pluvialis*, *Scenedesmus obliquus*, *Scenedesmus acutus*, *Scenedesmus dimorphus*, *Synechocystis* sp. ve *Synechococcus* sp. türleri ile besleme sonrası ise 6. günden sonra *Artemia* bireylerinde ölüm olduğu için hayatta kalma oranları en son 5. günde hesaplanabilmiştir. *Spirulina platensis* ile beslenen *Artemia* bireylerine ait hayatta kalma oranları ise en son olarak 7. gün ölçülebilmıştır.



Şekil 12. Farklı mikroalg ve siyanobakteri türleri ile beslenen *Artemia franciscana*'nın günlere bağlı hayatta kalma oranları

Zaman içerisinde farklı mikroalglerle beslenen *Artemia*'ların boy uzunluklarında meydana gelen değişimler Şekil 13'de sunulmuştur. Yapılan çalışmada, özellikle denizel mikroalg türleri ile beslenen *Artemia*'ların tatlı su mikroalgleri ile beslenenlere kıyasla daha uzun boy uzunluklarına sahip oldukları ve daha iyi büyüdükleri kaydedilmiştir. Çalışılan türler içerisinde *Chlorella* sp., *Chlorella variabilis*, *C. vulgaris* C27, *Haematacoccus pluvialis*, *Scenedesmus obliquus*, *Scenedesmus acutus*, *Scenedesmus dimorphus*, *Synechocystis* sp. ve *Synechococcus* sp. türleri ile beslenen *Artemia*'lardan 6 günlük veri alınabilmektedir. Bu günden sonra bu türler ile beslenen *Artemia* bireylerinin öldüğü tespit edildi. *Spirulina platensis* türü ile beslenen *A. franciscana*'nın ise 7 günlük büyümesi gözlenebilmiştir.

Proje kapsamında kullanılan diğer türlerden ise 12 günlük ölçüm yapılmıştır (Şekil 13). En yüksek boy uzunluğu *Isochrysis* sp. türü ile beslenen *Artemia* bireylerinde 12. günün sonunda ortalama 2582 µm olarak tespit edilmiştir. En yüksek boy uzunluğu *Isochrysis* sp.'den sonra sırasıyla *Nannochloropsis oculata*, *Dunaliella tertiolecta* ve *Tetraselmis suecica* ile beslenen *Artemia* bireylerinde gözlemlendi. En düşük boy uzunluğu ise *Scenedesmus acutus* türü ile beslenen *Artemia* bireylerinde 6.günün sonunda ortalama 706 µm olarak belirlenmiştir. Bu türler genel olarak *Artemia* beslenmesinde önerilen türler olmakla birlikte *D.tertiolecta* ile beslenen *Artemia*'ların hayatta kalma süreleri ile boy uzunluklarının *T.suecica*, *N.occulata*, *Chlorella* sp, ve *Spirulina* sp. türlerine kıyasla daha yüksek olduğu kaydedilmiştir (Mohebbi vd. 2016).



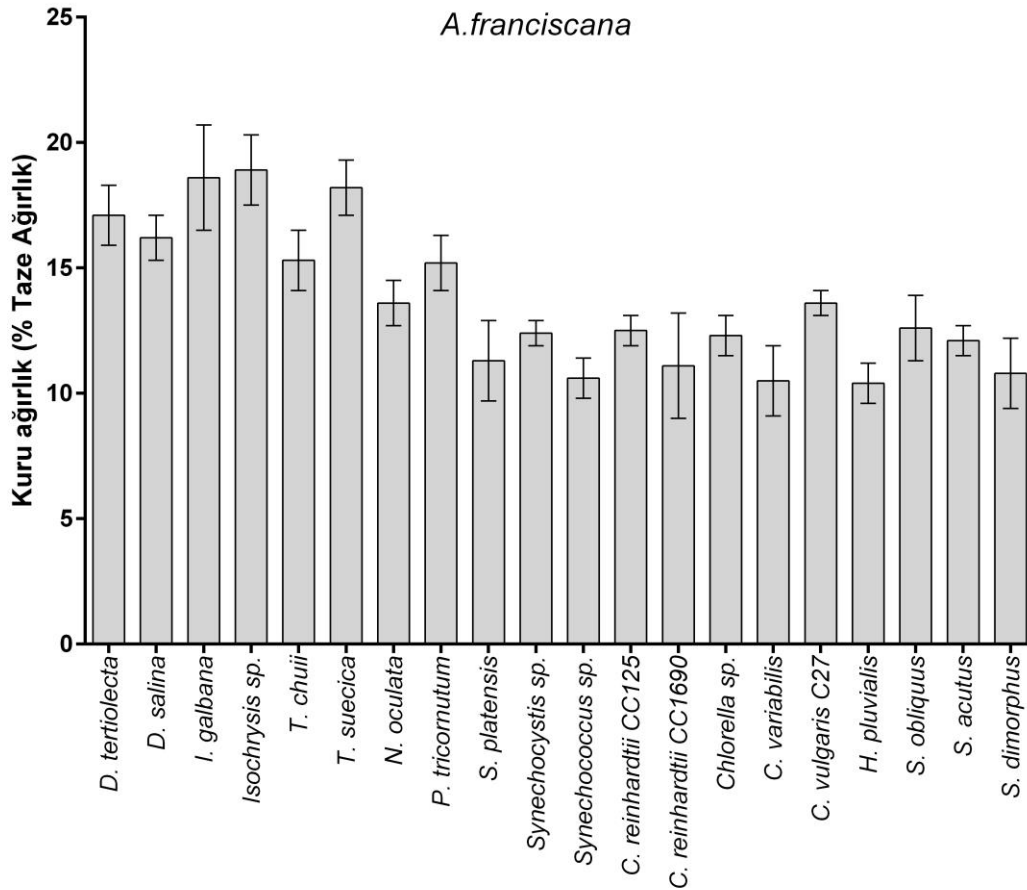
Şekil 13. Farklı mikroalg türleri ile beslenen *Artemia franciscana*'nın günlere bağlı boy uzunluklarındaki değişimler.

Farklı mikroalglerle beslenen *Artemia franciscana*'nın toplam protein, karbohidrat ve lipid içerikleri belirlenmiştir. Bazı mikroalglerle beslenen *Artemia*'lar 6 gün yaşayabildiklerinden dolayı, tüm mikroalglerle beslenen *Artemia*'nın protein, karbohidrat ve lipid içeriklerindeki değişimin sunulabilmesi için en uygun dönem beslenmeden sonraki ilk 5 gün olarak değerlendirilmiş ve böylece 5 günün sonunda hasat edilen *Artemia*'lara ait değerler sunulmuştur (Tablo 4).

Tablo 4. 5 gün boyunca farklı mikroalg türleri ile beslenen *Artemia franciscana*'ya ait nisbi kuru ağırlık, toplam protein, lipid ve karbohidrat içerikleri. (en az 3 farklı ölçümden elde edilen sonuçların ortalamaları $\pm$ standart sapma değerleri ile birlikte sunulmuştur).

Mikroalg türleri	Kuru ağırlık (% Taze Ağırlık)	Protein (% Kuru ağırlık)	Lipid (% Kuru ağırlık)	Karbohidrat (% Kuru ağırlık)
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	17,1 $\pm$ 1,2	48,6 $\pm$ 3,5	24,1 $\pm$ 1,2	18,1 $\pm$ 1,3
<i>Dunaliella salina</i>	16,2 $\pm$ 0,9	41,2 $\pm$ 3,4	20,2 $\pm$ 1,9	24,6 $\pm$ 1,9
<i>Isochrysis galbana</i>	18,6 $\pm$ 2,1	30,5 $\pm$ 2,2	25,4 $\pm$ 1,3	20,6 $\pm$ 1,5
<i>Isochrysis</i> sp.	18,9 $\pm$ 1,4	31,7 $\pm$ 2,4	26,3 $\pm$ 2,3	20,8 $\pm$ 1,9
<i>Tetraselmis chuii</i>	15,3 $\pm$ 1,2	26,6 $\pm$ 3,6	18,9 $\pm$ 2,9	21,8 $\pm$ 1,8
<i>Tetraselmis suecica</i>	18,2 $\pm$ 1,1	37,6 $\pm$ 3,5	19,1 $\pm$ 1,1	19,6 $\pm$ 2,1
<i>Nannochloropsis oculata</i>	13,6 $\pm$ 0,9	33,9 $\pm$ 3,5	8,3 $\pm$ 2,8	14,3 $\pm$ 1,7
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	15,2 $\pm$ 1,1	29,3 $\pm$ 2,1	12,6 $\pm$ 0,9	36,5 $\pm$ 2,4
<i>Spirulina platensis</i>	11,3 $\pm$ 1,6	52,3 $\pm$ 3,2	6,2 $\pm$ 1,1	12,5 $\pm$ 1,8
<i>Synechocystis</i> sp.	12,4 $\pm$ 0,5	46,1 $\pm$ 3,4	12,8 $\pm$ 0,4	14,6 $\pm$ 2,4
<i>Synechococcus</i> sp.	10,6 $\pm$ 0,8	47,6 $\pm$ 3,2	5,1 $\pm$ 1,1	17,8 $\pm$ 1,6
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> CC125	12,5 $\pm$ 0,6	28,1 $\pm$ 3,3	14,3 $\pm$ 1,2	25,1 $\pm$ 1,5
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> CC1690	11,1 $\pm$ 2,1	29,5 $\pm$ 3,2	11,9 $\pm$ 2,2	16,6 $\pm$ 1,8
<i>Chlorella</i> sp. ARM0029B	12,3 $\pm$ 0,8	33,6 $\pm$ 2,1	20,4 $\pm$ 2,3	18,9 $\pm$ 1,6
<i>Chlorella variabilis</i>	10,5 $\pm$ 1,4	32,6 $\pm$ 2,4	15,8 $\pm$ 2,1	26,4 $\pm$ 1,4
<i>Chlorella vulgaris</i> C27	13,6 $\pm$ 0,5	34,2 $\pm$ 3,2	16,2 $\pm$ 1,9	20,7 $\pm$ 1,3
<i>Haematacoccus pluvialis</i>	10,4 $\pm$ 0,8	23,5 $\pm$ 3,1	17,5 $\pm$ 1,3	34,9 $\pm$ 2,6
<i>Scenedesmus obliquus</i>	12,6 $\pm$ 1,3	30,1 $\pm$ 3,1	18,6 $\pm$ 1,1	11,4 $\pm$ 2,1
<i>Scenedesmus acutus</i>	12,1 $\pm$ 0,6	32,5 $\pm$ 3,1	16,9 $\pm$ 2,5	24,3 $\pm$ 1,4
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	10,8 $\pm$ 1,4	34,4 $\pm$ 2,9	7,2 $\pm$ 2,5	28,8 $\pm$ 2,7

Yukarıda sunulan tablonun yanında kuru ağırlık, protein, karbohidrat ve lipid değerleri ayrıca şekil olarak da sunulmuştur. Yapılan ölçümlere göre farklı mikroalglerle 5 gün boyunca beslenen *Artemia*'ların kuru ağırlıkları genellikle %10,4-18,9 arasında değişmiştir. Özellikle denizel mikroalglerle beslenen *Artemia*'ların kuru ağırlıkları %15'in üzerinde tespit edilmiştir. Bu durumun beslenmeden kaynaklandığı anlaşılmaktadır. Diğer türlerle beslenen *Artemia*'ların kuru ağırlıkları %10,4-13,6 arasında değişmiştir (Şekil 14). Farklı mikroalglerle beslenen *Artemia*'ların nisbi kuru ağırlıklarındaki azalmanın besin tüketimi ile doğrudan ilgili olduğu, *Artemia*'nın tüketmediği *Nitzschia* sp. kullanıldığında düşük kuru ağırlık ve *Navicula* sp., *Rhabdonema* sp. ve *Schizochytrium* sp. kullanıldığında yüksek kuru ağırlık kaydedilen değerli bir çalışmada gösterilmiştir (Pacheco-Vega vd., 2015). Bu çalışmada da *Artemia*'da diğer türlere kıyasla daha yüksek hayatta kalma süresi ve boy uzunluğunu sağlayan denizel türlerle beslenen *Artemia*'ların nisbi kuru ağırlıklarının daha yüksek düzeylerde olduğu kaydedilmiştir.

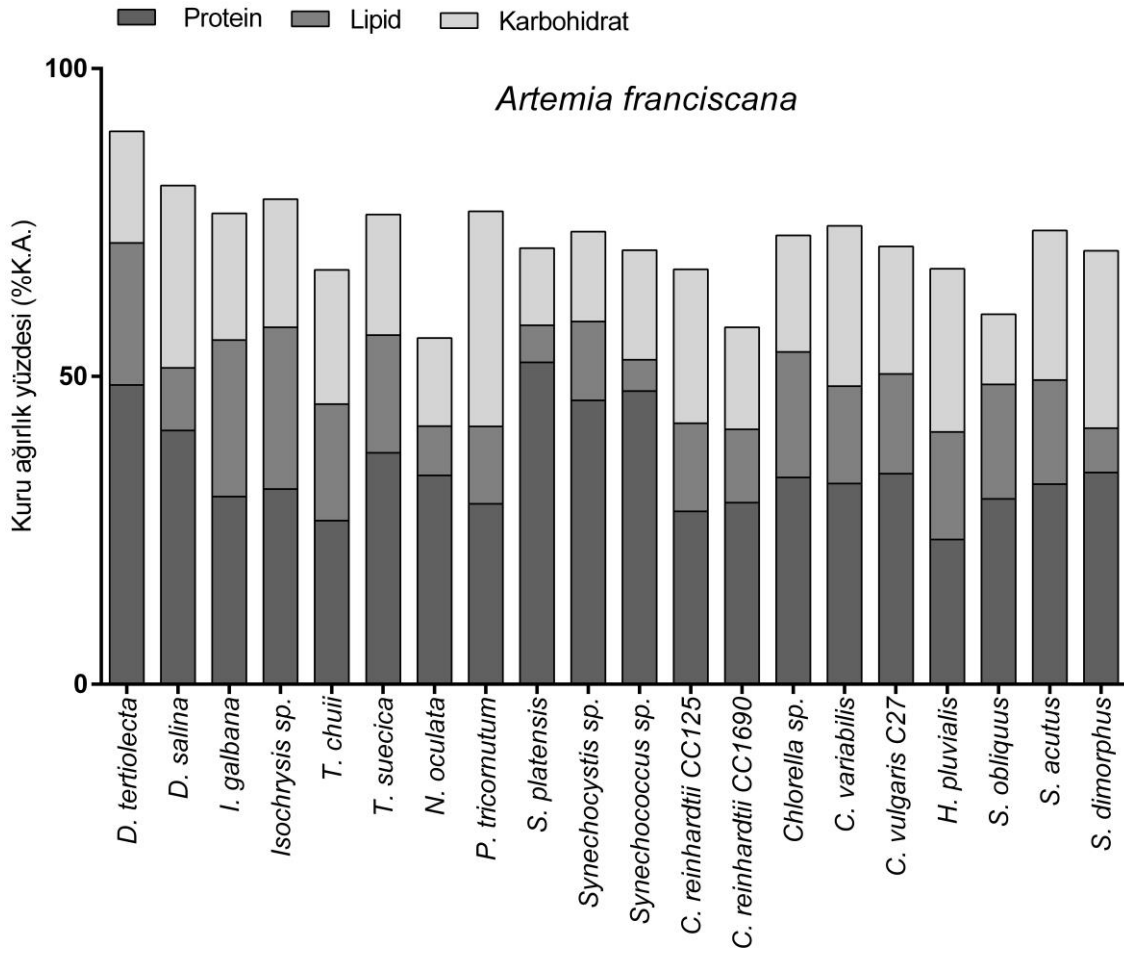


Şekil 14. Farklı mikroalglerle beslenen *Artemia*'ların nisbi kuru ağırlıklarında meydana gelen değişimler.

Protein içeriği yüksek olan siyanobakterilerle beslenen *Artemia*ların protein içerikleri diğer mikroalglerle beslenenlere kıyasla yüksek düzeyde belirlenmiştir (Şekil 15). Öte yandan *Dunaliella* türleri ile beslenen *Artemia*ların da protein içerikleri diğer ökaryot mikroalglerle beslenen gruplara kıyasla yüksek bulunmuştur. *Dunaliella* türleri ve siyanobakteriler ile beslenen *Artemia*ların protein içerikleri %40'ın üzerinde belirlenmiş, en düşük protein içeriği de %30'un altında belirlenen *Chlamydomonas* türleri ile *T.chuii*, *H.pluvialis* ve *P.tricornutum* ile beslenen *Artemia*'larda kaydedilmiştir (Şekil 15). *Dunaliella* ile beslenen *Artemia*'nın protein içeriğindeki artış daha önce de bildirilmiştir (Ownag vd., 2014).

*Artemia*ların ortalama karbohidrat içerikleri, beslendikleri mikroalg türüne bağlı olarak önemli oranda değişkenlik göstermiştir. *H. pluvialis* ve *P.tricornutum* ile beslenen *Artemia* bireylerinde en yüksek karbohidrat değeri %34,9-%36,5 olarak tespit edilirken, *Isochrysis* türleri ile %20,6-%20,8 ve *Scenedesmus obliquus* ile beslenen *Artemia* bireylerinde en düşük karbohidrat değeri %10-11 düzeylerinde belirlenmiştir (Şekil 15).

Çalışılan türler içerisinde *Dunaliella tertiolecta* türü ile beslenen *Artemia*ların yüksek protein içeriklerinin yanı sıra diğer gruplara kıyasla yüksek lipid içeriğine de sahip olduğu belirlenmiştir. *Isochrysis* türleri veya *D.tertiolecta* ile beslenen *Artemia*ların lipid içerikleri kuru ağırlık temel alındığında %24'ün üzerinde kaydedilmiştir. Öte yandan, özellikle siyanobakteriler ile beslenen *Artemia*ların lipid içeriklerinin de düşük olduğu kaydedilmiştir. Çalışılan türler içerisinde en düşük lipid oranı %5,1 ile *Synechococcus* sp. ile beslenen grupta belirlenmiştir (Şekil 15). Bu durumda muhtemelen *Artemia* bu siyanobakterileri yem olarak tercih etmemiştir. Çünkü hayatta kalma süresi ve boy uzunlukları da düşük düzeylerde belirlenmiştir. Öte yandan Ulloa ve Olea (2004) yaptıkları çalışmada *Spirulina* ve *Synechococcus* siyanobakterilerinin *Artemia* beslenmesinde canlı olarak değil, kurutulmuş halde toz olarak kullanılmalarını önermiştir.

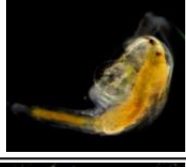
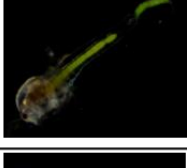
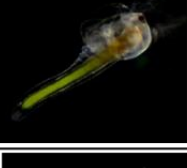
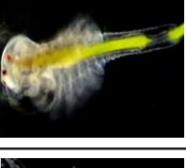
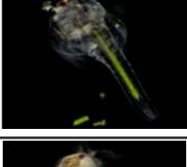
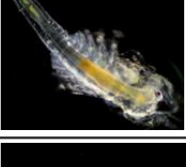
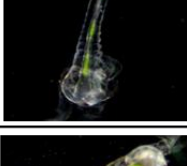
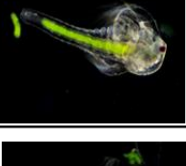
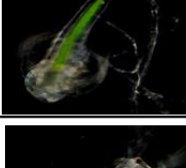
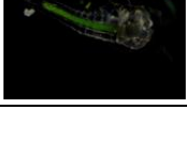
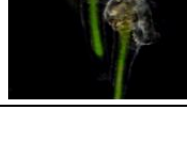


Şekil 15. 5 gün boyunca farklı mikroalglerle beslenen *A. franciscana*'nın toplam protein, lipid ve karbohidrat içeriklerinde meydana gelen değişimler.

Mikroalglerin balık kuluçkahanelerinde kullanımı hem canlı yem üretiminde hemde yetiştirme ortamının kalitesinin korunmasında önemlidir (Spolaore vd., 2006). Zira mikroalgler, balık ve larvalarının beslenmesinde kullanılan zooplankton besin içeriklerinin zenginleştirilmesinde büyük bir rol oynarlar (Chakraborty ve Paulraj, 2007). Farklı mikroalg ve siyanobakteriler ile beslenen *Artemia*'ların protein, lipid ve karbohidrat içeriklerindeki değişimin yanında hayatta kalma ve büyüme oranları *Artemia* için kullanılabilecek en uygun algal besinin belirlenmesi açısından önemlidir (Maldonado-Montiel & Rodríguez-Canché, 2005). Bu aşamaya kadar yapılan çalışmalar ışığında *Artemia*'ların beslenme ve kullanılan mikroalglerin genel besinsel özelliklerinin yanında *Artemia*'nın hayatta kalma süresi ve büyüme oranları değerlendirildiğinde çalışmanın ilerleyen aşamalarına *D. tertiolecta*, *I. galbana*, *N. oculata*, *P. tricornutum*, *T. chuii*, *T. suecica* ve bir de tatlı su mikroalgi *C. reinhardtii* CC-1690 türleri ile devam edilmesi kararlaştırılmıştır.

Aşağıdaki tabloda, seçilen türler ile beslenen *Artemia franciscana*'nın 3., 5., 7. ve 10. günlerde çekilmiş mikroskop görüntüleri sunulmuştur (Tablo 5). Denizel türlerle iyi beslenen *A. franciscana*'nın *C.reinhardtii* ile çok iyi beslenemediği anlaşılmaktadır. Öte yandan Konya ovasında bulunan Meke maar gölünden saflaştırılarak kültüre alınan *D.tertiolecta* ile beslenen *Artemia*'ların etkili büyüme gösterdikleri de kaydedilmiştir.

Tablo 5. Seçilen mikroalgler ile beslenen *A.franciscana*'nın 10 günlük gelişimini gösteren mikroskop görüntüleri

Artemianın beslendiği mikroalg türü	3. Gün	5. Gün	7. gün	10.Gün
<i>D.tertiolecta</i>				
<i>P.tricornutum</i>				
<i>N. occulata</i>				
<i>I. galbana</i>				
<i>T.chuii</i>				
<i>T. suecica</i>				
<i>C.reinhardtii</i>				

4.4 Artan Tuz Yoğunluğu Ve Makroelement Açlığına Tepkide Mikroalglerin Toplam Protein, Lipid Ve Toplam Karbohidrat İçeriklerinde Meydana Gelen Değişiklikler

Genel olarak nötral lipid ve karbohidrat üretimlerinde artış ile protein üretiminde azalma mikroalglerin abiyotik stres uygulamalarına verdikleri genel cevaplar olarak ifade edilmiştir (Paliwal vd., 2016). Böylece *Artemia* için besin olarak kullanılacak olan mikroalglerin besinsel içeriklerindeki genel değişikliklerin gözlemlenebilmesi amacıyla mikroalgler yüksek tuz yoğunluğu, N-, S-, ya da P-eksik ortamlarda kültüre alınmışlardır. Çalışılan türlerden halofilik *D.tertiolecta* mikroalgi JM besiyerinde, *C.reinhardtii* türü TAP besiyeri ve diğer denizel türler de F2 büyüme ortamında kültüre alınmışlardır. Kontrol ortamında kültüre alınan mikroalgler logaritmik büyüme evresinde iken ($A_{680}=1.0$) düşük hızda (1000 rpm) santrifüjlenen mikroalgler eşit miktarda beş gruba ayrılmıştır. Kontrol grubu, N-eksik, S-eksik, P-eksik, ve yüksek tuz uygulanmış gruplar olarak ayrılan mikroalgler 5 gün boyunca kültüre alınmış ve 5 günün sonunda mikroalglerin içerdikleri toplam protein, nişasta ve toplam lipid içerikleri belirlenmiştir. N- eksik, S-eksik ve P- eksik ortamların hazırlanmasında ilgili ortamlardaki N-, S- ve P- kaynakları çıkarılırken halofil mikroalg *D.tertiolecta* için 3M, *C.reinhardtii* için 0,2M ve diğer denizel türler için de 1M yoğunlukta NaCl, büyüme ortamına ilave edilmiştir.

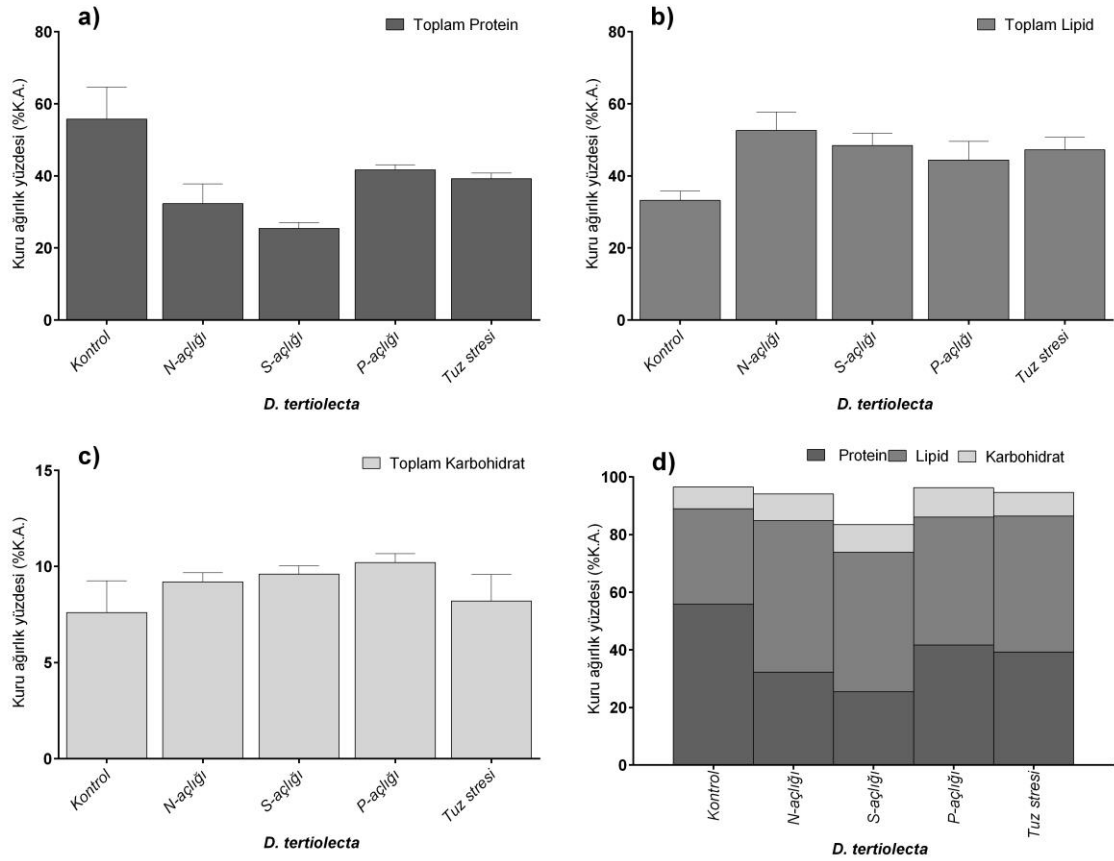
4.4.1 *Dunaliella tertiolecta* Mikroalginin Toplam Protein, Lipid Ve Karbohidrat İçeriklerinde Meydana Gelen Değişiklikler

D.tertiolecta mikroalginin toplam protein içeriği yapılan tüm stres uygulamalarına tepkide istatistiksel olarak önemli oranda azalmıştır (Şekil 16a). En fazla düşüş N- ve S-açlığına bırakılan mikroalglerde %42 ve %54 azalma olarak kaydedilmiştir. Diğer taraftan P-açlığı bu mikroalglerde yaklaşık olarak %25, 3M tuz stresi de toplam protein içeriğinde yaklaşık olarak %29 oranında azalmaya sebep olmuştur.

Protein içeriğindeki azalmanın aksine stres uygulamaları bu mikroalgin toplam lipid üretiminde önemli artışları teşvik etmiştir (Şekil 16b). Kontrol grubu ile kıyaslandığında P-açlığına bırakılan mikroalglerde lipid içeriği ortalama %33 düzeyinde artmışken S-açlığı toplam lipid üretiminde ortalama %45 ve tuz stresi de %42 dolaylarında artış sağlamıştır. Diğer taraftan mikroalgin toplam lipid içeriğinde en yüksek artış ortalama %58 ile N-açlığına bırakılan mikroalglerde

D.tertiolecta'nın toplam karbohidrat içerikleri 5 günlük stres uygulamasına tepkide artışlar sergilese de yalnızca P-açlığına tepkide kaydedilen yaklaşık %34 oranındaki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Şekil 16c).

Artan tuz yoğunluğuna (0,5M-2M) tepkide *D. tertiolecta*'nın toplam lipid üretiminde ve triaçilgliserol içeriğinde artışları protein üretimindeki azalmaların takip ettiği bildirilmiştir (Takagi ve Yoshida, 2006). Bu çalışmada da 3M tuz yoğunluğunda kültüre alınan *D. tertiolecta*'nın toplam lipid üretimi ile birlikte karbohidrat üretiminde artış ve toplam protein üretiminde de azalma kaydedilmiştir. Benzer şekilde *D. tertiolecta* ve *D. salina*'da artan tuz yoğunluğu ve N açılığına cevapta nötral lipid, B-karoten ve toplam karbohidrat üretiminde artışlar bildirilmiştir (Zhi vd., 2008; Elibol Çakmak, 2019)



Şekil 16. 5 gün boyunca N-açılığı, S-açılığı, P-açılığı ve 3M tuz yoğunluğu bulunan ortamda kültüre alınan *D. tertiolecta* mikroalginin (a) Toplam protein, (b)Toplam lipid, (c)Toplam karbohidrat içeriklerinde meydana gelen değişimler ve (d) mikroalgin toplam protein, lipid ve karbohidrat içeriğindeki değişimin karşılaştırmalı sunumunu gösteren grafik.

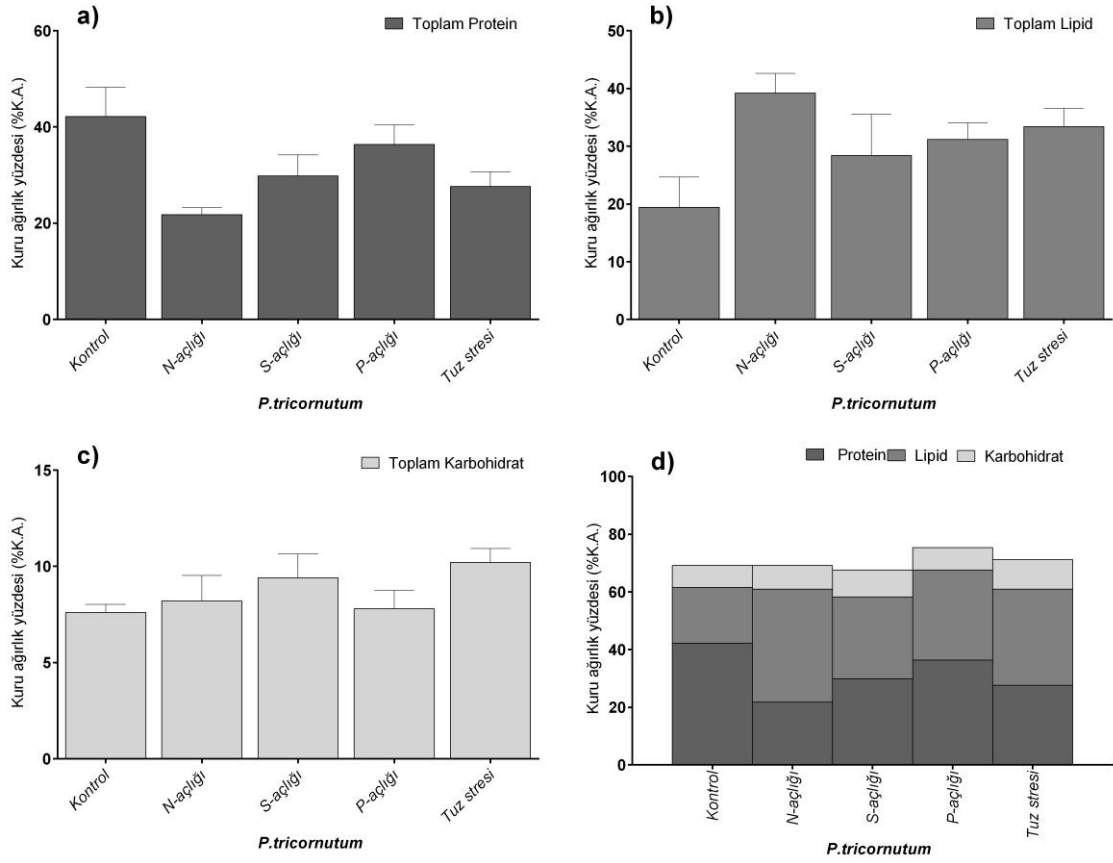
4.4.2 *Phaeodactylum tricornutum* Mikroalginin Toplam Protein, Lipid Ve Karbohidrat İçeriklerinde Meydana Gelen Değişiklikler

P.tricornutum mikroalginin toplam protein içerikleri N- ve S- açlığı ile tuz stresine tepkide önemli oranda azalmış, P açlığına tepkide kayda değer bir değişim sergilememiştir. Toplam protein içeriği N- açlığı, S-açlığı ve tuz stresine tepkide sırasıyla yaklaşık olarak %48, %29 ve %35 oranında azalma göstermiştir (Şekil 17a).

P.tricornutum mikroalginin toplam lipid içeriği uygulanan tüm stres uygulamalarına tepkide dikkate değer artışlar sergilemiştir. Lipid içeriğindeki en yüksek artış N-açlığı ile %102 oranında sağlanan grupta kaydedilirken S- ve P-açlığı ile tuz stresi uygulanmış gruplarda toplam lipid içeriği sırasıyla %46, %60 ve %72 düzeylerinde belirlenmiştir (Şekil 17b).

Son olarak *P.tricornutum* mikroalginin toplam karbohidrat içerikleri makroelement açlığına tepkide önemli bir değişim sergilemezken tuz stresi uygulaması bu mikroalgin toplam karbohidrat içeriğini yaklaşık %34 oranında artırmıştır (Şekil 17c).

Makroelement açlığı altında kültüre alınan *P.tricornutum*'da metabolik aktivitenin fotosentezde azalma ile birlikte başta sitoplazmik nötral lipid üretimi olmak üzere depo metabolitleri üretimi şeklinde yöneldiği bildirilmiştir (Levitana vd., 2015). Bu çalışmada da yukarıda ifade edildiği gibi tuz stresi ve element açlığı uygulamaları *P.tricornutum*'da toplam lipid ve karbohidrat üretimini artırmıştır.



Şekil 17. 5 gün boyunca N-açlığı, S-açlığı, P-açlığı ve 1M tuz yoğunluğu bulunan ortamda kültüre alınan *P.tricornutum* mikroalginin (a) Toplam protein, (b)Toplam lipid, (c)Toplam karbohidrat içeriklerinde meydana gelen değişimler ve (d) mikroalgin toplam protein, lipid ve karbohidrat içeriğindeki değişimin karşılaştırmalı sunumunu gösteren grafik.

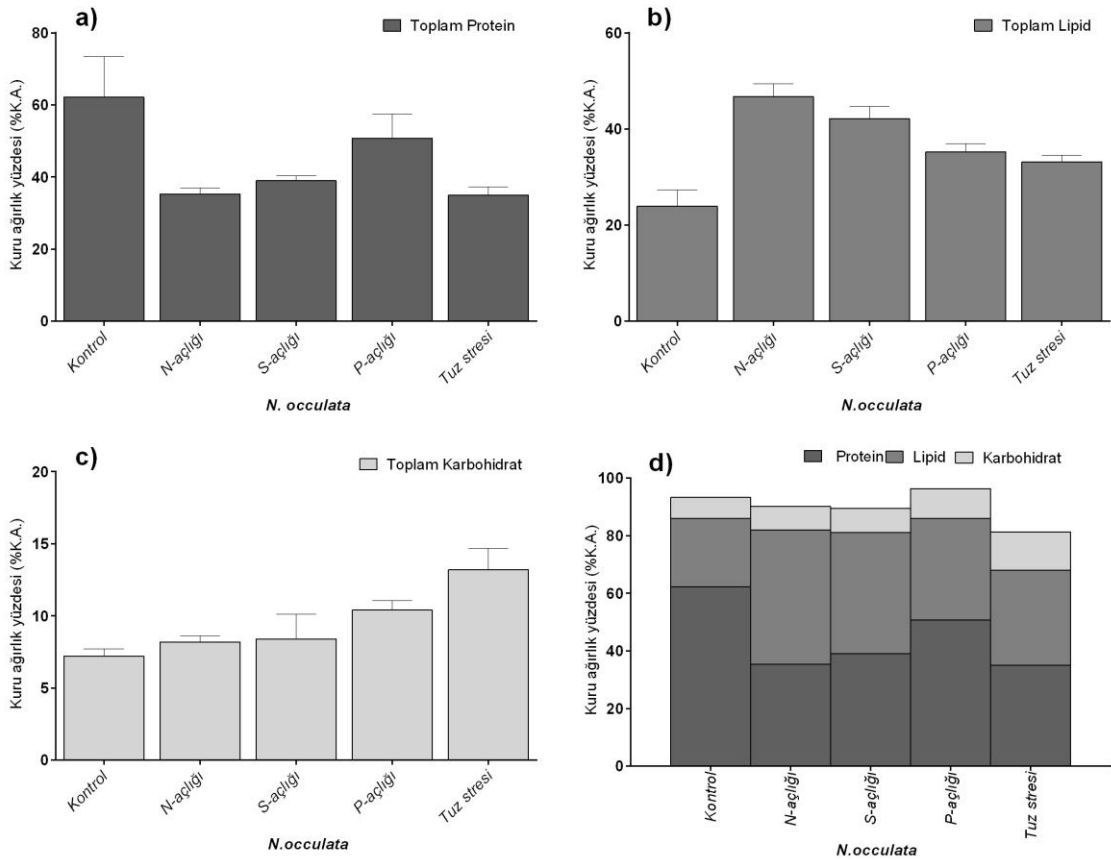
4.4.3 *Nanochloropsis oculata* Mikroalginin Toplam Protein, Lipid Ve Karbohidrat İçeriklerinde Meydana Gelen Değişiklikler

N.oculata mikroalginin toplam protein içeriği P-açlığına tepkide önemli bir değişim sergilememiştir. Diğer taraftan N-açlığı, S-açlığı ve tuz stresi uygulamaları bu mikroalgin toplam protein içeriğinde sırasıyla yaklaşık %43, %37 ve %44 oranında azalmaya sebep olmuştur (Şekil 18a).

N.oculata mikroalginin toplam lipid içeriği yapılan tüm stres uygulamalarına tepkide önemli artışlar sergilemiştir. Genel olarak makroelement açlığı uygulamaları tuz stresi uygulamasına kıyasla lipid içeriğinde daha yüksek düzeyde artışı uyarmıştır. Toplam lipid içeriğindeki artışlar N-, S-, P- açlığı ile tuz stresi uygulamalarına tepkide sırasıyla yaklaşık olarak %95, %76, %47 ve %38 oranlarında kaydedilmiştir (Şekil 18b).

Özellikle P- açlığı ile tuz stresi uygulamaları bu mikroalgin toplam karbohidrat içeriklerinde istatistiksel olarak önemli artışları uyarmışken N- ve S-açlığı uygulamaları önemli bir değişime sebep olmamıştır. Mikroalgin toplam karbohidrat içeriği P- açlığına tepkide ortalama %44, tuz stresi uygulamasına tepkide ise ortalama %83 civarında artmıştır (Şekil 18c).

N.occulata'da artan tuz yoğunluğunun (13-81g/L) hücre büyümesi, klorofil içeriği ve fotosentez hızında %70'e varan azalma ile lipid üretiminde %80 düzeylerinde artış bildirilmiştir. Bu proje çalışmasında da 1M (58.5g/L) tuz uygulaması bu mikroalgin lipid üretiminin yanında karbohidrat üretiminde de kaydadeğer artışlar sağlamıştır. Öte yandan özellikle N elementi başta olmak üzere makroelement açlığına tepkide *N.occulata*'nın lipid üretiminin uyarıldığı çok sayıda çalışma ile bildirilmiştir (Pal vd., 2011; Banarjee vd., 2017).

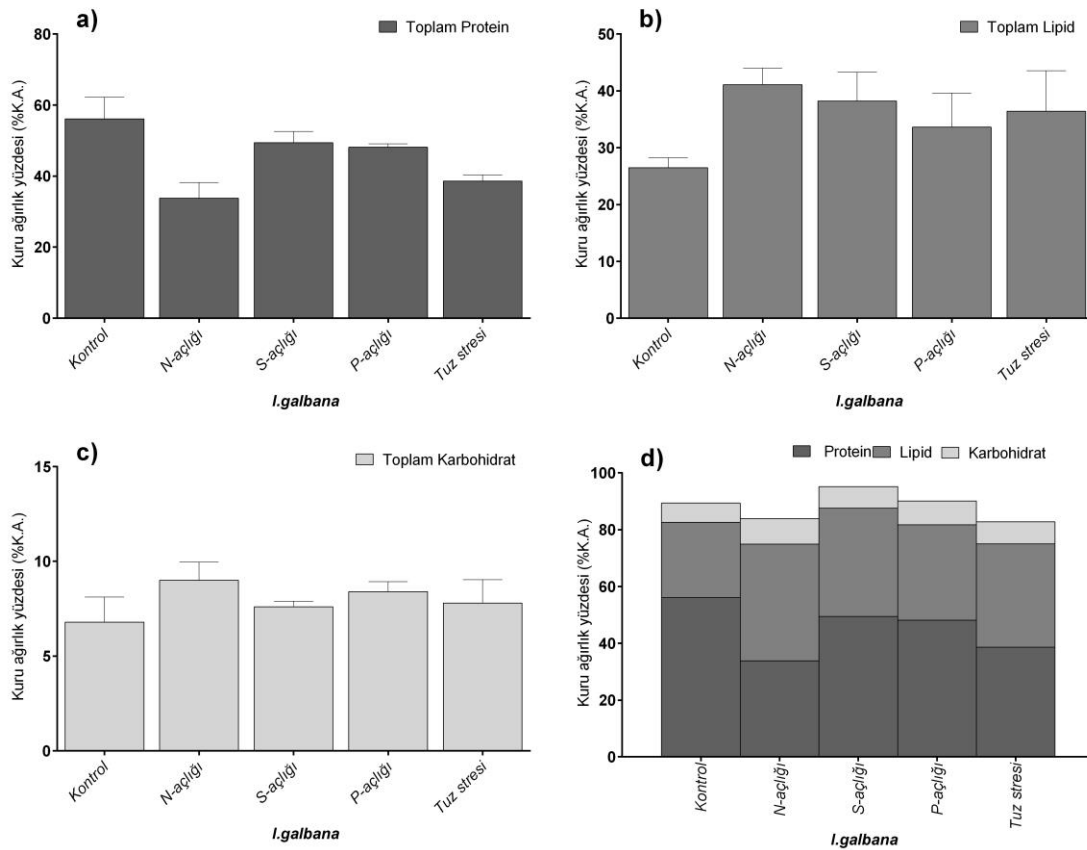


Şekil 18. 5 gün boyunca N-açlığı, S-açlığı, P-açlığı ve 1M tuz yoğunluğu bulunan ortamda kültüre alınan *N.occulata* mikroalginin (a) Toplam protein, (b)Toplam lipid, (c)Toplam karbohidrat içeriklerinde meydana gelen değişimler ve (d) mikroalgin toplam protein, lipid ve karbohidrat içeriğindeki değişimin karşılaştırmalı sunumunu gösteren grafik.

4.4.4 *Isochrysis galbana* Mikroalginin Toplam Protein, Lipid Ve Karbohidrat İçeriklerinde Meydana Gelen Değişiklikler

Isochrysis galbana mikroalginin toplam protein içeriği S-açlığına tepkide önemli bir değişim sergilememiştir. Diğer taraftan N-açlığı, P-açlığı ve tuz stresi uygulamaları bu mikroalgin toplam protein içeriğinde sırasıyla yaklaşık %40, %14, ve %31 oranında azalmaya sebep olmuştur (Şekil 19a).

Lipid içeriğindeki değişim açısından değerlendirildiğinde P-açlığı önemli bir değişime sebep olmazken N-açlığı, S-açlığı ve tuz stresi uygulamaları sırasıyla %55, %44 ve %37 düzeyinde artışlara sebep olmuştur (Şekil 19b). Son olarak *I.galbana* mikroalginin toplam karbohidrat içeriği yapılan stres uygulamalarına tepkide istatistiksel olarak önemli değişimler sergilememiştir (Şekil 19c). Son zamanlarda yapılmış bir çalışmada N- açlığı, tuz stresi veya yeşil ışık uygulanmış *D.tertiolecta*, *P.tricornutum*, ve *I.galbana*'nın her üç mikroalgin de lipid verimini %60'a varan oranda artırdığı belirtilmiştir (Jang vd., 2019).



Şekil 19. 5 gün boyunca N-açlığı, S-açlığı, P-açlığı ve 1M tuz yoğunluğu bulunan ortamda kültüre alınan *I.galbana* mikroalginin (a) Toplam protein, (b)Toplam lipid, (c)Toplam karbohidrat

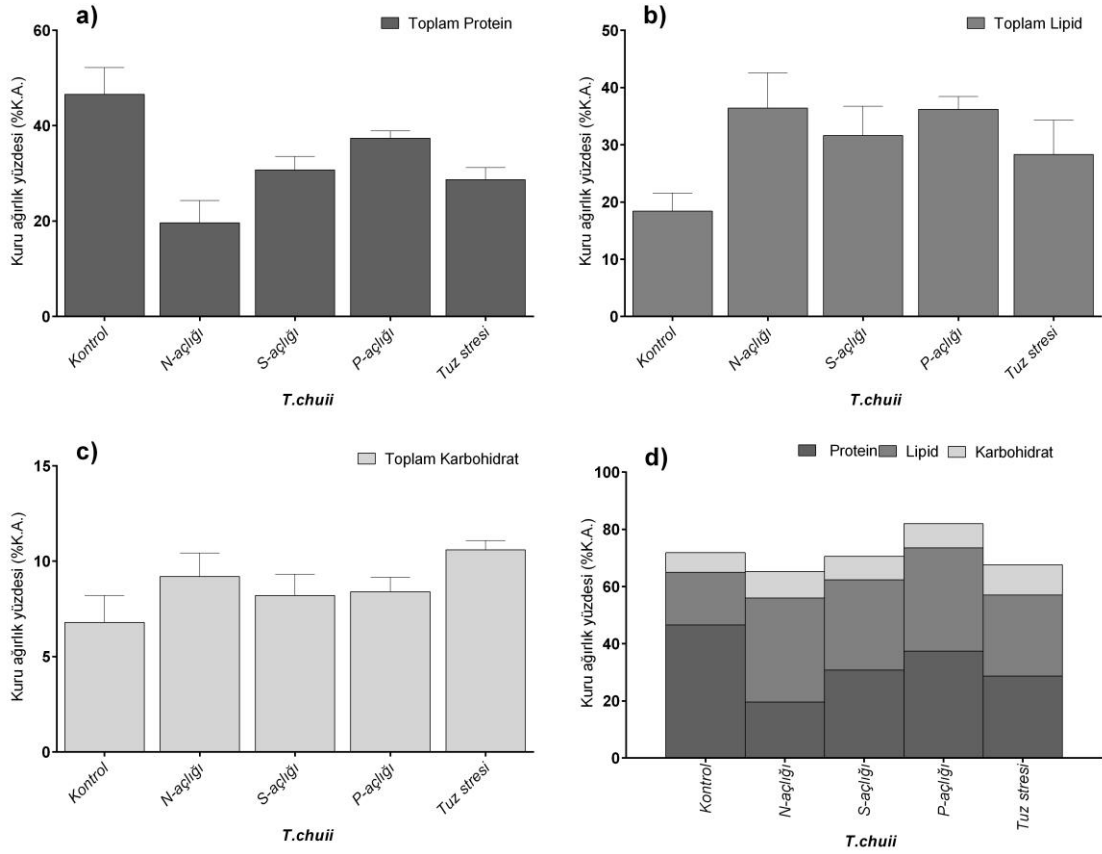
içeriklerinde meydana gelen değişimler ve (d) mikroalgin toplam protein, lipid ve karbohidrat içeriğindeki değişimin karşılaştırmalı sunumunu gösteren grafik.

4.4.5 *Tetraselmis chuii* Mikroalginin Toplam Protein, Lipid Ve Karbohidrat İçeriklerinde Meydana Gelen Değişiklikler

Tetraselmis chuii mikroalginin toplam protein içeriği yapılan tüm stres uygulamalarına tepkide azalmıştır. En sert düşüş N-açlığına tepkide yaklaşık %58 ile gerçekleşirken S-açlığı, P-açlığı ve tuz stresi uygulamalarına tepkide sırasıyla yaklaşık olarak %34, %20 ve %38 oranında kaydedilmiştir (Şekil 20a).

Toplam protein içeriğindeki düşüşe rağmen *T.chuii* mikroalginin toplam lipid içerikleri yapılan tüm uygulamalara tepkide önemli düzeyde artışlar sergilemiştir. Mikroalglerin toplam lipid içerikleri N-, S-, P-açlığı ile tuz stresi uygulamalarına tepkide sırasıyla %98, %72, %97, ve %54 oranlarında artışlar sergilemiştir (Şekil 20b).

T.chuii mikroalginin ölçülen toplam karbohidrat içerikleri makroelement açlığına tepkide sayısal olarak artmış olsa da bu artışlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Diğer taraftan tuz stresi uygulanmış türlerin toplam karbohidrat içerikleri yaklaşık olarak %56 oranında artış sergilemiştir (Şekil 20c).



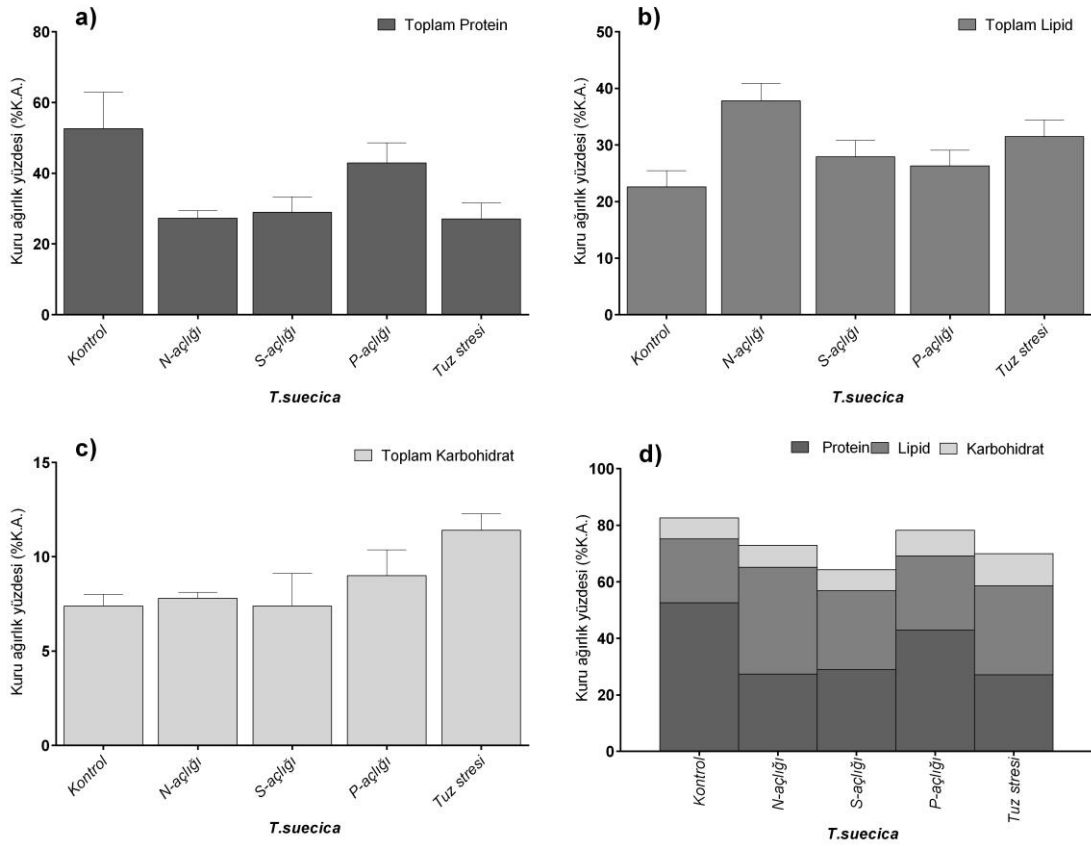
Şekil 20. 5 gün boyunca N-açlığı, S-açlığı, P-açlığı ve 1M tuz yoğunluğu bulunan ortamda kültüre alınan *T.chuii* mikroalginin (a) Toplam protein, (b)Toplam lipid, (c)Toplam karbohidrat içeriklerinde meydana gelen değişimler ve (d) mikroalgin toplam protein, lipid ve karbohidrat içeriğindeki değişimin karşılaştırmalı sunumunu gösteren grafik.

4.4.6 *Tetraselmis suecica* Mikroalginin Toplam Protein, Lipid Ve Karbohidrat İçeriklerinde Meydana Gelen Değişiklikler

T. suecica mikroalginin toplam protein içeriği P-açlığına tepkide istatistiksel olarak önemli bir değişim sergilememiştir. Diğer taraftan N-açlığı, S-açlığı ve tuz stresi uygulamaları sırası ile bu mikroalgin toplam çözülebilir protein içeriğinde sırasıyla yaklaşık %48, %44, ve %49 oranlarında azalmalara sebep olmuştur (Şekil 21a).

T.suecica mikroalginin toplam lipid içeriğinin N-açlığı ve tuz stresi uygulamalarına tepkide artış gösterirken S- ve P-açlığına tepkide önemli bir değişim sergilememiştir. Bu mikroalgin toplam lipid içeriği N-açlığı ve tuz stresi uygulamasına tepkide yaklaşık olarak sırasıyla %67 ve %39 oranında artmıştır (Şekil 21b).

T.suecica'nın toplam karbohidrat içeriği makroelement açlığı uygulamalarına tepkide önemli bir değişim göstermemiş, ancak tuz stresi uygulamasına tepkide yaklaşık olarak %54 oranında artmıştır (Şekil 21c). İçerdikleri biyoaktif bileşikler bakımından zengin olan Tetraselmis türlerinin tuzluluk stresine yanıtta karotenoid üretimi, yağ asidi üretimi ve kompozisyonunda değişiklik ile karbohidrat üretiminde artışlar daha önce de bildirilmiştir (El-Kassa vd., 2016). Bununla birlikte, N-açlığına yanıtta yalnızca lipid üretiminde değil, ilaç hammaddesi olarak biyoteknolojik açıdan kullanılabilecek biyoaktif ürün üretiminin de mümkün olabildiği *T.suecica* mikroalginde son zamanlarda yapılan kapsamlı bir çalışma ile gösterilmiştir (Lauritano vs., 2019). Dolayısıyla Tetraselmis türlerine N-açlığı ve tuz stresi uygulamalarının yalnızca *Artemia* beslenmesinde değil, bunun yanında kozmetik ve tıp alanında da katma değeri yüksek ürün üretimi açısından değerlendirilebileceği anlaşılmaktadır. Nitekim 2017 yılında yapılan kapsamlı bir diğer çalışmada *T.suecica*'dan elde edilen biyoaktif bileşiklerin insan hücrelerinde tamir mekanizmasını artırarak antioksidan etki gösterdiği bildirilmiştir (Sasonne vs., 2017).



Şekil 21. 5 gün boyunca N-açlığı, S-açlığı, P-açlığı ve 1M tuz yoğunluğu bulunan ortamda kültüre alınan *T.suecica* mikroalginin (a) Toplam protein, (b)Toplam lipid, (c)Toplam

karbohidrat içeriklerinde meydana gelen değişimler ve (d) mikroalgin toplam protein, lipid ve karbohidrat içeriğindeki değişimin karşılaştırmalı sunumunu gösteren grafik.

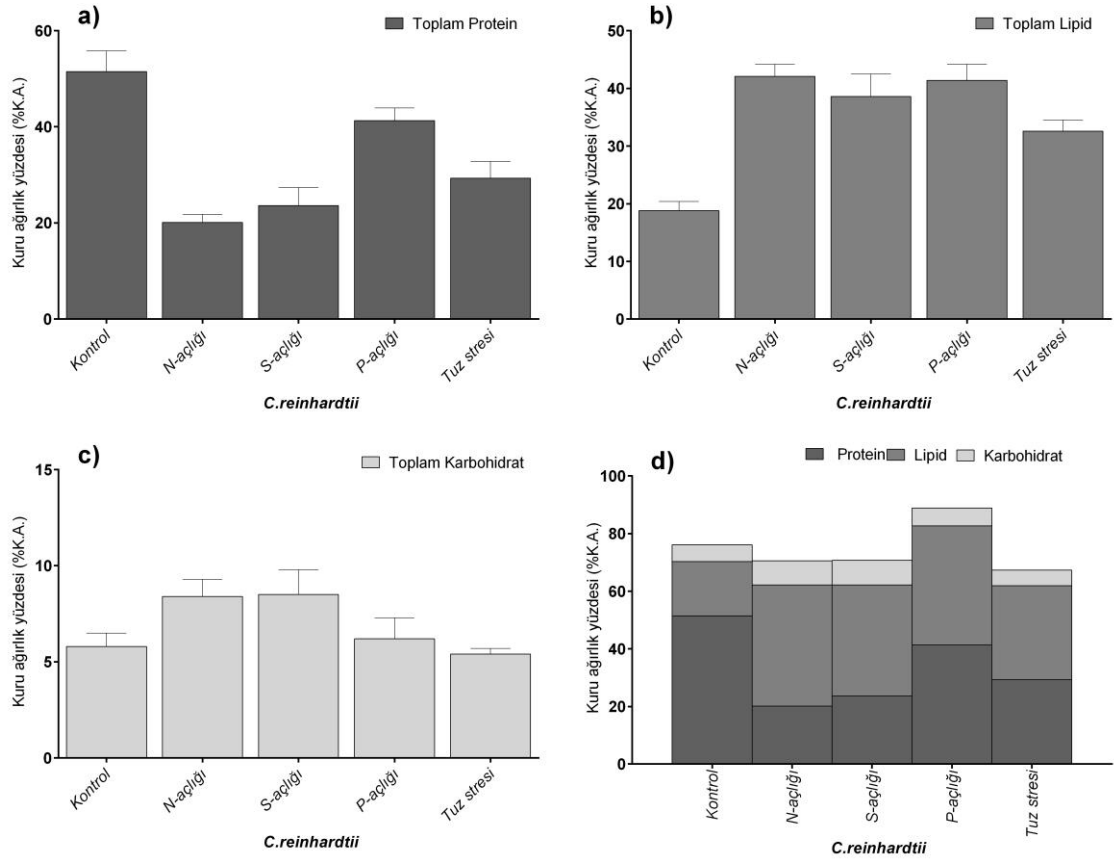
4.4.7 *Chlamydomonas reinhardtii* Mikroalginin Toplam Protein, Lipid Ve Karbohidrat İçeriklerinde Meydana Gelen Değişiklikler

C. reinhardtii mikroalginin toplam protein içeriği yapılan stres uygulamalarına tepkide önemli oranda azalmıştır. 5 gün boyunca N-açlığı, S-açlığı, P-açlığı ve 0.2M tuz stresi uygulanan mikroalglerin toplam protein içerikleri sırasıyla %61, %54, %20, ve %43 oranlarında azalma sergilemiştir (Şekil 22a).

Yapılan stres uygulamalarına tepkide mikroalglerin toplam lipid içerikleri, protein içeriğindeki azalmanın aksine önemli oranda artış sergilemiştir. Makroelement açlığına tepkide mikroalglerin lipid içerikleri 2 katın üzerinde artış göstermiştir. Sırasıyla N-açlığı, S-açlığı ve P-açlığı uygulamalarına tepkide mikroalglerin toplam lipid içerikleri sırasıyla yaklaşık olarak %124, %105, ve %120 oranında artış gösterirken tuz stresine tepkide da yaklaşık olarak %73 oranında artmıştır (Şekil 22b).

C.reinhardtii mikroalginin toplam karbohidrat içeriği N- ve S-açlığına tepkide sırasıyla yaklaşık olarak %45 ve %47 oranlarında artmış, P-açlığı ve tuz stresi uygulamasına tepkide önemli bir değişim sergilememiştir (Şekil 22c).

C.reinhardtii mikroalg biyoteknolojisi çalışmalarında model olarak kullanılan organizmalardan birisidir. Bu mikroalgin makroelement açlığına tepki olarak nötral lipid, triağılglicerol, karotenoid ve karbohidrat üretiminde artış ile büyüme, fotosentez aktivitesi ve protein üretimindeki düşüş ve antioksidant yanıtta gözlemlenen dramatik değişiklikler daha önceleri yaptığımız çalışmalarda kapsamlı olarak gösterilmiştir (Elibol Çakmak vd., 2014, 2015).



Şekil 22. 5 gün boyunca N-açlığı, S-açlığı, P-açlığı ve 1M tuz yoğunluğu bulunan ortamda kültüre alınan *C. reinhardtii* mikroalginin (a) Toplam protein, (b)Toplam lipid, (c)Toplam karbohidrat içeriklerinde meydana gelen değişimler ve (d) mikroalgin toplam protein, lipid ve karbohidrat içeriğindeki değişimin karşılaştırmalı sunumunu gösteren grafik.

4.5 Çalışmada Kullanılan Mikroalglerin Yağ Asidi Profilleri

Artemia beslenmesinde kullanılacak mikroalglerin besinsel içeriklerinin değerlendirilmesinde yağ asidi profilleri önem arz etmektedir. Yapılan stres uygulamalarına tepkide genel olarak protein, lipid ve karbohidrat içeriğindeki değişim açısından benzer düzenleme örnekleri sergilediğinden dolayı yapılan stres uygulamasına tepkide mikroalglerin yağ asidi profillerinde meydana gelen değişimlerin gözlemlenmesi amacıyla mikroalglerin lipid içeriğinde dramatik artış sağlayan N-açlığı uygulaması tercih edilmiştir. Literatürde şimdiye kadar yayınlanmış çok sayıda çalışmada özellikle N açlığına bırakılan mikroalglerin yağ asidi profillerinde dramatik değişiklikler olduğu bildirilmiştir (Sharma, 2012). Bu sebeple kontrol ortamında yetiştirilen mikroalglerin yanında 5 gün boyunca N-açlığına maruz bırakılmış mikroalglerin de yağ asidi profilleri çıkarılmıştır (Tablo 6).

Tablo 6. 5 gün boyunca kontrol ortamı ve N-eksik ortamda kültüre alınan mikroalglerin yağ asidi profilleri.

Yağ asidi adı	<i>C. reinhardtii</i>		<i>D. tertiolecta</i>		<i>I. galbana</i>		<i>N. oculata</i>	
	Kontrol	-N	Kontrol	-N	Kontrol	-N	Kontrol	-N
C4:0 (Butirik asit)	1,66	0,86	1,14	0,92	1,23	1,63	2,32	2,21
C6:0 (Kaproik asit)	----	----	0,62	0,51	----	0,84	----	----
C8:0 (Kaprilik asit)	----	----	0,87	0,24	----	----	0,11	----
C10:0 (Kaprik asit)	0,13	----	0,33	0,51	----	----	----	----
C14:0 (Tetradekanoik asit)	0,32	0,22	0,72	0,85	6,10	4,80	0,78	0,82
C14:1 (Miristoleik asit)	0,09	0,19	0,63	0,26	----	----	----	----
C15:0 (Pentadekanoik asit)	0,14	0,11	----	----	----	----	0,46	0,41
C15:1 (cis-10-pentadekanoik asit)	0,18	0,13	----	0,41	----	----	----	----
C16:0 (Palmitik asit)	24,31	26,76	28,65	26,10	26,70	19,33	29,27	29,20
C16:1 (Palmitoleik asit)	1,53	1,35	12,64	13,22	14,73	13,65	2,22	2,76
C17:0 (Heptadekanoik asit)	----	0,27	----	----	----	----	0,16	----
C17:1 (cis 10 heptadekanoik asit)	1,37	1,13	0,86	1,24	----	----	2,63	2,08
C18:0 (Stearik asit)	5,12	5,19	18,24	12,45	6,84	14,25	5,96	3,64
C18:1 trans (Elaidik asit)	5,41	4,98	----	----	----	----	5,80	7,62
C18:1 cis (Oleik asit)	27,99	26,37	9,64	10,26	11,87	9,42	10,35	7,80
C18:2 trans (Linoleik asit)	----	----	2,43	4,26	----	----	----	----
C18:2 cis (Linoleik asit)	19,97	23,82	8,84	9,62	12,25	14,76	12,30	13,17
C20:0 (Araşidik asit)	----	----	0,67	0,24	----	----	0,45	----
C18:3 n3 (Linolenik asit)	3,07	0,70	4,18	7,22	6,47	8,26	3,61	3,47
C20:1 (cis -11- eicosenoik asit)	8,25	7,38	5,22	4,84	9,17	8,65	20,35	25,49
C21:0 (Heneikosanoik asit)	----	----	----	----	----	----	----	----
C20:3n6 (cis-8,11,14-eicosatrienoik asit)	----	----	1,22	1,69	----	----	----	----
C20:3n3 (cis-11,14,17-eicosatrienoik asit)	----	0,22	0,67	2,22	1,15	0,87	0,47	0,79
C20:4 (Araşidonik asit)	0,16	0,14	----	----	0,27	0,25	----	----
C23:0 (Trikosanoik asit)	----	0,06	----	----	----	----	----	----
C22:2 (cis 13,16 –dokosadienoik asit)	----	----	----	----	----	----	----	----
C20:5 (eikosapentaenoik asit)	----	----	1,87	2,35	2,27	3,16	----	----
C24:0 (Lignocerik asit)	0,11	0,11	----	----	----	----	0,76	0,52
C24:1(Nervonik asit)	----	----	----	----	----	----	----	----
Σ DYA	31,79	33,58	68,20	43,73	40,87	40,85	40,28	36,81
ΣTDYA	44,81	41,53	21,45	33,93	35,77	31,72	41,34	45,75
ΣÇDYA	23,20	24,87	10,34	22,33	22,41	27,30	16,37	17,44

Tablo 6 (Devamı). 5 gün boyunca kontrol ortamı ve N-eksik ortamda kültüre alınan mikroalglerin yağ asidi profilleri.

Yağ asidi adı	<i>P. tricornutum</i>		<i>T. chuii</i>		<i>T. suecica</i>	
	Kontrol	-N	Kontrol	-N	Kontrol	-N
C4:0 (Butirik asit)	2,52	1,96	6,60	2,99	5,49	5,41
C6:0 (Kaproik asit)	1,08	0,27	0,32	0,15	1,01	0,88
C8:0 (Kaprilik asit)	0,21	0,18	0,19	0,18	0,72	1,26
C10:0 (Kaprik asit)		0,12	0,21	0,15	0,40	0,77
C14:0 (Tetradekanoik asit)	5,42	3,03	0,55	0,52	0,93	0,83
C14:1 (Miristoleik asit)		0,18	---	0,09	0,38	---
C15:0 (Pentadekanoik asit)		0,33	---	0,07	---	---
C15:1 (cis-10-pentadekanoik asit)			---	---	---	---
C16:0 (Palmitik asit)	24,65	21,90	24,46	28,52	30,69	26,71
C16:1 (Palmitoleik asit)	25,28	27,24	1,73	2,18	10,89	11,66
C17:0 (Heptadekanoik asit)	1,65	0,68	0,58	0,39	---	---
C17:1 (cis 10 heptadekanoik asit)		0,81	---	0,45	---	0,74
C18:0 (Stearik asit)	10,85	7,82	4,85	4,31	18,38	12,14
C18:1 trans (Elaidik asit)		1,14	---	0,39	0,38	---
C18:1 cis (Oleik asit)	11,45	12,76	9,37	20,18	7,63	16,06
C18:2 trans (Linoleik asit)			9,26	7,21	6,56	4,49
C18:2 cis (Linoleik asit)	6,85	7,62	3,67	3,75	2,26	3,68
C20:0 (Araşidik asit)	0,62	0,86	0,80	0,68	0,67	---
C18:3 n3 (Linolenik asit)	3,47	5,12	4,42	2,80	1,67	1,39
C20:1 (cis -11- eikosenoik asit)			13,32	10,70	7,46	5,98
C21:0 (Heneikosanoik asit)			4,34	3,00	---	2,97
C20:3n6 (cis-8,11,14-eicosatrienoik asit)			---	---	---	---
C20:3 n3 (cis-11,14,17-eicosatrienoik asit)	2,26	2,13	---	---	---	1,37
C20:4 (Araşidonik asit)	0,83	1,31	1,84	1,68	---	---
C23:0 (Trikosanoik asit)			0,62	0,43	---	---
C22:2 (cis 13,16 –dokosadienoik asit)			0,83	0,36	---	---
C20:5 (eikosapentaenoik asit)	2,76	4,19	8,58	8,13	4,48	3,66
C24:0 (Lignocerik asit)			---	0,24	---	---
C24:1(Nervonik asit)			1,68	0,43	---	---
Σ DYA	46,99	37,15	39,19	38,63	58,29	47,99
ΣTDYA	36,73	42,13	26,10	34,42	16,74	24,43
ΣÇDYA	16,17	20,37	28,59	23,93	14,96	14,60

Yukarıdaki tabloda belirtilen veriler içerisinde toplanarak mikroalglerin toplam doymuş yağ asidi (DYA), tekli doymamış yağ asidi (TDYA) ve çoklu doymamış yağ asidi (ÇDYA) içerikleri şekil halinde sunulmuştur (Şekil 23).

C.reinhardtii mikroalginin yağ asidi profili genel olarak yaklaşık %31,7 DYA, %44,8 TDYA ve %23,2 ÇDYA olarak belirlenmiştir. 5 gün boyunca uygulanan N-açlığına tepkide bu mikroalgin lipid profilinde önemli bir değişim kaydedilmemiştir (Şekil 23a).

D.tertiolecta mikroalginde %68,2 düzeyinde olan DYA oranı 5 günlük azot açlığının sonunda %43,7'ye düşmüş, %21,4 olan TDYA oranı %34 dolaylarına çıkmış, %10,3 düzeyinde belirlenen ÇDYA oranı da %22,3 düzeyine çıkmıştır (Şekil 23b). Bu mikroalgin ölçülen ÇDYA içeriği düşük olsa da stres uygulamasına cevapta 2 katın üzerinde artış kaydedilmesi bu mikroalgi *Artemia* beslenmesi için önemli kılar. Zira *Artemia* ÇYDA ihtiyacı bakımından besine bağımlıdır (Eryalçın, 2018)

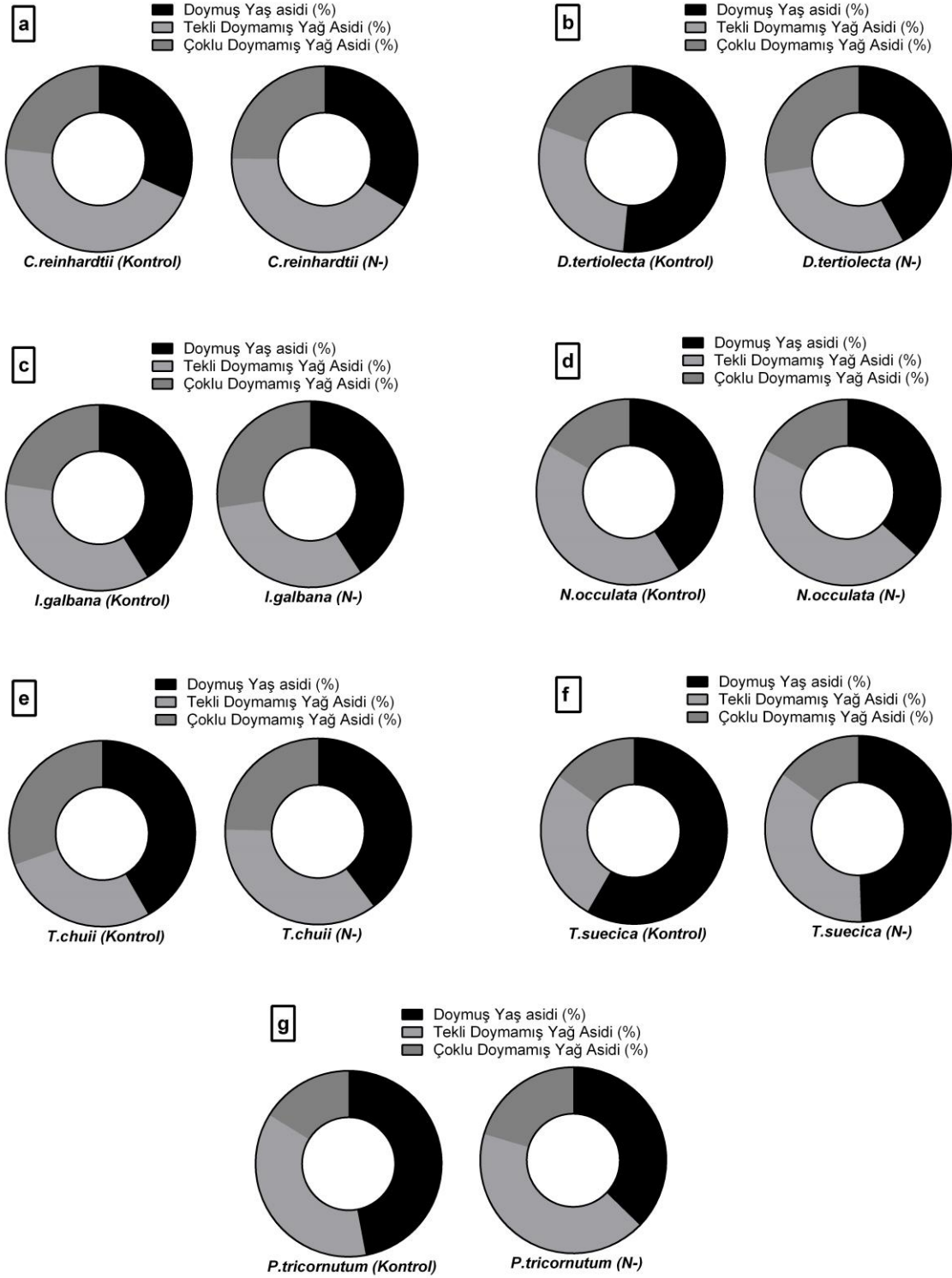
I. galbana mikroalginin yaklaşık %41 civarında belirlenen DYA oranı azot açlığına tepkide değişmemiş, yaklaşık %35,8 olan TDYA oranı azot açlığına tepkide %31,7'ye düşmüş, buna karşın %22,4 olarak belirlenen ÇDYA oranı da %27,3'e kadar çıkmıştır (Şekil 23c). Yüksek ÇDYA içeriğinden dolayı *Isochrysis* türleri *Artemia* ve rotifer beslenmesinde tercih edilen türlerdir (Concepcion vd., 2004)

N.oculata mikroalginin %40 dolaylarında olan DYA, %41 civarında TDYA, ve yaklaşık %16 dolaylarında olan ÇDYA içerikleri azot açlığına tepkide da önemli bir değişim sergilememiştir (Şekil 23d).

P.tricornutum mikroalginde yaklaşık %47 olarak belirlenen DYA içeriği 5 günlük azot açlığına tepkide %37,2' ye düşmüş, %36,7 olarak ölçülen TDYA içeriği önemli oranda artarak %42,1'e çıkmış ve %16,2 olarak ölçülen ÇDYA içeriği %20,4'e kadar yükselmiştir (Şekil 23e).

T.chuii mikroalginin %39 dolaylarında olan DYA içeriği azot açlığına tepkide değişmemiş, %26,1 olarak ölçülen TDYA içeriği %34,4'e kadar yükselmiş ve yine %28,6 dolaylarındaki ÇDYA içeriği azot açlığına tepkide %23,9'a kadar gerilemiştir (Şekil 23f).

Son olarak, *T.suecica* mikroalginin %58 civarındaki DYA içeriği azot açlığına tepkide %48'e kadar düşmüş, %16,7 olarak ölçülen TDYA içeriği artarak %24,4 düzeylerine yükselmiş, %15 düzeylerinde belirlenen ÇDYA içeriğinde önemli bir değişiklik kaydedilmemiştir (Şekil 23g).



Şekil 23. FAME analiz sonuçlarına göre kontrol ortamında kültüre alınan ve 5 gün boyunca azot açlığına bırakılmış mikroalglerin doymuş (DYA), tekli doymamış (TDYA) ve çoklu doymamış yağ asidi (ÇDYA) içerikleri. Grafik mikroalglerin içerdikleri toplam yağ asidi içerisindeki %oranlara göre çıkarılmıştır.

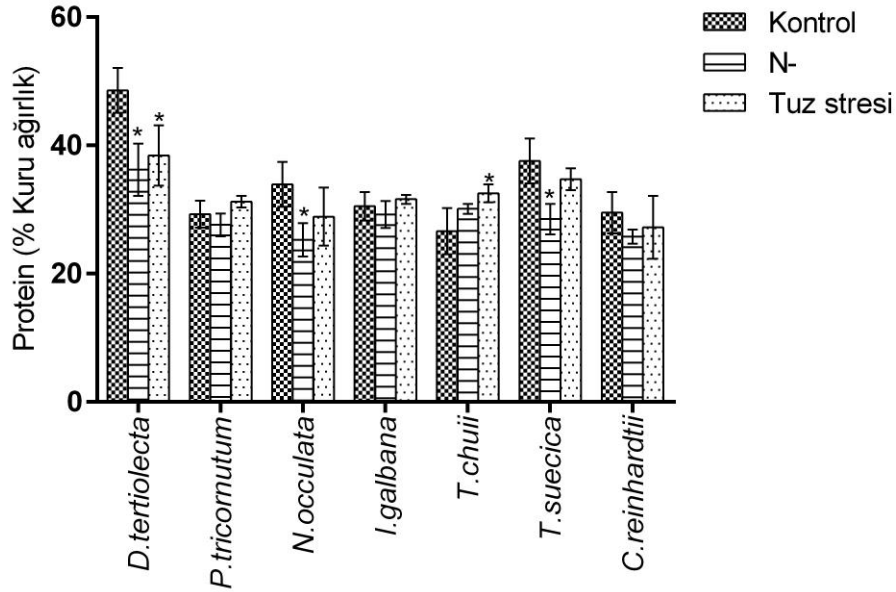
4.6 Stres Uygulanmış Mikroalglerle Beslenen *A.franciscana*'nın Toplam Protein, Lipid Ve Karbohidrat İçeriğinde Meydana Gelen Değişimler.

Çalışılan mikroalglerin 5 gün boyunca makroelement açlığına (N-, S-, P-açlığı) tepkide toplam protein, lipid ve karbohidrat içeriklerinde benzer değişimler belirlenmiştir. Genel olarak mikroalglerin toplam protein içeriklerindeki azalmayı lipid üretiminde daha belirgin olmak üzere lipid ve karbohidrat üretiminde artışlar takip etmiştir. Bu sebeple takip eden çalışmalarda *Artemia*'ların beslenmesi için 5 gün boyunca N-açlığı ya da tuz stresine maruz bırakılmış mikroalglerin yine 5 günün sonunda *Artemia*'nın besinsel içeriklerinde sebep olduğu değişimler takip edilmiştir. Bu amaçla 5 gün boyunca N-açlığı ya da tuz stresine maruz bırakılmış olan mikroalgler sayılarak *Artemia*'ların günlük besin ihtiyacı olarak uygulanan 6000 mikroalg içeren hacimde mikroalg çözeltisi düşük hızda santrifüjlendikten sonra 1ml'lik hacimde yetiştirildiği ortamda dondurulmuş ve -86°C'de muhafaza edilmiştir. Böylece *Artemia*ların beslenmesi için dondurulmuş olan bu mikroalgler her gün *Artemia* ortamına besin olarak ilave edilmiştir. Kistten çıkarıldıktan sonra bu şekilde beslenen *Artemia*'ların toplam protein, lipid ve karbohidrat içerikleri 5.günün sonunda değerlendirilmiştir.

4.6.1 Stres Uygulanmış Mikroalglerle Beslenen *Artemia*'ların Toplam Çözülebilir Protein İçeriğinde Meydana Gelen Değişiklikler

Kontrol ortamında kültüre alınan mikroalglerin yanında 5 gün boyunca N-açlığı ya da tuz stresi uygulanmış olan mikroalglerle beslenen *A.franciscana*'da büyümenin 5. gününde toplam çözülebilir protein içeriğinde meydana gelen değişiklikler Şekil 24'de sunulmuştur.

A. franciscana-Toplam Protein



Şekil 24. Kontrol ortamında kültüre alınan, N-açlığı ve tuz stresi uygulanmış mikroalglerle beslenen *Artemia*'ların 5 gün sonunda protein içeriklerinde meydana gelen değişiklikler. Gruplar içerisinde %95 güven aralığında istatistiksel olarak anlamlı bulunan değişiklikler için (*) imgesi kullanılmıştır.

D. tertiolecta mikroalgi ile beslenen *Artemia*'ların toplam protein içerikleri diğer mikroalglerle beslenenlere kıyasla daha yüksek düzeyde belirlenmiştir. Kontrol ortamında kültüre alınan *D. tertiolecta* ile beslenen *A. franciscana*'nın toplam protein içeriği kuru ağırlık bazında %48,6 olarak belirlenirken bu değer N-açlığı ve tuz stresine maruz bırakılmış *D. tertiolecta* ile beslenen *A. franciscana*'da sırasıyla %36,2 ve %38,4'e düştüğü kaydedilmiştir (Şekil 24).

Kontrol ortamında kültüre alınan *N. oculata* ile beslenen *Artemia*'ların toplam protein içerikleri kuru ağırlık bazında %33,9 olarak ölçülmüş, N-açlığı uygulanmış *N. oculata* ile beslenen *Artemia*'larda bu değer %25,3'e kadar düşmüştür. Tuz stresi uygulanmış *N. oculata* ile beslenen *Artemia*'ların protein içeriklerinde önemli bir değişim belirlenmemiştir.

T. chuii mikroalgi ile beslenen *Artemia*'ların toplam protein içerikleri %26,6 olarak belirlenmiş, N-açlığı uygulanmış *T. chuii* ile beslenen *Artemia*'larda önemli bir değişim olmasa da tuz stresine maruz bırakılmış *T. chuii* ile beslenen *Artemia*'larda bu değer %32,5 olarak kaydedilmiştir.

T. suecica mikroalgi ile beslenen *Artemia*'ların toplam protein içerikleri %37,6 olarak belirlenmiş, tuz stresi uygulanmış *T. suecica* ile beslenen *Artemia*'larda kaydadeğer bir

değişim görülmemiştir. Öte yandan N-açlığı uygulanmış *T.suecica* ile beslenmiş olan *Artemia*'ların toplam protein içerikleri önemli düzeyde azalmış ve %28,5 olarak belirlenmiştir.

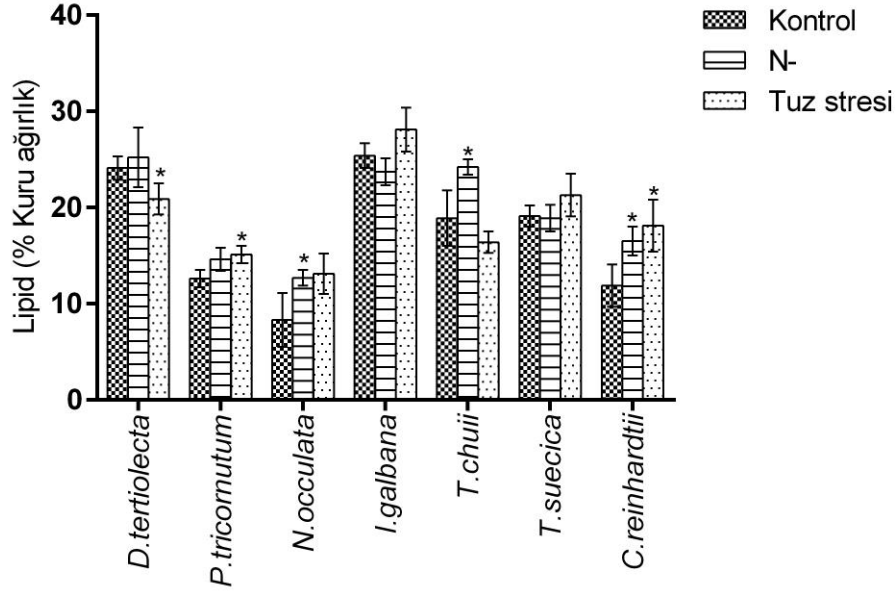
P.tricorutum, *I.galbana* veya *C.reinhardtii* ile beslenen *Artemia*'ların toplam protein içerikleri %30 düzeylerinde kaydedilmiş, N-açlığı ya da tuz stresi uygulanmış olan *P.tricorutum*, *I.galbana* veya *C.reinhardtii* ile beslenen *Artemia*'larda protein miktarı bakımından önemli bir değişiklik belirlenmemiştir (Şekil 24).

Artemia beslenmesinde kullanılacak olan mikroalgin özellikle protein, sterol, karbohidrat ve vitamin içeriğinin yanında doymamış yağ asidi içeriğinin de zengin olması aranan özelliklerin başında gelir (Hemaiswarya vd., 2011). Bununla birlikte kullandığı besinin *Artemia* içinde dönüşümü, bu organizmanın metabolizmasına hangi yönde yansıdığı da önemlidir (Patil vd.,2007). Bu çalışmada kullanılan mikroalgler içerisinde *D.tertiolecta*'nın *Artemia*'daki protein içeriğini diğer türlere kıyasla en yüksek düzeyde artırdığı kaydedilmiştir. Öte yandan stres uygulanan *D.tertiolecta*'daki protein üretiminde kaydedilen düşüş, stres uygulamış *Artemia*'da da kendini göstermiştir. Çalışılan türler içerisinde *D.tertiolecta* hücre duvarı olmayan (Oliveria vd., 1980) ve protein içeriği bakımından daha zengin bir tür olarak göze çarpmaktadır. Dolayısıyla *Artemia* beslenmesi açısından bu türün hem sindirimi daha kolay ve böylece besin dönüşümü de daha hızlı olabilir.

4.6.2 Stres Uygulanmış Mikroalglerle Beslenen *Artemia*'ların Toplam Lipid İçeriğinde Meydana Gelen Değişiklikler

Kontrol ortamında kültüre alınan mikroalglerin yanında 5 gün boyunca N-açlığı ya da tuz stresi uygulanmış olan mikroalglerle beslenen *A.franciscana*'da büyümenin 5. gününde toplam lipid içeriğinde meydana gelen değişiklikler Şekil 25'de sunulmuştur.

A. franciscana-Toplam Lipid



Şekil 25. Kontrol ortamında kültüre alınan, N-açlığı ve tuz stresi uygulanmış mikroalglerle beslenen *Artemia*'ların 5 gün sonunda lipid içeriklerinde meydana gelen değişiklikler. Gruplar içerisinde %95 güven aralığında istatistiksel olarak anlamlı bulunan değişiklikler için (*) imgesi kullanılmıştır.

D. tertiolecta ve *I. galbana* ile beslenen *Artemia*'ların toplam lipid içerikleri diğer mikroalglerle kıyasla yüksek düzeyde belirlenmiştir (Şekil 25). *I. galbana* mikroalgine stres uygulaması bu mikroalg ile beslenen *Artemia*'ların toplam lipid içeriğinde önemli bir değişime sebep olmamıştır. Öte yandan tuz stresi uygulanmış *D. tertiolecta* ile beslenen *Artemia*'ların toplam lipid içeriği kontrol ortamında kültüre alınan *D. tertiolecta* ile beslenen *Artemia*'lara kıyasla daha düşük düzeyde belirlenmiştir. Uygun büyüklükte olmasının yanında *Artemia*'nın lipid ve karbohidrat içeriklerinde artışı uyaran Isochrysis türleri *Artemia* yetiştiriciliğine sıklıkla tercih edilmektedir (Herawati vd., 2014). Bu çalışmada *I. galbana* ile birlikte *D. tertiolecta*'nın da *Artemia*'da lipid üretimine katkı sağladığı görülmüştür.

P. tricornutum ve *N. oculata* ile beslenen *Artemia*'ların toplam lipid içerikleri diğer mikroalglerle beslenenlere kıyasla daha düşük düzeyde belirlenmiştir. Bunun yanında, tuz stresi uygulanan *P. tricornutum* ve N-açlığında kültüre alınan *N. oculata* ile beslenen *Artemia*'larda kontrol gruplarına kıyasla daha yüksek düzeylerde lipid içeriği belirlenmiştir.

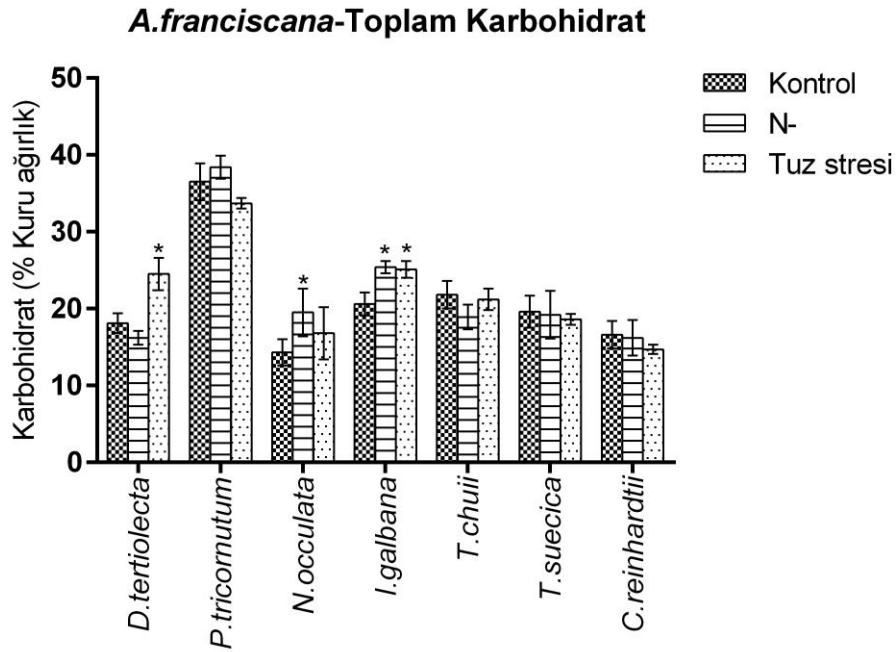
Tetraselmis türleri ile beslenen *Artemia*'ların ölçülen toplam lipid içerikleri 5 günlük beslenmenin sonunda yaklaşık olarak %19 düzeylerinde ölçülmüştür. Stres uygulanmış olan *T. suecica* ile beslenmede bu değer önemli oranda değişmemiş, ancak N-açlığına

maruz bırakılmış *T.chuii* ile beslenen *Artemia*'ların toplam lipid içeriği %24,2'ye kadar çıkmıştır.

Son olarak *C.reinhardtii* ile beslenen *Artemia*'ların %11,9 olarak ölçülen toplam lipid içeriği N-açlığı ve tuz stresi uygulanmış *C.reinhardtii* ile beslendiğinde sırasıyla %16,5 ve %18,1'e kadar yükselmiştir (Şekil 25).

4.6.3 Stres Uygulanmış Mikroalglerle Beslenen *Artemia*'ların Toplam Karbohidrat İçeriğinde Meydana Gelen Değişiklikler

Kontrol ortamında kültüre alınan mikroalglerin yanında 5 gün boyunca N-açlığı ya da tuz stresi uygulanmış olan mikroalglerle beslenen *A.franciscana*'da büyümenin 5. gününde toplam karbohidrat içeriğinde meydana gelen değişiklikler Şekil 26 'de sunulmuştur.



Şekil 26. Kontrol ortamında kültüre alınan, N-açlığı ve tuz stresi uygulanmış mikroalglerle beslenen *Artemia*'ların 5 gün sonunda karbohidrat içeriklerinde meydana gelen değişiklikler. Gruplar içerisinde %95 güven aralığında istatistiksel olarak anlamlı bulunan değişiklikler için (*) imgesi kullanılmıştır.

P.tricornutum ile beslenen *Artemia*'ların toplam karbohidrat içerikleri diğer mikroalgler ile beslenen gruplara kıyasla daha yüksek düzeyde belirlenmiştir. Kontrol ortamında kültüre alınan *P.tricornutum* ile beslenen *Artemia*'ların toplam karbohidrat içerikleri yaklaşık

olarak %36,5 düzeylerinde ölçülmüş, N-açlığı ya da tuz stresi uygulanan *P.tricornutum* ile beslenen *Artemia*ların toplam karbohidrat içeriği kayda değer bir değişim sergilememiştir (Şekil 26).

Kontrol ortamında kültüre alınan *D.tertiolecta* mikroalgi ile beslenen *Artemia*ların toplam karbohidrat içeriği %18,1 olarak belirlenmiş, tuz stresi uygulanan Dunaliellalarla beslenen *Artemia*larda bu değer %24,5 olarak ölçülmüştür.

N. oculata ile beslenen *Artemia*ların toplam karbohidrat içerikleri %14,3 olarak ölçülürken N-açlığı uygulanmış *N.oculata* ile beslenen *Artemia*ların toplam karbohidrat içerikleri %19,5'e kadar yükselmiştir.

I.galbana mikroalgi ile beslenen *Artemia*ların toplam karbohidrat içerikleri yaklaşık olarak %20,6 düzeylerinde iken N-açlığı ya da tuz stresi uygulanmış olan mikroalglerle beslenen *Artemia*larda bu oran sırasıyla %25,4 ve 25,1'e kadar yükselmiştir.

Son olarak *T.chuii*, *T.suecica* veya *C.reinhardtii* ile beslenen *Artemia*ların toplam karbohidrat içerikleri sırasıyla ortalama %21 , %19 ve %16 düzeylerinde belirlenmiş ve bu mikroalglerle N-açlığı ya da tuz stresi uygulanması *Artemia*ların toplam karbohidrat içeriklerinde önemli bir değişikliğe sebep olmamıştır.

4.6.4 Stres Uygulanmış Mikroalglerle Beslenen *Artemia*ların Yağ Asidi Profilleri

Bu aşamaya kadar yapılan çalışmalarda *A.franciscana*'nın toplam protein, lipid ve karbohidrat içeriğinin artırılmasına yönelik uygulanan mikroalg diyetinde öne çıkan bulgular şu şekilde değerlendirilmiştir:

*Artemia*ların toplam protein içeriğinin artırılmasına yönelik uygulanan mikroalg diyeti verileri değerlendirildiğinde; *D. tertiolecta* mikroalgi ile beslenen *Artemia*ların toplam protein içeriği diğer mikroalglerle beslenen gruplara kıyasla yaklaşık olarak 1,3-1,8 kat daha yüksek düzeyde kaydedilmiştir. *D.tertiolecta* mikroalgine N-açlığı ya da tuz stresi uygulandığında *Artemia*ların toplam protein içerikleri kontrol grubu ile beslenenlere kıyasla düşse de hala diğer mikroalglerle beslenen gruplara kıyasla nispeten yüksek düzeyde belirlenmiştir.

*Artemia*ların toplam lipid içeriğinin artırılmasına yönelik uygulanan mikroalg diyeti verileri değerlendirildiğinde; *D.tertiolecta* ve *I.galbana* mikroalgleri ile beslenen *Artemia*ların toplam lipid içeriği diğer mikroalglerle beslenen gruplara kıyasla dikkate değer oranda yüksek olarak belirlenmiştir.

Artemia'ların toplam karbohidrat içeriğinin artırılmasına yönelik uygulanan mikroalg diyeti verileri değerlendirildiğinde; *P.tricornutum* mikroalgi ile beslenen *Artemia*'ların toplam karbohidrat içerikleri diğer tüm mikroalglerle beslenen *Artemia*'lara kıyasla ortalama 1,3-2,5 kat daha yüksek düzeyde bulunmuştur.

Böylece, takip eden çalışmalarda 5 gün boyunca kontrol ortamında kültüre alınan, N-eksik ortamda kültüre alınan ya da tuz stresi uygulanmış olan *D.tertiolecta*, *I.galbana* ve *P.tricornutum* mikroalgleri, *A.franciscana*'nın yağ asidi ve aminoasit profillerinde meydana gelen değişimin belirlenmesi amacıyla kullanılmıştır. Kistten çıkarılan *Artemia*'lar 5 gün boyunca kontrol ortamında yetiştirilmiş ve stres uygulanan mikroalglerle (6000 alg/gün) beslenmiş ve 5. günün sonunda hasat edilen *Artemia*'ların Yağ Asidi Metil Ester (YAME) ve Aminoasit profilindeki değişimler belirlenmiştir. Aşağıda *Artemia*'ların YAME profilinde meydana gele değişimler sunulmuştur (Tablo 7)

Tablo 7. Kontrol ortamı, N-eksik ortamda ya da tuz stresi uygulanmış mikroalglerle beslenen *Artemia*'ların YAME profilleri. Tabloda sadelik adına çok düşük olan hata değerleri işlenmemiştir.

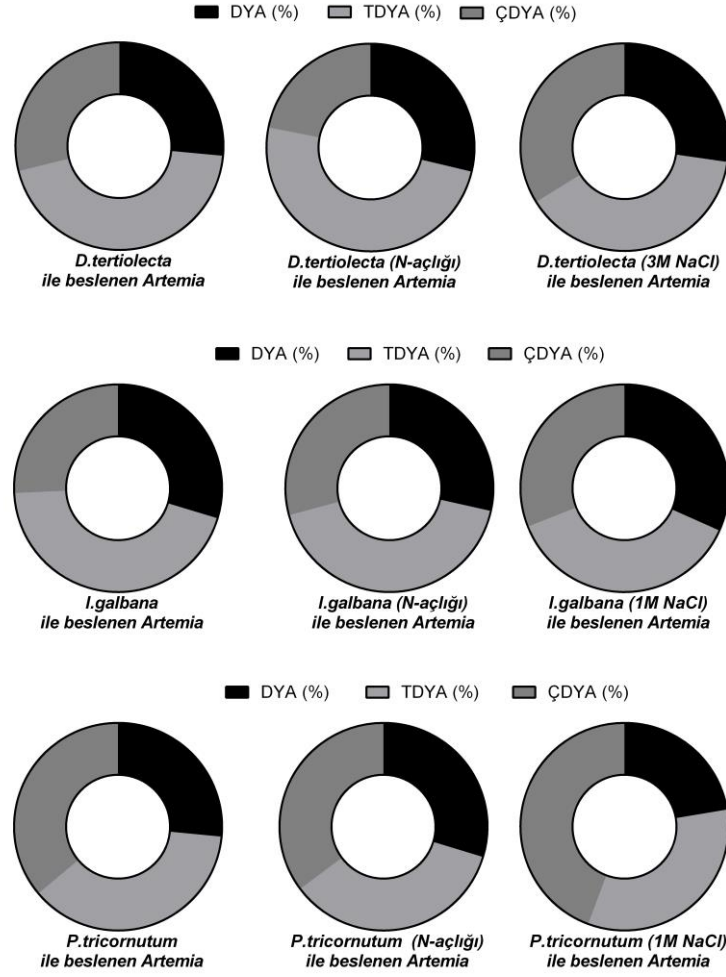
Yağ asidi adı	<i>D. tertiolecta</i> ile beslenen <i>Artemia</i>			<i>I. galbana</i> ile beslenen <i>Artemia</i>			<i>P. tricornutum</i> ile beslenen <i>Artemia</i>		
	Kontrol	-N	Tuz (3M)	Kontrol	-N	Tuz (1M)	Kontrol	-N	Tuz (1M)
C14:0 (Tetradekanoik asit)	3,20	3,58	2,72	2,15	1,65	1,40	2,68	2,81	1,75
C16:0 (Palmitik asit)	15,25	16,35	14,49	14,25	12,50	15,50	8,35	11,70	8,70
C16:1 (Palmitoleik asit)	17,20	19,25	15,82	12,65	14,50	10,80	18,20	16,10	14,10
C17:0 (Heptadekanoik asit)	1,30	1,59	1,43	3,22	2,70	2,80	6,70	4,65	2,25
C18:0 (Stearik asit)	6,70	7,17	8,44	9,23	10,65	11,30	8,75	10,25	9,40
C18:1 trans (Elaidik asit)	11,50	12,19	10,10	9,25	8,25	9,50	10,45	9,60	11,50
C18:1 cis (Oleik asit)	15,60	17,47	12,40	22,50	19,24	16,65	8,65	9,25	7,65
C18:2 cis (Linoleik asit)	8,53	7,15	9,80	9,85	13,80	12,50	5,85	6,74	6,45
C18:3 n3 (Linolenik asit)	----	----	----	0,78	0,40	----	0,35	----	0,40
C20:1 (cis -11- eicosenoik asit)	0,30	0,40	0,30	----	----	----	----	----	----
C20:3n6 (cis-8,11,14-eicosatrienoik asit)	0,20	----	0,40	0,80	0,50	0,40	----	----	----
C20:3n3 (cis-11,14,17-eicosatrienoik asit)	0,60	----	0,70	0,50	0,30	0,50	----	----	0,20
C20:4 (Araşidonik asit)	2,80	2,55	3,30	3,45	4,31	4,55	4,15	3,65	5,25
C20:5 (eikosapentaenoik asit)	16,20	12,15	19,10	10,25	9,65	12,60	25,30	24,70	31,40
C21:0 (Heneikosanoik asit)	----	----	----	0,70	0,8	0,40	----	0,20	0,2
C22:2 (cis 13,16 –dokosadienoik asit)	0,50	----	0,30	----	----	0,20	----	----	0,2
C22:5 (cis 13,16 –dokosadienoik asit)	----	----	----	----	----	----	0,40	----	0,30
Σ DYA	26,45	28,69	27,08	29,55	28,30	31,40	26,48	29,61	22,30
Σ TDYA	44,60	49,31	38,62	44,40	41,99	36,95	37,30	34,95	33,25
Σ ÇDYA	28,83	21,85	33,60	25,63	28,96	30,75	36,05	35,09	44,20

Stres uygulanmış *D.tertiolecta*, *I.galbana* ve *P.tricornutum* mikroalgleri ile 5 gün boyunca beslenen *Artemia*'ların yağ asidi profilleri incelendiğinde özellikle *P.tricornutum* mikroalgi ile beslenen *Artemia*'ların ÇDYA içerikleri diğer iki mikroalge kıyasla daha yüksek düzeyde belirlenmiştir (Tablo 7). *D.tertiolecta* ve *I.galbana* ile beslenen *Artemia*'ların ÇDYA içerikleri sırasıyla %28,83 ve %25,63 olarak belirlenmişken *P.tricornutum* ile beslenen *Artemia*'larda bu oran % 36,05 olarak kaydedilmiştir.

Yine tüm türler için N-açlığına bırakılan mikroalglerle beslemenin *Artemia*'ların yağ asidi profillerinde kayda değer bir değişime sebep olmazken özellikle tuz stresi uygulanan mikroalglerle beslenen *Artemia*'ların ÇDYA içeriklerinde artışa sebep olduğu anlaşılmıştır (Tablo 7). Bu durum mevcut proje çalışmasında çok dikkate değer ve öne çıkan bir bulgu olarak kaydedilmiştir. Tuz stresi uygulanmış *D.tertiolecta* ile beslenen *Artemia*'ların ÇDYA içerikleri %28,8'den %33,6'ya *I.galbana* ile beslenen *Artemia*'ların ÇDYA içerikleri %25,63'ten %30,75'e ve *P.tricornutum* ile beslenen *Artemia*'ların ÇDYA içerikleri %36,05'den %44,20'ye çıkmıştır. Balık larvalarının beslenmesinde kullanılan rotier ve *Artemia*'ların esansiyel aminoasitleri üretmediği ve ÇDYA bakımından da fakir oldukları bilinmektedir (Eryalçın, 2018). Diğer taraftan *Artemia* larvaları balık ve karidesler için de esansiyel PUFA kaynağıdır (Balachandar ve Rajaram, 2019). Dolayısıyla ÇDYA içeriği artırılmış *Artemia*'lar balık ve karides üretimi için tercih edilirler. Zira levrek larvalarının beslenmesinde çoklu doymamış yağ asidi bakımından zenginleştirilen *Artemia*'ların kullanılması yaşama oranını %24'ten %64'e yükseltmiştir (Lemm ve Lemaire, 1991).

Araşidonik asit (ARA; C20:4n-6), Eicosapentaenoik asit (EPA; 20:5n-3), ve Dekosaheksaenoik asit (DHA; 22:6n-3) gibi ÇDYA'nın deniz balıkları ve kabuklularının özellikle erken gelişim dönemlerinde hücre zarının yapısı ve dokuların fonksiyonu açısından önemli metabolik fonksiyonlara sahip olduğu ve enerji kaynağı olarak rol oynadıkları bildirilmiştir (Tocher, 2003; Izquierdo, 2005). Bu çalışmada, *Artemia*'ların ÇDYA içeriğindeki değişime içerdikleri ARA ve EPA içeriğindeki artışın ön plana çıktığı anlaşılmaktadır. Özellikle tuz stresi uygulanmış *D.tertiolecta* ile beslenen *Artemia*'ların EPA içerikleri %16,2'den %19,1'e *I.galbana* ile beslenen *Artemia*'ların ÇDYA içerikleri %10,25'ten %12,60'a ve *P.tricornutum* ile beslenen *Artemia*'ların ÇDYA içerikleri %25,30'dan %31,40'a çıktığı kaydedilmiştir.

Aşağıdaki şekilde stres uygulanmış mikroalglerle beslenen *Artemia*'ların DYA, TDYA ve ÇDYA içeriklerindeki değişimin görsel olarak daha iyi anlaşılması için şekil olarak da sunulmuştur (Şekil 27).



Şekil 27. Kontrol ortamı, N-eksik ortamda ya da tuz stresi uygulanmış mikroalglerle beslenen *Artemia*'ların YAME profillerinde meydana gelen değişimler.

4.6.5 Stres Uygulanmış Mikroalglerle Beslenen *Artemia*'ların Aminoasit Profilleri

Farklı mikroalglerle beslenen *Artemia*'ların aminoasit profilleri beslendiği mikroalgin türüne bağlı olarak farklı regülasyon örnekleri sergilemiştir. Bununla birlikte bu durum aynı türün N-eksik ya da tuz stresi uygulanmış grupları ile beslenen *Artemia*'larda da oransal farklılıklar göstermiştir (Tablo 8).

Tablo 8. Kontrol ortamı, N-eksik ortamda ya da tuz stresi uygulanmış mikroalglerle beslenen *Artemia*'ların aminoasit profilleri. Tabloda sadelik adına çok düşük olan hata değerleri işlenmemiştir. Farklı uygulamalar arasındaki farklılığın karşılaştırılması için tek yönlü ANOVA ve Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır ($P < 0.05$).

		<i>D. tertiolecta</i>			<i>I. galbana</i>			<i>P. tricornutum</i>		
		Kontrol	N-	Tuz	Kontrol	N-	Tuz	Kontrol	N-	Tuz
Esansiyel aminoasitler	Treonin	4,61 ^b	4,75 ^b	4,26 ^b	5,16 ^a	4,15 ^b	5,82 ^a	4,65 ^b	4,22 ^b	4,60 ^b
	Valin	4,78 ^b	5,68 ^a	5,12 ^b	4,86 ^b	4,93 ^b	5,24 ^b	5,24 ^b	5,78 ^a	4,26 ^c
	Methionin	1,32 ^e	1,90 ^c	1,70 ^d	1,33 ^e	2,65 ^b	2,45 ^b	2,85 ^b	2,20 ^c	3,15 ^a
	İsolösin	2,87 ^c	4,35 ^a	4,55 ^a	4,10 ^a	3,66 ^b	4,26 ^a	4,45 ^a	2,94 ^c	4,20 ^a
	Lösin	8,16 ^b	9,26 ^a	7,85 ^b	7,62 ^c	9,50 ^a	10,30 ^a	7,26 ^c	8,26 ^b	9,18 ^a
	Fenilalanin	4,85 ^d	4,83 ^d	5,65 ^c	5,26 ^c	7,15 ^b	8,25 ^a	5,22 ^c	7,22 ^b	4,50 ^d
	Histidin	1,12 ^c	1,45 ^c	2,15 ^b	1,44 ^c	1,52 ^c	2,34 ^b	1,65 ^c	3,15 ^a	1,20 ^c
	Lizin	5,17 ^a	3,65 ^c	6,10 ^a	4,65 ^b	5,46 ^a	2,47 ^d	5,92 ^a	4,20 ^b	5,20 ^a
	Arginin	14,90 ^a	16,12 ^a	13,70 ^a	9,60 ^b	8,95 ^b	8,15 ^b	6,12 ^c	7,12 ^c	5,62 ^c
	Triptofan	1,32 ^b	1,80 ^a	1,75 ^a	1,81 ^a	1,05 ^b	1,80 ^a	2,15 ^a	1,70 ^a	1,15 ^b
Esansiyel olmayan aminoasitler	Aspartik Asit	8,10 ^c	8,26 ^c	8,25 ^c	11,30 ^a	10,52 ^a	8,50 ^c	9,80 ^b	9,76 ^b	10,66 ^a
	Serin	5,10 ^a	4,12 ^b	4,95 ^a	4,65 ^a	4,31 ^b	4,65 ^a	5,15 ^a	4,82 ^a	4,60 ^a
	Glutamik Asit	14,20 ^a	9,24 ^d	11,30 ^c	13,10 ^b	12,60 ^b	13,20 ^b	15,20 ^a	13,80 ^a	14,20 ^a
	Prolin	5,70 ^b	6,72 ^b	6,50 ^b	4,25 ^c	5,00 ^c	4,26 ^c	6,70 ^b	8,26 ^a	9,16 ^a
	Glisin	4,96 ^b	6,15 ^b	5,90 ^b	8,30 ^a	6,75 ^a	7,85 ^a	5,12 ^b	4,55 ^b	4,83 ^b
	Alanin	8,22 ^a	7,86 ^a	7,30 ^a	7,50 ^a	6,80 ^b	5,35 ^b	6,95 ^b	8,22 ^a	8,36 ^a
	Sistein	1,33 ^b	1,16 ^b	1,12 ^b	1,21 ^b	1,65 ^a	1,31 ^b	1,65 ^a	1,05 ^c	1,50 ^a
	Tirozin	2,75 ^b	2,35 ^b	1,70 ^c	3,12 ^a	3,25 ^a	3,45 ^a	3,54 ^a	2,66 ^b	3,20 ^a
	ΣEsansiyel	49,10 ^a	53,79 ^a	52,83 ^a	45,83 ^b	49,02 ^a	51,08 ^a	45,51 ^b	46,79 ^b	43,06 ^c
	ΣNonesansiyel	50,36 ^a	45,86 ^b	47,02 ^b	53,43 ^a	50,88 ^a	48,57 ^b	54,11 ^a	53,12 ^a	56,51 ^a

Canlı organizmalarda aminoasitler proteinlere bağlı olarak polimerize halde ya da genellikle hücre sitoplazmalarında serbest aminoasitler halinde bulunurlar. Protein sentezi ve nükleik asit, nörotransmitterler ve bazı metabolik enzimlerin üretimi için hücresel aminoasit kaynağının sürekli olması ve çeşitliliğinin de korunması gereklidir (Halver ve Hardy, 2002). Balıklarda protein sentezi için kullanılan 20 farklı aminoasidin yukarıdaki tabloda belirtilen yarısı esansiyel, diğer yarısı da esansiyel olmayan aminoasitlerden ibarettir (Wilson, 2002). Sistein ve tirozin aminoasitleri sırasıyla metionin ve fenilalanin aminoasitlerinden sentezlenebildikleri için bu aminoasitler yarı-esansiyel aminoasitler olarak kabul edilirler. Proteinlerin temel yapı taşları olmasının yanında aminoasitler, çoğunlukla deaminasyon reaksiyonları ile karbon iskeletlerine katılarak enerji üretimi, lipogenez ve glukoneogenez reaksiyonlarında kullanılırlar (Ballantyne, 2001). Erken

büyüme döneminde balıkların kas gelişimi açısından balık yemlerinin içerdikleri aminoasitlerin (serbest ve protein bağlı aminoasitler) miktarı ve çeşitliliği bakımından zengin olması istenir (Carter ve Houlihan, 2001). Bu çalışmada genel olarak mikroalglerle beslenen *Artemia*'ların esansiyel aminoasitlerden Arginin, Lösin, Fenilalanin, Valin, Treonin ve Lizin aminoasitleri; esansiyel olmayan aminoasitlerden Glutamik asit, Aspartik asit, Alanin, Prolin, Glisin ve Serin aminoasitleri baskın formdaki aminoasitler olarak belirlenmiştir.

Glutamik asit genel olarak *Artemia*'da en yüksek oranda bulunan aminoasit olsa da *D.tertiolecta* mikroalgi ile beslenen *Artemia*'lardaki Arginin aminoasiti *I.galbana* ve *P.tricornutum* mikroalgleri ile beslenen *Artemia*'lara kıyasla sırasıyla ortalama 1,7 ve 2,4 kat daha fazla düzeyde belirlenmiştir. Diğer taraftan *I.galbana* mikroalgi ile beslenen *Artemia*'larda Glisin aminoasiti *D.tertiolecta* ve *P.tricornutum* mikroalgleri ile beslenen *Artemia*'lara kıyasla sırasıyla ortalama 1,35 ve 1,6 kat daha fazla düzeyde belirlenmiştir. Serbest aminoasitlerden arginin, glisin, sistein ve alaninin çupra larvalarının beslenmesinde büyüme ile besin tüketiminde hazmı kolaylaştırıcı etkileri olduğu bildirilmiştir (Kolkovoski vd., 1997).

Glutamik asit içeriği *P.tricornutum* mikroalgi ile beslenen *Artemia*'larda diğer mikroalglerle beslenen *Artemia*'lara kıyasla daha yüksek düzeyde belirlenmiştir. Genel olarak esansiyel ve esansiyel olmayan aminoasit oranları birbirine yakın bulunsa da *P.tricornutum* mikroalgi ile beslenen *Artemia*'larda toplam esansiyel olmayan aminoasitlerin esansiyel aminoasitlere kıyasla ortalama %21 daha yüksek düzeyde belirlenmiştir. Protein sentezi için esansiyel aminoasitlerin uygun oranlarda bulunması gereklidir (Carter ve Houlihan, 2001). Diğer taraftan hücredeki aminoasitlerin oranları çevresel faktörlere ya da canlı türünün metabolik aktivitesine bağlı olarak dinamik değişiklikler sergileyebilir (Wilson, 2002).

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu araştırma projesi kapsamında, ülkemizde daha önce yaptığımız saha çalışmalarıyla saflaştırılarak kültüre alınmış *Dunaliella*, *Isochrysis*, *Phaeodactylum*, *Tetraselmis*, *Nannochloropsis*, *Spirulina*, *Synechocystis*, *Synechococcus*, *Haematococcus*, *Chlamydomonas*, *Chlorella* ve *Scenedesmus* cinslerine ait 20 farklı mikroalg ve siyanobakteri türünün öncelikle ikiye katlanma süreleri ve besinsel değerlerini gösteren nisbi kuru ağırlık, toplam protein, karbohidrat ve lipid içerikleri belirlenmiştir.

Daha sonra söz konusu mikroalg ve siyanobakteri türleri ile beslenen *Artemia franciscana*'ların 12 gün boyunca hayatta kalma oranları ve zamana göre boy uzunluklarında meydana gelen değişimler belirlenmiştir. Yapılan çalışmada, özellikle denizel mikroalg türleri ile beslenen *Artemia*'ların tatlı su mikroalgleri ile beslenenlere kıyasla daha uzun boy uzunluklarına sahip oldukları ve daha iyi büyüdükleri kaydedilmiştir. Çalışılan türler içerisinde *Chlorella* sp., *Chlorella variabilis*, *C. vulgaris* C27, *Haematacoccus pluvialis*, *Scenedesmus obliquus*, *Scenedesmus acutus*, *Scenedesmus dimorphus*, *Synechocystis* sp. ve *Synechococcus* sp. türleri ile beslenen *Artemia*'lardan 6 günlük veri alınabilmektedir. Bu günden sonra bu türler ile beslenen *Artemia* bireylerinin öldüğü tespit edilmiştir. *Spirulina platensis* türü ile beslenen *A. franciscana*'nın ise 7 günlük büyümesi gözlenebilmiştir. Yine de projeye konu olan tüm mikroalglerle beslenen *Artemia*'ların genel besinsel özelliklerinin değerlendirilebilmesi amacıyla 5 gün boyunca projeye konu olan mikroalg ve siyanobakterilerle beslenen *Artemia*'ların nisbi kuru ağırlık, toplam protein, lipid ve karbohidrat içerikleri analiz edilmiştir. Yapılan ölçümler sonucunda denizel mikroalg türlerinin genel olarak *Artemia*'ların yalnızca büyümesinde değil, toplam protein, lipid ve karbohidrat içeriği bakımından da yüksek değerler sergilediği anlaşılmıştır.

Böylece *Artemia*'ların beslenme ve kullanılan mikroalglerin genel besinsel özellikleri değerlendirildiğinde çalışmanın ilerleyen aşamalarına *Dunaliella tertiolecta*, *Isochrysis galbana*, *Nannochloropsis oculata*, *Phaeodactylum tricornutum*, *Tetraselmis chuii*, *Tetraselmis suecica* ve bir de tatlı su mikroalgi *Chlamydomonas reinhardtii* CC-1690 türleri ile devam edilmesi kararlaştırılmıştır.

Çalışmanın sonraki aşamasında seçilen mikroalglerin artan tuz yoğunluğu ve makroelement açlığına (N-eksik, S-eksik, P-eksik) tepkide genel besinsel özelliklerini yansıtan toplam protein, lipid ve karbohidrat içeriklerinde meydana gelen değişiklikler belirlenmiştir. Genel olarak ifade etmek gerekirse, stres uygulaması çalışılan tüm mikroalglerin toplam protein içeriğinde azalmaya, birçoğunun toplam lipid üretiminde

önemli artışlara sebep olmuş, mikroalglerin toplam karbohidrat içerikleri de türe özgü değişiklikler sergilemiştir. Özellikle N-açlığı uygulanan tüm mikroalglerde toplam protein içeriğindeki sert düşüşü lipid üretimindeki önemli artış takip etmiştir. Yine N- ve S-açlığı uygulamaları denizel mikroalglerin toplam karbohidrat içeriklerinde önemli bir değişimi tetiklemeyen, bir tatlısu mikroalgi olan *C.reinhardtii* mikroalginde istatistiksel olarak anlamlı artışlara sebep olmuştur. Öte yandan S-açlığı uygulaması *D.tertiolecta*, *N.occulata*, *I.galbana*, *T.chuii* ve *C.reinhardtii* mikroalglerinin toplam lipid üretiminde önemli artışlara sebep olmuştur. Fosfor açlığı uygulaması genel olarak diğer stres uygulamalarına kıyasla protein içeriğinde nispeten daha düşük oranda azalmaya sebep olsa da mikroalglerin lipid ve karbohidrat içerikleri üzerine diğer stres uygulamaları kadar etkili olmamıştır. Fosfor açlığı uygulanan *D.tertiolecta* ve *N.occulata* mikroalglerinde hem toplam lipid ve hem de toplam karbohidrat içeriklerinde anlamlı artışlar kaydedilirken *P.tricornutum*, *T.chuii* ve *C.reinhardtii* mikroalglerinde yalnızca lipid üretiminde önemli artışa sebep olmuştur. Son olarak tuz stresi uygulaması çalışılan tüm türlerde toplam lipid üretimini önemli oranda uyarmış, *I.galbana* ve *C.reinhardtii* dışında çalışılan tüm mikroalglerde karbohidrat içeriğini de önemli düzeyde uyarmıştır.

Çalışılan türlerin toplam lipid üretimleri özellikle N-açlığına tepkide en yüksek düzeylerde artmıştır. Bu sebeple kontrol ortamı ve 5 gün boyunca N-açlığı uygulanmış mikroalglerin Yağ asidi metil ester (YAME) profillerinde meydana gelen değişiklikler belirlenmiştir. Genel olarak kontrol ya da N-açlığı uygulanan türlerin doymuş yağ asidi (DYA) içerikleri yaklaşık %32-%68, Tekli doymamış yağ asidi içerikleri yaklaşık %17-%46, Çoklu doymamış yağ asidi içerikleri ise yaklaşık olarak %10-%29 arasında değişiklik sergilemiştir.

Besinsel içerikleri açısından değerlendirildiğinde *Artemia*'nın beslenmesinde stres uygulanan mikroalglerin kullanılması için seçilen türlerin N-açlığı ve tuz stresi uygulanan grupları takip eden çalışmalar için kullanılmıştır. Çünkü çalışılan çoğu mikroalgde bu iki stres uygulamasında verilen cevaplar çalışılan çoğu mikroalg için net cevaplar olarak tanımlanmıştır. Takip eden çalışmalarda 5 gün boyunca N-açlığı ya da tuz stresine maruz bırakılmış olan mikroalglerle beslenen *Artemia*'ların toplam protein, lipid ve karbohidrat içerikleri 5.günün sonunda değerlendirilmiştir.

Dunaliella tertiolecta mikroalgi *Artemia*'nın toplam protein içeriğini çalışılan diğer türlere göre en yüksek düzeyde artırmış, N-açlığı ya da tuz stresi uygulanan *D. tertiolecta* ile beslenen *Artemia*'larda kontrole kıyasla düşüş olsa da hala çoğu türe kıyasla yüksek düzeyde belirlenmiştir. Böylece *Artemia*'nın toplam protein içeriğinin artırılması bakımından bu tür ön plana çıkmıştır.

D.tertiolecta ve *I.galbana* ile beslenen *Artemia*'ların toplam lipid içerikleri diğer mikroalglerle kıyasla yüksek düzeyde belirlenmiştir. *I.galbana* mikroalgine stres uygulaması bu mikroalg ile beslenen *Artemia*'ların toplam lipid içeriğinde önemli bir değişime sebep olmamıştır. Öte yandan tuz stresi uygulanmış *D.tertiolecta* ile beslenen *Artemia*'ların toplam lipid içeriği kontrol ortamında kültüre alınan *D.tertiolecta* ile beslenen *Artemia*'lara kıyasla daha düşük düzeyde belirlense de *I.galbana* dışındaki diğer mikroalglerle kıyasla hala daha yüksek düzeyde belirlenmiştir. Sonuç olarak *Artemia*'nın toplam lipid içeriğinin artırılması açısından *D.tertiolecta* ve *I.galbana* mikroalgleri diğer türlere kıyasla öncelikli olarak değerlendirilmiştir.

P.tricornutum ile beslenen *Artemia*'ların toplam karbohidrat içerikleri diğer mikroalgler ile beslenen gruplara kıyasla daha yüksek düzeyde belirlenmiştir. Kontrol ortamında kültüre alınan *P.tricornutum* ile beslenen *Artemia*'ların toplam karbohidrat içerikleri diğer mikroalglerle beslenen *Artemia*'lara kıyasla çok daha yüksek düzeyde belirlenmiş, N-açlığı ya da tuz stresi uygulanan *P.tricornutum* ile beslenen *Artemia*'ların toplam karbohidrat içeriği kayda değer bir değişim sergilememiştir. Bu sebepe *Artemia*'nın toplam karbohidrat içeriğinin artırılması bakımından *P.tricornutum* mikroalgi ön plana çıkmıştır.

Böylece, takip eden çalışmalarda 5 gün boyunca kontrol ortamında kültüre alınan, N-eksik ortamda kültüre alınan ya da tuz stresi uygulanmış olan *D.tertiolecta*, *I.galbana* ve *P.tricornutum* mikroalgleri *A.franciscana*'nın yağ asidi ve aminoasit profillerinde meydana gelen değişimin belirlenmesi amacıyla kullanılmıştır.

Stres uygulanmış *D.tertiolecta*, *I.galbana* ve *P.tricornutum* mikroalgleri ile 5 gün boyunca beslenen *Artemia*'ların yağ asidi profilleri incelendiğinde özellikle *P.tricornutum* mikroalgi ile beslenen *Artemia*'ların ÇDYA içerikleri diğer iki mikroalge kıyasla daha yüksek düzeyde belirlenmiştir. Bu artışta özellikle *P.tricornutum* ile beslenen *Artemia*'ların Eikosapentaenoik asit (EPA) içeriğindeki farklılık öne çıkmıştır. Öte yandan tuz stresi uygulaması da bu üç mikroalg ile beslenen *Artemia*'ların EPA içeriğini dikkate değer oranda artırmıştır. Öyle ki kontrol ortamında kültüre alınan ve tuz stresi uygulanmış *P.tricornutum* ile beslenen *Artemia*'larda EPA içeriği %25,30-%31,40 olarak kaydedilmişken bu değer kontrol ortamında kültüre alınan ve tuz stresi uygulanmış *D.tertiolecta* ve *I.galbana* ile beslenen *Artemia*'larda sırasıyla %16,20-%19,10 ve %10,25-%12,60 olarak belirlenmiştir.

Kontrol ortamında kültüre alınan, N-açlığı ya da tuz stresi uygulanmış olan *D.tertiolecta*, *I.galbana* ve *P.tricornutum* ile beslenen *Artemia*'ların aminoasit profilleri oldukça karışık regülasyon örnekleri sergilemiştir. Esansiyel aminoasitlerden Arginin aminoasiti

D.tertiolecta ile beslenen *Artemia*'larda, esansiyel olmayan aminoasitlerden Glisin aminoasidi *I.galbana* mikroalgi ile beslenen *Artemia*'larda ve yine esansiyel olmayan aminoasitlerden Glutamik asit ise *P.tricornutum* mikroalgi ile beslenen *Artemia*'larda diğer gruplara kıyasla net bir şekilde daha yüksek düzeyde belirlenmiştir.

Sonuç olarak yukarıda açıklandığı şekliyle bu proje çalışmasında özellikle tuz stresi uygulanmış olan *D.tertiolecta*, *I.galbana* ve *P.tricornutum* mikroalgleri ile beslenen *Artemia franciscana*'nın yapılan analizlerle gösterilmiş olan besleyici özelliklerinin dikkate değer oranda artabileceği değerlendirilmiştir.

Öneriler;

1. Bu çalışmada akvaryum balıkçılığında ve balık yetiştiriciliği yapılan kuluçkahanelerde yavru balıkların beslenmesinde kullanılan değerli bir canlı yemi olan *Artemia*'nın besleyici değerlerinin, beslendiği mikroalglerin besinsel özellikleri ile doğrudan ilişkili olduğu anlaşılmıştır. Dolayısıyla bu çalışma kapsamında değerlendirilen türlerin dışında başka diğer türler de kullanılarak *Artemia*'nın besinsel içeriğinin değiştirilebileceği, istenilen özelliklere sahip *Artemia*'ların da böylece üretilebileceği değerlendirilmiştir.
2. Bu çalışmada ülkemiz iç sularından izole edilmiş olan 20 farklı mikroalg ve siyanobakteri türü *Artemia* beslenmesi açısından değerlendirilmiş, ancak tatlı su mikroalgleri ile siyanobakterilere nazaran özellikle denizel mikroalg türlerinin *Artemia* beslenmesinde tercih edilebileceği anlaşılmıştır.
3. Çalışılan türler içerisinde özellikle *D.tertiolecta*, *I.galbana* ve *P.tricornutum* türlerinin *A.franciscana*'nın büyümesi ve besleyici özelliklerini farklı doğrultuda artırdığı kaydedilmiştir. Örneğin, *Artemia* üretiminin yapıldığı kuluçkahanelerde protein ve lipid içeriği artırılmış *A.franciscana* üretimi için *D.tertiolecta*, lipid üretimi artırılmış *A.franciscana* üretimi için *I.galbana*, karbohidrat içeriği artırılmış *A.franciscana* üretimi için ise *P.tricornutum* besin kaynağı olarak tercih edilebilir.
4. Yine *D.tertiolecta*, *I.galbana* ve *P.tricornutum* ile beslenen *A.franciscana*'nın sırasıya Arginin, Glisin ve Glutamik asit üretiminin artırıldığı düşünüldüğünde yalnızca makromolekül üretimi açısından değil aminoasit içeriği zenginleştirilmiş *A.franciscana* üretiminde de bu türlerin besin kaynağı olarak tercih edilebileceği anlaşılmaktadır.

5. Son olarak yapılan çalışmalarda tuz stresi uygulanmış *D.tertiolecta*, *I.galbana* ve *P.tricornutum* ile beslenen *A.franciscana*'nın EPA başta olmak üzere çoklu doymamış yağ asidi bakımından zengin olduğu anlaşılmıştır. Böylece tuz stresi uygulanmış olan *D.tertiolecta*, *I.galbana* veya *P.tricornutum* ile beslenen *A.franciscana*'nın lipid, protein, karbohidrat ya da aminoasit içeriği bakımından besleyici özelliklerini geliştirilebileceği, *Artemia* üretimi yapılan kuluçkahanelerde bu durumun dikkate alınmasının faydalı olabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Alpbaz, A., Cirik, Ş., Özden, O., Temelli, B., Korkut, A.Y. 1992. "Deniz balıkları yetiştiriciliğinde *Artemia*", E.Ü. Su Ürünleri Yüksekokulu yayınları, 32, 16.
2. Alpbaz, A. 2005. "Deniz balıkları yetiştiriciliği", (20. Basım). İzmir: Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları, Sayfa 548.
3. Andersen, R.A. (ed.) 2005. "Algal culturing techniques", 578pp, Elsevier Academic Press, London.
4. Andreas, A., Aleix, G., Rovira, K., Hellingwerf, J. 2015. Metabolic engineering of cyanobacteria for the synthesis of commodity products. Trends in Biotechnology. 33 (6),352-361
5. Apt, K.E., Behrens, P.W. 1999. "Commercial developments in microalgal biotechnology", Journal of Phycology, 35(2), 215-226.
6. Aras, N. M., Haliloğlu, H.İ., Atamanalp, M. 2002. 'Balıklarda yağ asitlerinin önemi', Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 33(3), 331-335, Erzurum.
7. Atay, D., 1984. "Plantal aquaculture and their production technique", Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi yayınları, 905(253), 203, Ankara.
8. Atay, D. 1994. "Deniz Balıkları ve Üretim Tekniği (392.Basım)". Ankara: Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları, Sayfa 1352, Ankara.
9. Babinchak, J., Ukeles, R. 1979. "Epifluorescence microscopy, a technique for the study of feeding in *Crassostrea virginica* veliger larvae", Marine Biology, 51: 69–76.
10. Ballantyne, J.S. 2001. Amino acid metabolism. In: Nitrogen Excretion. Fish Physiology, Vol.20. Wright, P.A. and Anderson, A.J. (Eds.). Academic Press, San Diego, USA. pp: 77-107.
11. Banerjee, A., Maiti, S.K., Guria, C. 2017. Metabolic pathways for lipid synthesis under nitrogen stress in *Chlamydomonas* and *Nannochloropsis*. Biotechnol Lett., 39: 1-11.
12. Bayne, B.L. 1965. "Growth and delay of metamorphosis of the larvae of *Mytilus edulis* L. Ophelia", 2: 1–47.
13. Bischoff, H.W. & Bold, H.C. 1963. "Phycological studies. IV. Some soil algae from Enchanted Rock and related algal species", University of Texas Publications, 6318: 1-95. modified according to Starr, R.C. & Zeikus, J.A. (1993): UTEX - The culture collection of algae at the University of Texas at Austin. - Journal of Phycology, 29(supplement S2): 1-106.
14. Bligh, E.G., Dyer, W.J. 1959. "A rapid method for total lipid extraction and purification", Canadian journal of biochemistry and physiology, 37, 911-917.
15. Carter, C.G. ve Houlihan, D.F. 2001. Protein synthesis. In: Nitrogen Excretion. Fish Physiology, Vol.20. Wright, P.A. and Anderson, A.J. (Eds.). Academic Press, San Diego, USA. pp: 31-75.

16. Casanova, M. L. 2011. "Brine shrimp lifecycle", Courtesy University of Utah, Genetic Science Learning Center, <http://wildaboututah.org/tag/brine-shrimp>, Son erişim tarihi: 1 Mart 2015.
17. Chakraborty, K., Paulraj, R. 2007. "Eicosapentanoic acid enrichment from sardine oil by argentation chromatography", Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55, 7586-7595.
18. Chakraborty, R.D., Chakraborty, K., Radhakrishnan, E.V. 2007. "Variation in Fatty Acid Composition of *Artemia salina* Nauplii Enriched with Microalgae and Baker's Yeast for Use in Larviculture", Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55:4043–4051. doi: 10.1021/jf063654I
19. Chetan, P., Madhusree, M., Khushbu, B., Vamsi, B., Tonmoy, G., Sonam, D., Sandhya, M. 2016. Abiotic stresses as tools for metabolites in microalgae. Bioresource Technology 244, 1216–1226.
20. Chiara, L., Luca, D.D., Mariano, A., Salvatore, B., Simone, M., Claudia, R., Francesco E., Adrianna, I. 2019. New molecular insights on the response of the green alga *Tetraselmis suecica* to nitrogen starvation. Scientific Reports 9, Article number: 3336.
21. Christaki, E., Florou-Paneri, P., Bonos, E. 2011. "Microalgae: a novel ingredient in nutrition", International Journal of Food Sciences and Nutrition, 62, 794-799.
22. Cirik, S., Gökpınar, Ş. 2008. "Plankton bilgisi ve kültürü" Ege Üniversitesi Basımevi. 274 sayfa.
23. Clementina, S., Christian, G., Ida, O., Genoveffa, N., Elvira, L., Adele, C., Giovanna, R., Christophe, B., Angelo, F., Francesco, E., Adrianna, I. 2017. The green microalga *Tetraselmis suecica* reduces oxidative stress and induces repairing mechanisms in human cells. Scientific Reports volume 7, Article number: 41215.
24. Claus, C., Benuts, F., Vandeputte, G., Garden, W. 1979. "The biochemical composition of the larvae of two strains of *Artemia salina* (L.) reared on two different algal foods", Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 36,171-183.
25. Conceição, P., Heitor, M.,V. and Vieira, P.S. 2006. "Are Environmental Concerns Drivers of Innovation? Interpreting Portuguese Innovation Data to Foster Environmental Foresight", Technological Forecasting & Social Change, 73(3), 266-276.
26. De pauw, N., Persoone, G. 1988. "Microalgae for aquaculture". Microalgal Biotechnology. Editörler: Borowitzka, M.A., Borowitzka, L.J., Cambridge University Press, 197-221. Cambridge.
27. Dimova, N. 2003. "RP-HPLC analysis of amino acids with UV-detection", Bulgarian Academy of Sciences, 56, 75–78
28. Dineshkumar, R., Narendran, R., Sampathkumar, P. 2016. "Cultivation of *Spirulina platensis* in different selective media", Indian Journal of Geo Marine Sciences, 45(12), 1749-1754.

29. Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J. K., Rebers, P.A., Smith, F. 1956. "Calorimetric method for determination of sugars and related substances", *Analytical Chemistry*, 28, 350- 356.
30. Elibol Çakmak, Z., Ölmez, T.T., Çakmak, T., Menemen, Y., Tekinay T. 2014. "Induction of triacylglycerol production in *Chlamydomonas reinhardtii*: Comparative analysis of different element regimes", *Bioresource Technology*, 155, 379-387.
31. Elibol Çakmak, Z., Ölmez, T., Çakmak, T., Menemen, Y., Tekinay, T. 2015. Antioxidant response of *Chlamydomonas reinhardtii* grown under different element regimes. *Phycol Res.* 63:202-211. 2015.
32. Elibol Cakmak, Z. 2019. Ammonium nutrition induces triacylglycerol, β -carotene, and lutein production in *Dunaliella tertiolecta* Butcher. *Turk. J. Fish.&Aquat. Sci.* 19(4), 331-342.
33. El-Kassasa, H.Y., El-Sheekh, M. 2016. Induction of the synthesis of bioactive compounds of the marine alga *Tetraselmis tetrahele* (West) Butcher grown under salinity stress. *The Egyptian Journal of Aquatic Research.* 42(4), 385-391
34. Eryalçın, Kamil Mert. 2018. Effects of different commercial feeds and enrichments on biochemical composition and fatty acid profile of rotifer (*Brachionus plicatilis*, Müller 1786) and *Artemia franciscana*. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 18: 81-90
35. Evjemo, J.O., Olsen, Y. 1999. "Effect of food concentration on the growth and production rate of *Artemia franciscana* feeding on algae (T-iso)", *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 242, 273-296.
36. Fidalgo, J.P., Cid, A., Lopez-Munoz, I., Abalde, J., Herrero, C. 1994. "Growth and biochemical profile of juvenile mussels (*Mytilus galloprovincialis* Lmk) fed on different algal diets", *Journal of Shellfish Research*, 1, 67-75.
37. Fujii, K., Nakashima, H., Hashidzume, Y., Uchiyama, T., Mishiro, K., Kadota, Y. 2010. "Potential use of the astaxanthin-producing microalga, *Monoraphidium* sp. GK12, as a functional aquafeed for prawns", *Journal of Applied Phycology*, 22, 363–369.
38. Garcia, U., M., Garcia, O.J. 2004. Reproductive performance of the guppy fish *Peocilia reticulata* (Peters, 1859) fed with live *Artemia franciscana* cultured with inert and live diets. *Avances en Investigacion Agropecuarina*, 8(3), 1-7.
39. Grinstead, G.S., Tokach, M.D., Dritz, S.S., Goodband, R.D., Nelssen, J.L. 2000. "Effects of *Spirulina platensis* on growth performance of weanling pigs", *Animal Feed Science and Technology*, 83, 237-247.
40. Guedes, A.C., Amaro, H.M., Malcata, F.X. 2011. "Microalgae as sources of carotenoids", *Marine Drugs*, 9, 625-644.
41. Guedes, A.C., Malcata F.X. 2012. "Nutritional Value and Uses of Microalgae in Aquaculture", INTECH Open Access Publisher.
42. Guillard, R.R.L. 1975. "Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates", pp 26-60. In Smith W.L. and Chanley M.H (Eds.) *Culture of Marine Invertebrate Animals*. Plenum Press, New York, USA.

43. Guillard, R.R.L. and Ryther, J.H. 1962. "Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* Cleve", Canadian Journal of Microbiology, 8, 229-239.
44. Halver, J.E. ve Hardy, R.W. 2002. Nutrient flow and retention. In: Fish Nutrition. Halver, J.E. and Hardy, R.W. (Eds.). Elsevier Science, San Diego, USA. pp: 755-770.
45. Hannah, C., Mani, M., Ramasamy, R. 2013. "Evaluation of the Biochemical Composition of Four Marine Algae and Its Nutritional Value for Brine Shrimp", IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences, 6(3), 47-51.
46. Harris, E.H. 1989. "The Chlamydomonas sourcebook: a comprehensive guide to biology and laboratory use", Academic Press, San Diego, 780pp
47. Hemaiswarya, S., Raja, R., Ravi, K. Ganesan, C. 2011. Microalgae: a sustainable feed source for aquaculture. World J Microbiol Biotechnol 27: 1737-1746.
48. Herawati, V. E., Hutabarat, J., Radjasa, O. K., 2014. "Nutritional Content of *Artemia* sp. Fed with *Chaetoceros calcitrans* and *Skeletonema costatum*", HAYATI Journal of Biosciences, 21(4), 166-172.
49. Hindioğlu, A., Köse, A., Serdar, S. 2001. "Farklı Fitoplankton Türlerinin Midye (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819) Yavrularının Büyüme ve Yaşama Oranı Üzerine Etkisi", Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 25, 39-44.
50. Hirayama, K., Takagi, K., Kimura, H., 1979. "Nutritional effect of eight species of marine phytoplankton on population growth of the rotifer, *Erechtia wplacilis*", Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fish, 45, 11-16.
51. Izquierdo, M.S. 2005. Essential fatty acid requirements in Mediterranean fish species. Cah. Options Mediterr., 63, 91-102
52. Johnson, M. K., Johnson, E. J., MacElroy, R. D., Speer, H. L., Bruff, B. S. 1968. "Effects of salts on the halophilic alga *Dunaliella viridis*", Journal of Bacteriology, 95, 1461-1468
53. Juan, M.P.V., Marco, A.C.R, Felipe, A., Carlos, R.D., Maurilia, R.C.2015. Lat. Am. J. Aquat. Res., 43(1),23-32.
54. Juarez Carrillo, E. 1995. "Evaluacion nutricional de *Artemia franciscana*, Kellogg, 1906, (Crustacea: Branchi- poda) alimentada con *Chaetoceros* sp. enriquecido con fosfolipidos en emulsion", (MsC thesis), Center of Scientific Investigation and Superior Education of Ensenada (CICESE), Ensenada, B.C. Mexico.
55. Jung, J.H., Phunlap, S., Chae, H.R., Jong, K.J., Gwi, T.J., Sung, K.K. 2019. Effects of green LED light and three stresses on biomass and lipid accumulation with two-phase culture of microalgae. Process Biochemistry. 77, 93-99.
56. Kolkovski, S., Tandler, A. and Izquierdo, M.S. 1997. Effects of live food and dietary digestive enzymes on the efficiency of microdiets for seabass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. Aquaculture 148: 313-322.
57. Korkut, A.Y., Altan, Ö. 2002. "Deniz Balıkları Yetiştiriciliğinde Larval Beslemenin

- Yeri ve Önemli Kriterler", Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi, 19(1-2), 267–270.
58. Kuru, E. 2006. "Ayvalık Tuzlası'ndaki (Balıkesir/Türkiye) *Artemia parthenogenetica*'nın Yağ Asitleri Üzerine Bir Araştırma", Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi, 23(1-2), 185–187.
59. Kuhl, A. & Lorenzen, H. 1964. "Handling and culturing of *Chlorella*", In: Preston, D.M. (ed.): Methods of cell physiology, Vol. 1: p. 159-187, Academic Press, London.
60. Lavens, P., Sorgeloos, P., 2000. "The history, present status and prospects of the availability of *Artemia* cysts for aquaculture", Aquaculture, 181, 397–403.
61. Léger, P.H., Bengtson, D.A., Simpson, K.L., Sorgeloos, P. 1986. "The use and nutritional value of *Artemia* as a food source", Oceanography and Marine Biology, Annual Reviews, 24, 21-623.
62. Lemm, C.A., Lemaire, D.P. 1991. "Survival and growth of larval striped bass (*Morone saxatilis*) fed *Artemia* enriched with highly unsaturated fatty acids (HUFA)", Aquaculture, 99, 117-126.
63. Makridis, P., Vadstein, O. 1999. "Food size selectivity of *Artemia franciscana* at three developmental stages", Journal of Plankton Research, 21:2191–2201. doi: 10.1093/plankt/21.11.2191
64. Malpica Sanchez, A., Castro Barrera, T., Sandoval Trujillo, H., Castro Mejía, J., DeLara Andrade, R., Castro Mejía, G. 2004. Composicion del contenido de acidos grasos en tres poblaciones mexicanas de (*Artemia franciscana*) de aguas epicontinentales. Revista biologia tropical, 52, 297–300.
65. María, C., Lora, V., Beatriz, C.E. Domenico, V. 2004. Growth of *Artemia franciscana* fed *Isochrysis* sp. and *Chaetoceros muelleri* during its early life stages. Aquaculture research. 35(11)1086-1091.
66. Martínez-Roldán, A.J., Perales-Vela, H.V., Cañizares-Villanueva, R.O., Torzillo G. 2014. Physiological response of *Nannochloropsis* sp. to saline stress in laboratory batch cultures. J Appl Phycol, 26: 109-115.
67. Mason, D. 1963. "The growth response of *Artemia salina* (L.) to various feeding regimes", Crustaceana, 5, 138-150.
68. Merchie, G., 1996. "Use of nauplii and meta-nauplii", Manuel on the Production and Use of Live Food for Aquaculture, Editörler: Lavens, P., Sorgeloos, P., FAO Fisheries Technical Paper, No:361, Rome.
69. Mohebbi, F. 2010. "The Brine Shrimp *Artemia* and hypersaline environments microalgal composition: a mutual interaction", International Journal of Advanced Fisheries and Aquatic Science, 1, 19-27.
70. Mohebbi, F., Hafezieh, M., Seidgar, M., Hosseinzadeh, S.H., Mohsenpour, A.A., Ahmadi, R. 2016. The growth, survival rate and reproductive characteristics of *Artemia urmiana* fed by *Dunaliella tertiolecta*, *Tetraselmis suecica*, *Nannochloropsis oculata*, *Chaetoceros* sp., *Chlorella* sp. and *Spirulina* sp. as feeding microalgae. Iranian Journal of Fisheries Sciences. 15(2) 727-737

71. Moretti, A., Pedini Fernandez-Criado, M., Cittolin, G., Guidastri, R. 1999. "Manual on hatchery production of seabass and gilthead seabream", FAO, Rome, Italy, 1:194.
72. Oliveira L, Bisalputra T, Anita NJ. Ultra structural observation of the surface coat of *Dunaliella tertiolecta* from staining with cationic dyes and enzyme treatments. *New Phytol.* 1980;85:385–392.
73. Orly, L., Jorge, D., Ehud, Z., Desmond, L., Tiago, G., Min K.K., Joomi K., Benjamin A.S., Van M., Debashish B., Paul G.F. 2015. Remodeling of intermediate metabolism in the diatom *Phaeodactylum tricornutum* under nitrogen stress. *PNAS*, 13(112), 412-417.
74. Oswald, W.J. 1980. "Algal-Production Problems, Achievements and Potential. In: *Algae Biomass*", Shelef, G. and Soeder, C. J. Elsevier-North Holland Biomedical Press, 851 s.
75. Ownagh, E., Agh, N.F. 2014. Comparison of the growth, survival and nutritional value of *Artemia* using various agricultural by-products and unicellular algae *Dunaliella salina*. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. 14(2) 358-368.
76. Pal, D., Khozin-Goldberg, I., Cohen, Z. 2011. The effect of light, salinity, and nitrogen availability on lipid production by *Nannochloropsis* sp. *Appl Microbiol Biotechnol*, 90: 1429-1437
77. Patil V, Källqvist T, Olsen E, Vogt G, Gislerød HR. 2007. Fatty acid composition of 12 microalgae for possible use in aquaculture feed. *Aquacul Int* 15:1–9
78. Pechenik, J.A., Eyster, L.S., Widdows, J., Bayne, B.L. 1990. "The influence of food concentration and temperature on growth and morphological differentiation of blue mussel *Mytilus edulis* L. larvae", *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 136, 47–64
79. Person-Le Ruyet, J. 1976. "Techniques d'élevage en masse d'un rotifère (*Brachionus plicatilis* 1976 Müller) et d'un crustacé branchiopode (*Artemia salina* L.)", Editörler: Persoone, G., Jaspers, E. 10th European Symposium on Marine Biology, Ostend, Belgium, 1(33), 1-343.
80. Persoone, G. and Sorgeloos, P., 1975. "Technological improvements for the cultivation of invertebrates as food for fishes and crustaceans", I. Devices and Methods, *Aquaculture*, 6, 275-289.
81. Rose, R., C.L. Rose, S.K. Omi, K.R. Forry, D.M. Durall and W.L. Bigg. 1991. "Starch determination by perchloric acid vs enzymes: evaluating the accuracy and precision of six colorimetric methods", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39, 2–11.
82. Saka, Ş., Fırat, K., 2008. "Çipura (*sparus aurata* lin., 1758) balığının biyolojisi ve yetiştirme teknikleri", *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yetiştiricilik Bölümü, Yetiştiricilik Anabilim Dalı, İskele-Urla, İzmir*
83. Shanmugam, B., Rajendran, R. 2019. Influence of different diets on the growth, survival, fecundity and proximate composition of brine shrimp *Artemia franciscana* (Kellog, 1906). *Aquaculture Research*, 50:376–389

84. Sharma, K. K., Schuhmann, H., and Schenk, P. M. 2012. "High Lipid Induction in Microalgae for Biodiesel Production", *Energies*, 5, 1532-1553.
85. Smith, P.K., Krohn, R.I., Hermanson, G.T., Mallia, A.K., Gartner, F.H., Provenzano, M.D., Fujimoto, E.K., Goeke, N.M., Olson, B.J., Klenk, D.C. 1985. "Measurement of protein using bicinchoninic acid", *Analytical Biochemistry*, 150(1), 76:85.
86. Sorgeloos, P. 1980. "The use of the brine shrimp *Artemia* in aquaculture". In: *The Brine Shrimp Artemia*. Vol: 3, Ecology, Culturing, Use in Aquaculture, Editörler: Persoone, G., Sorgeloos, P., Roels, O., Jaspers, E. Universa Press, Wetteren.Belgium, 25-46.
87. Sorgeloos, P., Coutteau, P., Dhert, P., Merchie, G., Lavens P. 1998. "Use of brine shrimp *Artemia* sp. in larval crustacean nutrition: a review", *Reviews in fisheries sciences*, 6, 55- 68.
88. Sorgeloos, P., Dhert, P., Candreva, P. 2001. "Use of the brine shrimp, *Artemia* spp., in marine fish larviculture", *Aquaculture*, 200, 147-159.
89. Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E., Isambert A. 2006. "Commercial applications of microalgae", *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 101, 87-96.
90. Takagi, M., Yoshida, T., 2006. Effect of salt concentration on intracellular accumulation of lipids and triacylglyceride in marine microalgae *Dunaliella* cells. *J. Biosci. Bioeng.* 101, 223–226.
91. Thinh, L-V, Renaud, S.M., Parry, D.L. 1999. "Evaluation of recently isolated Australian tropical microalgae for the enrichment of the dietary value of brine shrimp, *Artemia* nauplii", *Aquaculture*, 170:161–173. doi: 10.1016/S0044-8486(98)00400-1
92. Tocher, R. D. 2003. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in Teleost fish. *Reviews of Fisheries Science*, 11, 107.
93. Türkiye İstatistik Kurumu. 2013. "Su Ürünleri İstatistikleri", http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1005, Son erişim tarihi: 4 Mart 2015.
94. Üren, S., 2011. "Artemia Yumurtasının Balık Larvası Beslenmesinde Kullanımı".
95. Vanhaecke, P., Sorgeloos, P. 1989. "International study on *Artemia*. XLVII. The effect of temperature on cyst hatching, larval survival and biomass production for different geographical strains of brine shrimp *Artemia* spp.", *Annales de la Société Royale Zoologique de Belgique*, 119, 7-23.
96. Vonshak, A. 1997. "*Spirulina*: growth, physiology and biochemistry". In *Spirulina platensis* (Arthrospira): physiology, cell-biology and biotechnology. Editör: Vonshak, A. London, Taylor & Francis, 43-65.
97. Whyte, J.N.C., Clarke, W.C., Ginther, N.G., Jensen, J.O.T., Townsend, L.D., 1994. "Influence of composition of *Brachionus plicatilis* and *Artemia* on growth of larval sablefish (*Anoplopoma fimbria* Pallas)", *Aquaculture*, 119, 47-61.
98. Wickins, J.F. 1972. "The food value of brine shrimp, *Artemia salina* L., to larvae of the prawn *Palaemon serratus* Pennat", *Journal of Experimental Marine Biology*

- and Ecology, 10, 151-170.
99. Wilson, R.P. 2002. Amino acids and proteins. In: Fish Nutrition. Halver, J.E. and Hardy, R.W. (Eds.). Elsevier Science, San Diego, USA. pp: 144-179
 100. Wood, A.M., Everroad, R.C., Wingard, L.M. A AR, editor. 2005. Chapter 18: "Measuring growth rates in microalgal cultures", editor. Algal culturing techniques. Burlington, MA: Elsevier Academic Press, pp. 269–285.
 101. Xu, Z., Harvey, K., Pavlina, T., Dutot, G., Zaloga, G., Siddiqui, R. 2010. "An Improved Method for Determining Medium and Long-Chain FAMES Using Gas Chromatography", Lipids, 45(2), 199–208.
 102. Yust, M. M., Pedroche, J., Girón-Calle, J., Vioque, J., Millán, F., Alaiz, M. 2004. "Determination of tryptophan by high-performance liquid chromatography of alkaline hydrolysates with spectrophotometric detection", Food Chemistry, 85(2), 317-320.
 103. Zhi, W.Y.J., Guo, J., Guang, H.W. 2008. Biosynthesis and regulation of carotenoids in *Dunaliella*: Progresses and prospects. Biotechnology Advances 26(4),352-360.

TÜBİTAK
PROJE ÖZET BİLGİ FORMU

Proje Yürütücüsü:	Dr. ZEYNEP ELİBOL ÇAKMAK
Proje No:	116Y390
Proje Başlığı:	Ülkemizde Artemia Yetiştiriciliği İçin Besinsel Özellikleri Değiştirilmiş Mikroalglerin Kullanım Potansiyellerinin Değerlendirilmesi
Proje Türü:	3001 - Başlangıç AR-GE
Proje Süresi:	24
Araştırmacılar:	
Danışmanlar:	SEMRA CİRİK
Projenin Yürütüldüğü Kuruluş ve Adresi:	İSTANBUL MEDENİYET Ü.
Projenin Başlangıç ve Bitiş Tarihleri:	15/03/2017 - 15/03/2019
Onaylanan Bütçe:	99883.0
Harcanan Bütçe:	68493.62
Öz:	Artemia, akvaryum balıkçılığında ve balık yetiştiriciliği yapılan kuluçkahanelerde yavru balıkların beslenmesinde kullanılan değerli bir canlı yemidir. Çeşitli mikroalgler ile beslenen Artemia'nın besinsel özellikleri, beslendiği mikroalglerin besinsel özellikleri ile yakın ilişkilidir. Bu araştırma projesi kapsamında, ülkemizde daha önce yaptığımız saha çalışmalarıyla saflaştırılarak kültüre alınmış 20 farklı mikroalg ve siyanobakteri türü Artemia beslenmesi açısından değerlendirilmiş, öne çıkan türler içerisinde stres uygulamaları ile besinsel özellikleri değiştirilmiş mikroalglerin kullanım potansiyellerinin tanımlanması ve böylece besinsel içeriği zenginleştirilmiş Artemia'ların üretimi için yenilikçi bir organik yaklaşım getirilmesi yönünde çalışmalar yürütülmüştür. Yapılan çalışmada kullanılan mikroalg türleri içerisinde özellikle tuz stresi uygulanmış olan D.tertiolecta, I.galbana ve P.tricornutum mikroalgleri ile beslenen Artemia franciscana'nın yapılan analizlerle gösterilmiş olan besleyici özelliklerinin dikkate değer oranda artabileceği değerlendirilmiştir.
Anahtar Kelimeler:	Artemia, Beslenme, Mikroalg, Siyanobakteri
Fikri Ürün Bildirim Formu Sunuldu Mu?:	Hayır